

Gegen Alkalien war der Stoff beständig, ebenfalls gegen 12 *n* HCl (15 Min. bei 100°). Beim Umlösen aus verd. Perchlorsäure erhielt man nur chlorfreies Ausgangsmaterial (Analyse), in der Kälte 6seitige Tafeln und Polyeder. Sie verloren bei 100°/12 Torr 16.4%; davon wurden an der Luft 15.2% wieder aufgenommen; ber. für 5 H₂O 16.1%. Konz. Schwefelsäure löste farblos. SO₂-Abspaltung wurde nicht beobachtet, Jodstärke-Lösung wurde nicht entfärbt.

Silbersalz: Mit Silbercarbonat aus der Sulfonsäure in Wasser; nach Eindunsten im Exsiccator Rosetten farbloser, schlanker Prismen, die sich am Licht rötlich färben.

C₂₀H₂₃O₉N₂SAg (575.2) Ber. Ag 18.75 Gef. Ag 18.78

Bleisalz: Aus der warmen, wäßr. Lösung der Sulfonsäure mit Bleiacetat; schwerlösliche farblose Prismen. Ein als Mutterlauge-Stoff gefälltes Produkt enthielt offenbar etwas weniger als die ber. Menge Blei. Verlust bei 100°/1 Torr 15.1%; ber. für 12 H₂O 15.9%.

(C₂₀H₂₃O₉N₂S)₂Pb (1141.8) Ber. C 42.04 H 4.06 PbSO₄ 26.56

Gef. C 43.03 H 4.01 PbSO₄ 23.67 (Asche)

Benzylthiuroniumsalz: Aus der Sulfonsäure mit Benzylthiuroniumchlorid; sehr schwer lösliche, chlorfreie Prismen. Der Stoff war so unlöslich, daß er aus siedendem Wasser nicht umkristallisiert werden konnte. Bei 270° nahezu unverändert, wurde er ab 295° braun, bei 310° dunkel. Die scharf getrocknete Substanz enthielt nach der Analyse 1 H₂O weniger als erwartet. Verlust bei 100°/1 Torr 4.0%; ber. für 1 H₂O 2.8%.

C₂₈H₃₂O₈N₄S₂ (616.5) Ber. C 54.50 H 5.23 N 9.09 Gef. C 54.11 H 5.27 N 8.86

41. Hans Brockmann und Ilse Borchers: Rhodomycin, II. Mittel.*) (Antibiotica aus Actinomyceten, X. Mittel.**)

[Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen]

(Eingegangen am 25. August 1952)

Die beiden durch Gegenstromverteilung von Rhodomycin-Konzentraten erhaltenen Fraktionen A und B wurden durch nochmalige Gegenstromverteilung weitergereinigt. Aus der Fraktion A wurde kristallisiertes Rhodomycin-hydrochlorid gewonnen.

Aus *Streptomyces purpurascens*¹⁾ haben wir kürzlich das rote, amphotere Antibioticum Rhodomycin isoliert*), das in vitro bis zur Verdünnung 1:3×10⁷ das Wachstum von *Staphylococcus aureus* und *Corynebacterium diphtheriae* hemmt. Es bildet mit Säuren Salze, von denen bisher nur das Perchlorat kristallisierte. Daß bei unseren ersten Versuchen die Ausbeute an kristallisiertem Perchlorat zu wünschen übrig ließ, und seine Kristallisation mitunter Schwierigkeiten machte, wurde verständlich, als sich herausstellte, daß die zur Darstellung des Salzes verwendeten Rhodomycin-Präparate noch nicht einheitlich waren. Sie ließen sich durch fraktionierte Gegenstromver-

*) I. Mittel.: H. Brockmann, K. Bauer u. I. Borchers, Chem. Ber. 84, 700 [1951]. Ein von G. Shockman u. S. A. Waksman (Antibiotics and Chemotherapy 1, 68 [1951]) isoliertes amorphes, rotes Antibioticum, das mit unserem Rhodomycin sicher nicht identisch ist, erhielt zunächst den Namen Rhodomycin, wurde von den amerikanischen Autoren aber in dankenswerter Weise in Rhodomycetin umbenannt, als sie von unserer ersten Veröffentlichung Kenntnis erhielten.

***) IX. Mittel.: H. Brockmann, H. Genth u. R. Strufe, Chem. Ber. 85, 426 [1952].

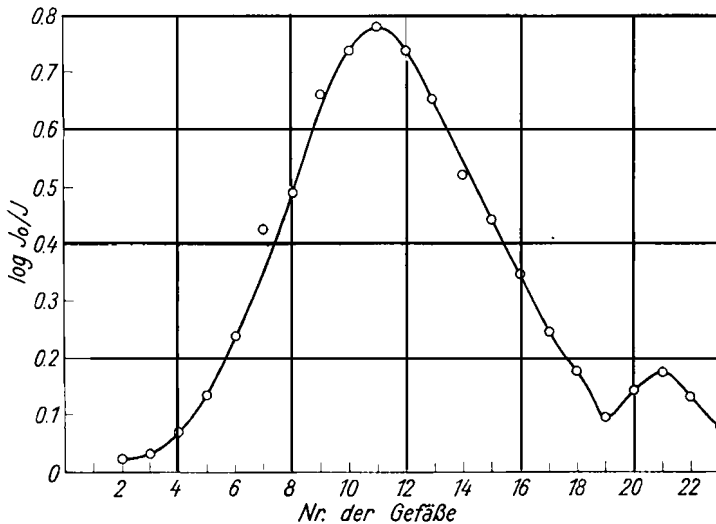
¹⁾ Nähere Beschreibung des von W. Lindenbein u. I. Olfemann in unserem Institut isolierten Stammes bei W. Lindenbein, Arch. f. Mikrobiol. 17, 361 [1952].

teilung zwischen Butanol und Phosphatpuffer vom p_H 7.2 in eine aus Rhodomycin bestehende Hauptfraktion A und eine rote Nebenfraktion B aufzutrennen. Dieser Befund ließ Zweifel an der Einheitlichkeit unseres Rhodomycin-perchlorates aufkommen, denn, ob bei seiner Kristallisation die Bestandteile der Fraktion B ganz abgetrennt werden, ist fraglich. Wir haben daher für alle weiteren Versuche zur Gewinnung kristallisierter Rhodomycin-Derivate nur noch das durch Gegenstromverteilung gereinigte Antibioticum aus der Fraktion A verwendet. Wie im folgenden beschrieben wird, ist es gelungen, aus so gereinigten Präparaten nunmehr auch das Hydrochlorid des Rhodomycins in gut kristallisierter Form zu erhalten.

I.) Kristallisiertes Rhodomycin-hydrochlorid

Ausgangsmaterial für unsere Versuche war das Pikrat der Rhodomycin-Fraktion A, die in der früher beschriebenen Weise*) durch eine 20stufige Verteilung zwischen Butanol und Phosphatpuffer vom p_H 7.2 aus Rhodomycin-Konzentraten gewonnen war. Die Konzentrate stammten aus der Nährlösung und dem Mycel von Submerskulturen.

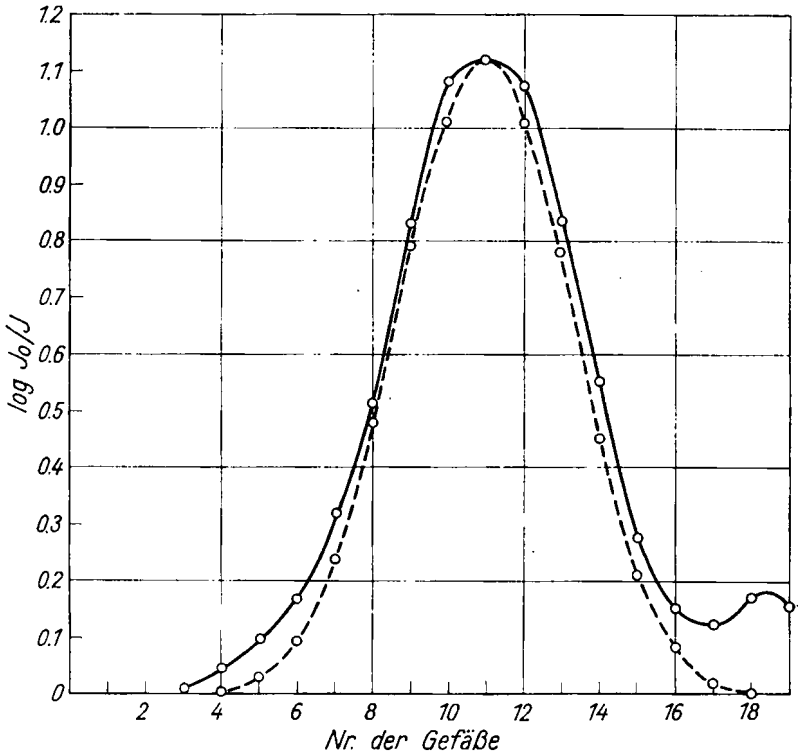
Da Fraktion A, wie eine analytische Gegenstromverteilung zeigte, noch eine geringe Menge der Fraktion B enthielt, wurde sie erneut im gleichen System über 23 Stufen verteilt (Abbild. 1), wobei wir das p_H der Puffer-Lösung



Abbild. 1. Verteilungskurve von Rhodomycin (A-Fraktion) zwischen Butanol/Phosphat-Puffer p_H 7.5

auf 7.5 einstellten. Das Rhodomycin aus den Spitzenfraktionen des ersten Verteilungsberges wurde gesondert von dem der Stufen 3–9 und 13–16 aufgearbeitet. Aus den beiden so erhaltenen Anteilen isolierten wir das Anti-

bioticum als Pikrat, das trotz aller Bemühungen amorph blieb. Dagegen gelang es, wie oben erwähnt, das aus dem Pikrat bereitete Rhodomycin-hydrochlorid zur Kristallisation zu bringen; es schied sich aus heiß gesättigter Butanol-Lösung in feinen, roten Nadeln vom Schmp. 193° (Zers.) ab. Aus Materialmangel war es nicht möglich, dieses Präparat durch Gegenstromverteilung auf Einheitlichkeit zu prüfen. Statt ihrer wurde die aus der Mutterlauge erhaltene zweite Kristallfraktion vom Schmp. 185° untersucht. Da sie ihrer Verteilungskurve (Abbild. 2) nach nur wenig von der Fraktion B enthielt, nehmen wir an, daß unser Rhodomycin-hydrochlorid vom Schmp. 193° praktisch frei von B ist.



Abbild. 2. Rhodomycin-hydrochlorid (Schmp. 185°), Butanol/Phosphat-Puffer PH 7.5. — experimentelle Verteilungskurve, - - - berechnete Verteilungskurve für k 1.35

Rhodomycin-hydrochlorid löst sich in Wasser mit roter, in konz. Schwefelsäure und wäßrigem Alkali mit violettstichig blauer Farbe. Die Schwefelsäure-Lösung fluoresciert rot. Gegen unseren *Staph. aureus*-Stamm wirkte das Hydrochlorid bis zur Verdünnung $1:3 \times 10^7$ hemmend. Die in Hisscher serumhaltiger Nährlösung gegen andere Testorganismen noch wirksamen Verdünnungen sind in der Tafel I zusammengestellt. Ergebnisse qualitativer Plattenteste gegen eine größere Anzahl verschiedenartiger Mikroorganismen finden sich im Versuchsteil (Tafel 2).

Tafel 1. Wirksamkeit von Rhodomycin-hydrochlorid im Verdünnungstest

Test-Organismen	Antibiotisch wirksame Grenzkonzentration
<i>Streptococci</i>	1 : 20000000
<i>Enterococci</i>	1 : 200000
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> ..	1 : 10000000
<i>Staphylococci</i>	1 : 200000
<i>B. subtilis</i>	1 : 2000000
<i>B. coli</i>	1 : 20000

Die Analyse des Rhodomycin-hydrochlorides wurde dadurch erschwert, daß es hartnäckig Lösungsmittel festhält und beim Trocknen Chlorwasserstoff abspalten kann, wenn dabei zu hoch erhitzt wird. Den bisher erhaltenen Analysenzahlen nach kommt als kleinste Summenformel $C_{20}H_{30}O_7NCl$ in Betracht. Das Rhodomycin selbst hätte dann die Formel $C_{20}H_{29}O_7N$. Sie ist um 2 C kleiner als die früher aus den Analysen des kristallisierten Perchlorates berechnete Formel $C_{22}H_{29}O_7N$, die wir ausdrücklich als Näherungsformel gekennzeichnet hatten, weil das Perchlorat aus einem nicht durch Gegenstromverteilung gereinigten Rhodomycin dargestellt war und seine Einheitlichkeit daher fraglich schien.

$C_{20}H_{30}O_7NCl$ möchten wir vorläufig nur als einfachsten Ausdruck für die Analysenzahlen unseres kristallisierten Rhodomycin-hydrochlorides ansehen und die Frage nach der Bruttoformel des Rhodomycins noch offen lassen. Denn Befunde, auf die in der nächsten Mitteilung näher eingegangen werden soll, scheinen uns dafür zu sprechen, daß das Mol.-Gew. des Antibioticums doppelt so groß ist wie das der C_{20} -Formel entsprechende.

Wie früher beschrieben*), erhielten wir bei der Säurehydrolyse unserer ersten, noch nicht durch Gegenstromverteilung gereinigten Rhodomycin-Präparate neben einem farblosen, stickstoffhaltigen, wasserlöslichen Spaltstück zwei in Wasser schwer lösliche Oxychinone, von denen das eine gelbrot, das andere rot ist. Wir bezeichnen im folgenden das gelbrote als Rhodomycinon, das rote als Iso-rhodomycinon.

Die Entstehung von zwei farbigen Abbauprodukten kann folgende Ursachen haben: 1.) teilweise Umwandlung eines zunächst einheitlichen Produktes während der Hydrolyse. 2.) Uneinheitlichkeit des Ausgangsmaterials, 3.) Einsetzen der Abbaureaktion an zwei verschiedenen Stellen des Rhodomycin-Moleküls. Die unter 1.) genannte kann ausgeschlossen werden; es hat sich nämlich gezeigt, daß unter den Bedingungen der Hydrolyse Rhodomycinon nicht in Iso-rhodomycinon übergeht²⁾. Um zu prüfen, ob Uneinheitlichkeit unserer ersten Rhodomycin-Präparate für das Auftreten von zwei farbigen Abbauprodukten verantwortlich war, haben wir das kristallisierte Hydrochlorid aus der Spitzenfraktion von Maximum A (Abbild. 1, Gefäß 10–12) durch 2 stdg. Erwärmen mit n HCl auf 70° abgebaut. Das dabei in 58-proz. Ausbeute (bez. auf scharf getrocknetes Ausgangsmaterial) erhaltene, gelbrote, wasserunlösliche Abbauprodukt gab sich bei chromatographischer Adsorption an Gips als Mischung aus viel Rhodomycinon und wenig Iso-rhodomycinon zu erkennen. Die quantitative Analyse dieses Gemisches war auf colorimetrischem Wege möglich, denn die Absorptionskurven der beiden Rhodomycinone unterscheiden sich im langwelligen Gebiet²⁾. Iso-rhodomycinon hat in Methanol eine Bande bei 565 $m\mu$, die dem Rhodomycinon fehlt. Da für die beiden Rhodomycinone die

²⁾ B. Franck, Dissertat. Göttingen, 1952.

Absorptionskonstante bei 565 $m\mu$ und bei 504 $m\mu$ (isosbestischer Punkt der beiden Absorptionskurven) bekannt waren, ließ sich aus der Extinktion unserer Mischung bei 565 und 504 $m\mu$ ihr Gehalt an den beiden Komponenten errechnen. Wir fanden rund 90% Rhodomycinon und 10% Iso-rhodomycinon.

Die Frage, ob nur dann zwei farbige Abbauprodukte auftreten, wenn das zur Hydrolyse verwendete Rhodomycin-Präparat uneinheitlich ist, wäre bejaht worden, wenn wir aus unserer besten Rhodomycin-Fraktion ausschließlich gelbes Rhodomycinon erhalten hätten. Aber auch aus dieser Spitzenfraktion entsteht ein Gemisch der beiden Rhodomycinone. Diesen Befund könnte man als Beweis dafür ansehen, daß Rhodomycin beim hydrolytischen Abbau an zwei verschiedenen Stellen gespalten wird, wenn die Einheitlichkeit des eingesetzten Präparates außer Zweifel stünde. Das ist aber nicht der Fall. Wir halten es durchaus für möglich, daß sich aus dieser Fraktion durch eine über viele Stufen geführte Verteilung noch eine Beimengung, vielleicht ein zweites dem Rhodomycin ähnliches Antibioticum abtrennen läßt, dessen Hydrolyse als einziges farbiges Abbauprodukt das rote Iso-rhodomycinon liefert. Solange diese Prüfung nicht durchgeführt ist, bleibt unentschieden, ob uneinheitliches Ausgangsmaterial oder Einsetzen der Hydrolyse an zwei verschiedenen Stellen für die Bildung von zwei farbigen Abbauprodukten verantwortlich ist.

II.) Untersuchung der Fraktion B

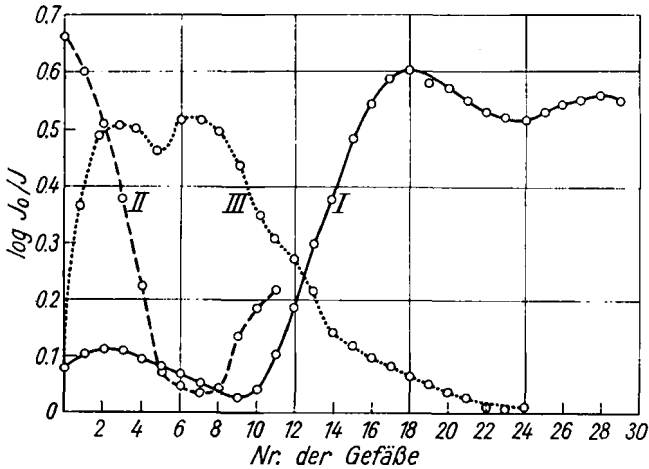
Bei der Gegenstromverteilung unserer ersten Rhodomycin-Konzentrate erhielten wir aus dem zweiten Verteilungsmaximum ein Pikrat, das gegen *Staph. aureus* ebensogut wirksam war wie das Pikrat der Fraktion A. Danach war anzunehmen, daß in B ein zweites rotes, dem Rhodomycin ähnliches Antibioticum vorliegt.

Das Mengenverhältnis der beiden Fraktionen kann bei Rhodomycin-Präparaten verschiedener Herkunft verschieden sein. Während unser erstes Rhodomycin-Konzentrat etwa doppelt soviel A wie B enthielt, fanden wir bei einem später ebenfalls aus Mycel gewonnenen Konzentrat gleiche Mengen an A und B. Bei zwei aus Kulturflüssigkeit erhaltenen Rhodomycin-Präparaten war die Menge der B-Fraktion sogar um 25% größer als die von A.

Fraktion B bleibt bei der Verteilung zwischen Butanol und Phosphatpuffer (p_H 7.2) zum überwiegenden Teil in der Butanol-Phase. Um B durch eine zweite Verteilung weiterzureinigen, mußte ein System ausfindig gemacht werden, in dem der Verteilungskoeffizient annähernd 1 ist. Butanol-Äther (1:1) als obere und Phosphatpuffer (p_H 4.8) als untere Phase entsprach dieser Anforderung. Die in diesem System durchgeführte Verteilung (Abbild. 3, Kurve I) zeigte, daß B noch keineswegs einheitlich war. Ein ihr noch beigemengter Anteil der Fraktion A verblieb in den Gefäßen 0—9, und zwar ausschließlich in der Puffer-Lösung. Die Gefäße 10—24 enthielten den gesuchten roten Farbstoff (Fraktion B_1), während sich in der oberen Phase der Stufen 25—29 ein brauner melaninähnlicher Stoff angesammelt hatte.

Eine erneute Verteilung der Fraktion B_1 zwischen Butanol-Äther (1:3) und Salzsäure vom p_H 3.0 (Abbild. 3, Kurve II) lieferte aus den Stufen 0—4 einen amorphen, roten Farbstoff (Fraktion B_2), der gegen *Staph. aureus* bis zur Verdünnung 1:3 Millionen hemmend wirkte, von dem wir bisher aber kein kristallisiertes Derivat gewinnen konnten. Ob die zehnfach höhere antibiotische Wirksamkeit unserer ersten B-Fractionen auf eine

größere Beimengung der Fraktion A oder Anwesenheit eines anderen antibiotisch wirksamen Stoffes zurückzuführen war, muß vorläufig offen bleiben. Daß auch die Fraktion B₂ noch nicht einheitlich ist, zeigt ihre Verteilung zwischen einem Gemisch aus 35 Vol.% Butanol + 65 Vol.% Äther einerseits und Salzsäure (p_H 3.0) andererseits (Abbild. 3, Kurve III).



Abbild. 3. Gegenstromverteilung von Fraktion B

I: Verteilung der Fraktion B zwischen Butanol-Äther (1:1) und Phosphatpuffer (p_H 4.8).
 II: Inhalt der Gefäße 10—24 von Kurve I, verteilt zwischen Butanol-Äther (1:3) und Salzsäure (p_H 3.0). III: Inhalt der Gefäße 0—4 von Kurve II, verteilt zwischen Butanol-Äther (35:65) und Salzsäure (p_H 3.0)

Der antibiotisch wirksame Farbstoff der Fraktion B₂ unterscheidet sich spektroskopisch nicht von Rhodomycin-hydrochlorid und ist ihm in seinen Lösungseigenschaften sehr ähnlich. Bei milder Säurehydrolyse liefert B₂ ein gelbrotes Abbauprodukt. Es läßt sich chromatographisch in eine gelbrote und eine rote Verbindung zerlegen, die sich spektroskopisch und in ihren Farbreaktionen nicht von Rhodomycinon bzw. Iso-rhodomycinon unterscheiden und offenbar mit diesen identisch sind. Der Gehalt des farbigen Abbauproduktes an Iso-rhodomycinon betrug rund 33%. Daß er höher ist als in unserer Spitzenfraktion, kann nicht als Charakteristikum der B-Fraktion gelten, denn auch aus der A-Fraktion haben wir Rhodomycin-Präparate erhalten, die beim Säureabbau mehr rotes Iso-rhodomycinon ergeben als unsere Spitzenfraktion.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Werk Elberfeld der Farbenfabriken Bayer danken wir für die Förderung unserer Arbeiten.

Beschreibung der Versuche

Gegenstromverteilung der Rhodomycin-Fraktion A: Das durch Submerskultur in 500-l-Ansätzen gewonnene Mycel von *Streptomyces purpurascens*³⁾ wurde auf rohes Rhodomycin-pikrat verarbeitet und das daraus erhaltene Rhodomycin-phosphat nach der früher gegebenen Vorschrift*) über 23 Stufen zwischen Butanol und *m*/₁₀ Phosphatpuffer vom p_H 7.2 verteilt. Die dabei anfallende Fraktion A wurde als Pikrat isoliert und als Ausgangsmaterial für die folgenden Versuche verwendet.

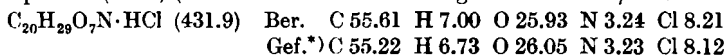
³⁾ Die Submerskulturen wurden im Werk Elberfeld der Farbenfabriken Bayer von Hrn. Dr. Bohne durchgeführt.

Zu einer Lösung von 600 mg Pikrat der Rhodomycin-Fraktion A in 20 ccm Aceton gab man 200 ccm Salzsäure vom p_H 3.0 und schüttelte die Pikrinsäure erschöpfend mit Äther aus. Aus der wäbr., auf p_H 8.6 eingestellten Phase extrahierte man das Antibioticum mit Butanol und engte den mehrmals mit Wasser gewaschenen Butanol-Auszug auf 450 ccm ein.

400 ccm dieser Butanol-Lösung wurden in einer 20stufigen Verteilungsapparatur nach N. Grubhofer⁴⁾ (Fassungsvermögen der Gefäße 800 ccm) über 23 Stufen zwischen Butanol und $m/_{10}$ Phosphatpuffer vom p_H 7.5 verteilt. Die mit gesätt. Natriumhydrogencarbonat-Lösung auf p_H 8.6 eingestellte wäbr. Phase jeder Stufe extrahierte man zweimal mit 300 ccm Butanol, vereinigte die so erhaltenen Butanol-Auszüge mit den Butanol-Phasen jeder Stufe und bestimmte zur Ermittlung der Verteilungskurve (Abbild. 1) den Farbstoffgehalt unter Verwendung eines Grünfilters im lichtelektrischen Colorimeter (B. Lange).

Aus den Butanol-Lösungen wurde das Rhodomycin, wie früher angegeben, als Pikrat isoliert, wobei der Inhalt der Gefäße 10, 11 und 12 (die das Verteilungsmaximum enthalten) gesondert von dem der Gefäße 3–9 und 13–17 verarbeitet wurde. Gesamtausb. an Pikrat 0.50 g, davon 0.15 g aus den Stufen 10–12 und 0.35 g aus den Stufen 3–9 und 13–17.

Rhodomycin-hydrochlorid: Das Rhodomycin-pikrat aus den Stufen 3–9 und 13–17 zerlegte man, wie oben beschrieben, mit verd. Salzsäure und engte den dabei erhaltenen Butanol-Auszug i. Vak. bei 30–40° so weit ein, daß an der Gefäßwand Farbstoffausscheidung einsetzte. Aus der kalt gestellten Lösung kristallisierten innerhalb von 1–2 Tagen lange, feine, dunkelrote Nadeln von Rhodomycin-hydrochlorid aus; Schmp. 193° (Zers.) (bei 170° in den Berl-Block gebracht und 4°/Min. erhitzt).



*) Präparat vom Schmp. 193°, getr. bei 70° i. Hochvak. (0.04 Torr.); Gewichtsverlust 13.5%

Absorptionsmaxima in $m\mu$ *)

In Methanol:	566	532	498
„ Pyridin:	600	542	501
„ Acetanhydrid:	535	500	
„ Acetanhydrid			
+ Pyroboracetat:	587	545	507

*) Gemessen mit einem Prismenspektroskop; starke Banden fett

Aus der eingeeengten Mutterlauge kristallisierte eine bei 175° schmelzende Fraktion.

Auch durch tropfenweises Versetzen einer kalt gesätt. Butanol-Lösung mit Äther ließ sich kristallisiertes Rhodomycin-hydrochlorid erhalten. Das Salz löst sich leicht mit roter Farbe in Wasser, Methanol, Pyridin und Eisessig, sehr wenig dagegen in Äther, Chloroform, Essigester, Benzol und Tetrahydrofuran.

Eine über 19 Stufen geführte Verteilung von 15 mg Rhodomycin-hydrochlorid vom Schmp. 175° zwischen Butanol und $m/_{10}$ Phosphatpuffer vom p_H 7.5 (in jeder Stufe 40 ccm Butanol und 40 ccm Puffer) ergab die Verteilungskurve der Abbild. 2. In jedem Gefäß wurde nach Zugabe von gesätt. Natriumhydrogencarbonat-Lösung das Antibioticum quantitativ in die Butanol-Phase getrieben und hier colorimetrisch bestimmt.

Hydrolytische Spaltung: Eine Lösung von 0.1353 g Rhodomycin-hydrochlorid (Schmp. 193°) in 20 ccm n HCl wurde 2 Stdn. auf 70° erwärmt und das abgespaltene, z. Tl. ausgefallene Rhodomycinon-Gemisch mit Chloroform ausgeschüttelt. Der i. Vak. getrocknete Rückstand des Chloroform-Auszuges wog 0.0743 g. Da das eingesetzte Hydrochlorid bei 70°/0.04 Torr einen Gewichtsverlust von 13.5% zeigte, betrug die auf getrocknetes Rhodomycin-hydrochlorid bezogene Rhodomycinon-Ausbeute 58.3%.

4) Chem. Ing.-Techn. 22, 209 [1950].

Die mit Chloroform extrahierte, blaßgelbe Hydrolysenflüssigkeit hinterließ beim Eindunsten im Exsiccator 89 mg öligen Rückstand ($[\alpha]_D^{20}$: -45°) mit positiver Fehling-Reaktion. Aus einer siedenden Lösung dieses Abbauproduktes in 150 ccm 2 *n* NaOH wurden 75 ccm in eine mit 0.1 *n* HCl beschickte Vorlage abdestilliert. Beim Verdampfen des Destillates hinterblieb ein farbloser hygroskopischer Rückstand, dessen konz. wäßr. Lösung mit gesätt. wäßr. Pikrinsäure-Lösung versetzt wurde. Die ausgeschiedenen gelben Nadeln schmolzen bei 160° und gaben mit Dimethylamin-pikrat (Schmp. 159°) gemischt keine Schmp.-Erniedrigung.

Mengenverhältnis von Rhodomycinon und Iso-rhodomycinon: Für eine Lösung von 30 mg Rhodomycin-hydrochlorid in 25 ccm Methanol wurden im Beckman-Spektrophotometer (Schichtdicke 1 cm) die Extinktionen bei 504 und 565 μ gemessen. Aus den gefundenen Werten $E_{504} = 1.822$ und E_{565} und den bekannten spezifischen Extinktionen von Rhodomycinon und Iso-rhodomycinon für 504 und 565 μ errechnet sich für das beim hydrolytischen Abbau des Rhodomycin-hydrochlorides erhaltene Rhodomycinon-Gemisch ein Gehalt von 88.7% Rhodomycinon und 11.3% Iso-rhodomycinon.

Verarbeitung der Rhodomycin-Fraktion B: 1.15 g rohes Rhodomycin-phosphat (*Staph. aureus* bis zur Verdünnung 1:15 Millionen hemmend) wurden über 20 Stufen zwischen Butanol und Phosphatpuffer vom p_H 7.2 verteilt. Jedes Gefäß der Apparatur faßte 400 ccm von jeder der beiden Phasen. Die Gefäße 1–8 enthielten Rhodomycin-Fraktion A — vorwiegend in der Puffer-Lösung — die Gefäße 13–20 — vorwiegend im Butanol — die Fraktion B, die als Pikrat isoliert wurde.

Tafel 2. Wirksamkeit von Rhodomycin-hydrochlorid im Plattentest

Filtrierpapierstreifen, die mit 0.1-proz. wäßr. Lösung von Rhodomycin-hydrochlorid getränkt waren, wurden auf Agarplatten gebracht, die nach 24 Stdn. mit Streifen der Test-Organismen beimpft wurden. Die unter einer Nummer zusammengefaßten Test-Organismen befanden sich auf einer Platte. Wirksam: +, unwirksam: —

1.) <i>B. mycoides</i>	+	4.) <i>Brucella melitense</i>	+
<i>B. coli</i>	—	<i>B. abortus</i> Bang	+
<i>B. mesentericus</i>	+	<i>Str. haemolyticus</i>	+
<i>B. petasites</i>	+	<i>Str. viridans</i>	+
<i>B. prodigiosus</i>	—	Mund-Streptococccen	+
<i>B. consolidus</i>	+	<i>Corynebact. diphtheriae</i>	+
<i>B. ferrugineum</i>	—	Gonococccen	+
2.) <i>B. subtilis</i>	+	<i>Haemophilus pertussis</i>	+
<i>B. pyocyaneum</i>	—	<i>Vibrio cholerae</i>	+
<i>B. fusiformis</i>	+	5.) <i>B. Friedländer</i>	—
<i>B. rubidaeum</i>	—	<i>Enterococccen</i> D 708	+
<i>B. parvus</i>	+	<i>B. enteritidis</i> Gärtner	—
<i>Achromobageminum</i>	+	<i>Paratyphus</i> A-Erreger	—
3.) <i>Ps. fluorescens</i>	—	<i>Paratyphus</i> B-Erreger	—
<i>Staph. aureus</i>	+	Typhus-Erreger	—
<i>Ps. tumefaciens</i>	—	Milzbrand-Erreger	+
<i>Str. lactis</i>	—	<i>Str. aureus</i>	+
<i>B. brevis</i>	—	6.) <i>Aspergillus niger</i>	—
<i>Str. lactis</i>	+	<i>Penicillium brevicaulae</i>	—
<i>B. arenarius</i>	+	<i>Penicillium roqueforti</i>	—
		<i>Verticillium</i>	—
		<i>Aspergillus orycae</i>	—

Zur nochmaligen Verteilung zerlegte man das Pikrat der Fraktion B in der oben beschriebenen Weise mit verd. Salzsäure, entfernte die Pikrinsäure durch Ausäthern und überführte die Fraktion B in Butanol. Den Butanol-Auszug engte man i. Vak. auf 25 ccm ein, verdünnte mit dem gleichen Vol. Äther und verteilte nun über 29 Stufen zwischen Butanol-Äther (1:1) und Phosphatpuffer vom p_H 4.8 (Abbild. 3, Kurve I), wobei die in die Apparatur eingesetzte Menge B nicht mehr als 70 mg betrug. Jedes Gefäß der Apparatur enthielt 40 ccm von jeder Phase. Die Gefäße 0–6 enthielten Rhodomycin-Fraktion A (quantitativ in der Puffer-Lösung). Der Inhalt von 6–12 wurde verworfen. 13–22 enthielten die Fraktion B (zu etwa 70% im Butanol-Äther-Gemisch). Die Lösungen in 24–29 waren braunrot; sie enthielten Stoffe, die sich aus Butanol + Äther-Gemischen nicht mehr mit Lauge ausschütteln ließen und verworfen wurden. Fraktion B wurde durch Zugabe von Natriumhydrogencarbonat zur wäbr. Phase der Gefäße 13–22 quantitativ in Butanol übergeführt.

Diese Butanol-Lösung engte man i. Vak. auf 12.5 ccm ein, verdünnte mit Äther auf 50 ccm und verteilte in der gleichen Apparatur über 11 Stufen zwischen Butanol + Äther (1:3) und Salzsäure vom p_H 3.0. Die Gefäße 0–4 (Abbild. 3, II) enthielten Fraktion B (in der wäbr. Phase), 6–11 die braunen Begleitstoffe (in der Butanol-Phase). Aus den wäbr. Phasen der Gefäße 0–4 wurde nach Einstellen auf p_H 8.6 der Farbstoff in Butanol aufgenommen und verblieb, als dieses i. Vak. verdampft wurde, als amorphes, rotes Pulver.

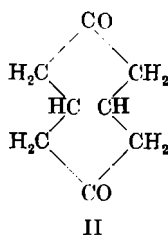
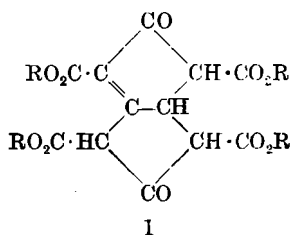
42. Hans-Werner Wanzlick: Die Strukturaufklärung des Bicyclo-[0.3.3]-octan-dions-(2.5)

[Aus dem Organisch-chemischen Institut der Technischen Universität Berlin-Charlottenburg]

(Eingegangen am 15. September 1952)

Die Strukturaufklärung des von G. Schroeter und G. Vossen erhaltenen Diketons bestätigt die Richtigkeit der damaligen Formulierung. Es wird die *cis*-Verknüpfung der Ringe bewiesen.

Bei dem Versuch, die Äthan-1.1.2.2-tetraessigsäure darzustellen, gelangten G. Schroeter und G. Vossen¹⁾ in die Reihe des Bicyclo-[0.3.3]-octans (Pentalans). Die Synthese ging aus vom Chloraliden-malonester, der bei der Kondensation mit 3 Moll. Malonester den Bicyclo-[0.3.3]-octendion-(2.5)-tetracarbonsäure-(1.3.4.6)-ester (I) ergab. Die Hydrierung mit Natriumamalgam und anschließende Ketonspaltung lieferten das Bicyclo-[0.3.3]-octandion-(2.5) (II).



Das Diketon II bildet farblose, leicht wasserlösliche Kristalle vom Schmp. 84°. Das Vorliegen zweier Ketogruppen wurde von G. Schroeter und G. Vossen durch die Darstellung des Dioxims (Schmp. 165°) bewiesen.

¹⁾ Liebigs Ann. Chem. 426, 1 [1922].