

wozu etwa 2–3 Stdn. erforderlich sind, läßt man erkalten und gießt das Reaktionsgemisch in 500 ccm Wasser. Der auf der wäbr. Schicht schwimmende Kohlenwasserstoff wird abgetrennt und noch dreimal mit Wasser gewaschen. Über Natrium destilliert, zeigt er einen Sdp. von 135–140°.

Hydrotriazol: 1 ccm des reduzierten Kohlenwasserstoffs wird mit 1 ccm Phenylazid versetzt. Nach 3 Tagen destilliert man den nicht umgesetzten Kohlenwasserstoff und das überschüssige Phenylazid i. Vak. ab. Der Rückstand erstarrt beim Anreiben und bildet, aus Methanol umkristallisiert, Prismen vom Schmp. 86°. O. Diels und K. Alder^{14,16)} geben für das Hydrotriazol des Santens den gleichen Schmp. an.

$C_{16}H_{19}N_3$ (241.3) Ber. C 74.65 H 7.94 N 17.41
Gef. C 74.42, 74.41 H 7.98, 7.84 N 17.49, 17.43

64. Hans Brockmann und Hans-Ulrich May: Über Actinomycetenfarbstoffe, III. Mittell.¹⁾: Zur Konstitution des Limocrocins

[Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen]
(Eingegangen am 8. Januar 1955)

Perhydro-limocrocin wurde durch Hydrolyse zur Tetradeccan-dicarbonensäure-(1.14) abgebaut. Hieraus sowie aus dem chemischen und spektroskopischen Verhalten des Limocrocins ergibt sich, daß dieser Actinomycetenfarbstoff ein Derivat des Descrocetins ist.

Die vor kurzem aus der Kulturlösung von *Streptomyces limosus* isolierte, stickstoffhaltige, gelbe Dicarbonensäure Limocrocin¹⁾ liefert bei katalytischer Hydrierung unter Aufnahme von 7 Moll. Wasserstoff ein farbloses, kristallisiertes Perhydro-limocrocin, addiert 7 Moll. Brom und löst sich in konz. Schwefelsäure mit tiefblauer, schnell vergänglicher Farbe, Reaktionen, die das Vorliegen einer Polyenkette vermuten lassen¹⁾.

Aus verschiedenen Gründen erschien es zweckmäßig, die Konstitutionsermittlung des Limocrocins mit einer Untersuchung seiner Perhydroverbindung zu beginnen. Als Ausgangsmaterial zur Gewinnung von Perhydro-limocrocin diente anfangs kristallisiertes Limocrocin¹⁾. Da es sich in organischen Solvenzen ungewöhnlich schwer löst, ist die Bereitung größerer Mengen kristallisierten Farbstoffes mühsam, und seine Hydrierung muß in wäßrigem Alkali durchgeführt werden, was reichliche Mengen Platin-Katalysator erfordert. Wie wir fanden, läßt sich die Darstellung der Perhydroverbindung erheblich vereinfachen, wenn als Ausgangsmaterial amorphes Limocrocin der Reinheitsstufe II¹⁾ und als Katalysator Raney-Nickel bei 50° und 150 atü verwendet wird.

Das auf diese Weise gewonnene Perhydro-limocrocin kristallisiert in feinen farblosen Nadeln und hat das gleiche IR-Spektrum wie unsere früheren Perhydro-limocrocin-Präparate vom Schmp. 159–161°. Im Gegensatz zu diesen schmilzt es aber bereits bei 135° und hat einen um 0.5 % niedrigeren Kohlenstoffgehalt. Die naheliegende Vermutung, daß für diese Diskrepanz die ab-

¹⁴⁾ K. Alder u. G. Stein, Liebigs Ann. Chem. 485, 219 [1931].

¹⁾ II. Mittelteil: H. Brockmann u. G. Grothe, Chem. Ber. 86, 1110 [1953].

geänderte Darstellungsweise verantwortlich ist, hat sich nicht bestätigt; denn auch nach dem alten Verfahren¹⁾ erhielten wir aus unseren jetzigen, kristallisierten Limocrocin-Präparaten, die sich von unseren früheren weder in den Analysenzahlen noch im Absorptionsspektrum merklich unterscheiden, nur die Perhydroverbindung vom Schmp. 135°. Eine befriedigende Erklärung für diese unterschiedlichen Befunde fehlt vorläufig.

Die Analysenzahlen des Perhydro-limocrocins vom Schmp. 135° passen besser auf $C_{25}H_{38}O_6N_2$ als auf die für unsere ersten Präparate (Schmp. 159–161°) diskutierte Formel $C_{26}H_{40}O_6N_2$ ¹⁾. Danach käme dem Limocrocin die Formel $C_{25}H_{38}O_6N_2$ zu, die mit den Analysenzahlen unserer früheren und jetzigen Limocrocin-Präparate mindestens ebenso gut in Einklang steht, wie die zunächst in Erwägung gezogene Formel $C_{26}H_{40}O_6N_2$ ¹⁾. Ohne sie als endgültig anzusehen, haben wir die C_{25} -Formel den Überlegungen und Rechnungen dieser Arbeit zugrunde gelegt.

Durch potentiometrische Titration des Perhydro-limocrocins vom Schmp. 135° in Dimethylformamid-Wasser (3:2) fanden wir das Äquivalentgewicht 232 ± 2 , das innerhalb der Fehlergrenze mit dem früher für das Perhydroprodukt vom Schmp. 159–161° ermittelten Wert übereinstimmt.

Methylierung des neuen Perhydroderivates mit Diazomethan lieferte einen kristallisierten Dimethylester $C_{27}H_{42}O_6N_2$ vom Schmp. 146–147°.

Aus dem IR-Spektrum des Perhydro-limocrocins geht hervor, daß es mindestens eine substituierte Säureamidgruppe enthält¹⁾. Es lag deshalb nahe, einen hydrolytischen Abbau zu versuchen. Dabei faßten wir nach 24stdg. Kochen mit 1.3*n* NaOH in guter Ausbeute eine kristallisierte, im Hochvak. bei 120° sublimierbare Verbindung vom Schmp. 124°, die ihren Eigenschaften, Analysenzahlen und der potentiometrischen Titration nach eine Dicarbonsäure $C_{16}H_{30}O_4$ sein muß. Sie hat das gleiche IR-Spektrum wie synthetische²⁾ Tetradecan-dicarbonsäure-(1.14) (Schmp. 124°) und gibt mit dieser keine Schmp.-Erniedrigung. Auch der mit Diazomethan dargestellte Dimethylester der Abbausäure (Schmp. 54°) zeigt im Gemisch mit dem Dimethylester der synthetischen Säure (Schmp. 54°) den gleichen Schmelzpunkt. Damit ist unsere Abbausäure als Tetradecan-dicarbonsäure-(1.14) (Thapsiasäure) identifiziert.

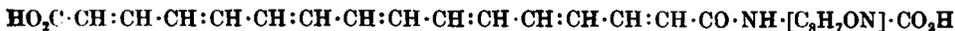
Versuche, bei der Alkalihydrolyse des Perhydro-limocrocins weitere Abbauprodukte zu gewinnen, sind bisher erfolglos geblieben. Das neutralisierte Hydrolysat hinterließ beim Verdampfen einen Rückstand, der sich an der Luft braun färbte. Sein Papierchromatogramm (Butanol-Eisessig-Wasser; 4:1:5) zeigte nur eine Zone, die bereits während der Entwicklung braun wurde und nach Behandlung mit Ninhydrin keine deutliche Färbung erkennen ließ. Auch nach Hydrolyse des Perhydro-limocrocins mit konz. Salzsäure bzw. Bromwasserstoffsäure konnte bisher nur Thapsiasäure gefaßt werden.

Durch den Abbau zur Thapsiasäure sind 16 C-Atome des Perhydro-limocrocins festgelegt. Da dieses die für monosubstituierte Säureamide charakteristischen IR-Banden bei 6.15 und 6.45 μ zeigt, ist der Rest der Perhydro-limocrocin-Molekel offenbar säureamidartig mit der Thapsiasäure verknüpft.

²⁾ Dargestellt nach H. Stetter u. W. Dierichs, Chem. Ber. 85, 1061 [1952].

³⁾ Daß der neun C-Atome enthaltende Rest der Perhydro-limocrocin-Molekel in Form von zwei Bauelementen mit beiden Carboxygruppen der Thapsiasäure verknüpft ist, kann aus Gründen, die hier nicht erörtert werden sollen, mit großer Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden.

Nimmt man an, daß an dieser Verknüpfung nur eine Carboxygruppe der Thapsiasäure beteiligt ist³⁾, so muß der Rest die zweite Carboxygruppe des Perhydro-limocrocins enthalten, und dieses wäre, falls es die Bruttoformel $C_{26}H_{38}O_6N_2$ hat, nach I zu formulieren.



II

Da der wasserstoffarme Rest- C_8H_7ON - bei der katalytischen Hydrierung nicht abgesättigt wird, liegt die Vermutung nahe, daß er ein aus zwei kondensierten Ringen bestehendes heterocyclisches System enthält. Damit würde auch die starke Absorptionsbande des Perhydro-limocrocins bei 260 $m\mu$ (Methanol) in Einklang stehen.

Wenn die sieben durch Hydrierung und Bromierung nachweisbaren Doppelbindungen des Limocrocins, wie seinem Absorptionsspektrum nach anzunehmen, konjugiert sind, so können sie nur in dem Teil der Molekel enthalten sein, der bei der Hydrierung in den Thapsiasäure-Rest des Perhydro-limocrocins übergeht. Das bedeutet aber, daß Limocrocin ein Derivat der von R. Kuhn und Chr. Grundmann⁴⁾ erstmalig dargestellten Tetradeca-heptaen dicarbonsäure-(1.14) (Descrocetin) ist und ihm, falls seine Perhydroverbindung die Konstitution I hat, die Teilformel II zukommt. Dafür, daß dieser Formel entsprechend im Limocrocin die eine Carboxygruppe des Descrocetins frei ist, scheint uns das spektroskopische Verhalten des Farbstoffes zu sprechen. Seine Absorption in Pyridin wird nämlich auf Zusatz von Piperidin kurzwelliger, ein Verhalten, das wir auch beim Bixin fanden.

Gegen Formel II könnte geltend gemacht werden, daß Limocrocin im Gegensatz zum Descrocetin keine deutlichen Absorptionsbanden zeigt und das Hauptmaximum seiner Absorptionskurve langwelliger liegt als die stärkste Bande des Descrocetins. Diesem Einwand läßt sich folgendes entgegenhalten. Wenn im Limocrocin das Descrocetin säureamidartig mit dem ungesättigten Rest der Molekel verbunden ist, so erscheint es nicht ausgeschlossen, daß dieser über die Säureamidgruppe (Imidform) in Konjugation zur Polyenkette tritt. Dann aber wäre verständlich, daß Limocrocin als unsymmetrisch gebautes Polyen, ähnlich wie Azafrin und Capsanthin, keine scharfen Absorptionsbanden zeigt und sein Hauptmaximum langwelliger liegt als das vom Descrocetin.

Nach Formel II müßte Limocrocin bei alkalischer Verseifung Descrocetin liefern. Tatsächlich erhielten wir durch Erhitzen von Limocrocin mit $2n$ NaOH ein amorphes, gelbes Abbauprodukt, das nach Methylierung mit Diazomethan und chromatographischer Reinigung an Aluminiumoxyd eine Fraktion mit den Absorptionsbanden des Descrocetin-dimethylesters⁴⁾ (450, 425 $m\mu$ in Pyridin) lieferte.

Descrocetin ist bisher noch nicht in der Natur aufgefunden worden. Sein um eine Doppelbindung ärmeres Homologes dagegen, die kürzlich synthetisierte⁵⁾ Dodeca-hexaen-dicarbonsäure-(1.12), hat Erdtman⁶⁾ aus dem Pilz *Corticium croceum* isoliert und Corticrocin genannt.

⁴⁾ Ber. dtsch. chem. Ges. 70, 1325 [1937].

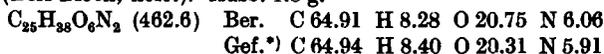
⁵⁾ B. L. Shaw u. M. C. Whiting, J. chem. Soc. [London] 1954, 3217.

⁶⁾ H. Erdtman, Acta chim. scand. 2, 209 [1948].

Beschreibung der Versuche

Ausgangsmaterial: Das Limocrocin wurde in der früher beschriebenen Weise aus der Nährlösung von Oberflächenkulturen isoliert und gereinigt. Ausb. 200 mg/l Kulturlösung.

Perhydro-limocrocin aus Limocrocinfraktion II: Eine Lösung von 4 g Limocrocinfraktion II in 3 l 0.4*n* Na₂CO₃ wurde mit 3–4 Teelöffel Raney-Nickel (zur Aktivierung 15 Min. mit 30-proz. Natronlauge gekocht) im Autoklaven mit Wasserstoff von 120 atü unter Rühren 10 Stdn. auf 50° erwärmt. Die vom Katalysator abgessene und durch Zentrifugieren geklärte Reaktionslösung stellte man mit Salzsäure auf p_H 4.0, zentrifugierte das ausgefallene Hydrierungsprodukt ab, wusch mit Wasser nach und trocknete bei 100°. Zur Reinigung wurde es im Kreisprozeß zunächst dreimal 1 Stde. mit 200 ccm Methanol und anschließend noch 1 Stde. mit 150 ccm Eisessig extrahiert. Der Rückstand wurde verworfen. Aus den Methanolauszügen kristallisierte das Perhydro-limocrocin aus. Weitere Mengen Hydrierungsprodukt schieden sich aus den Mutterlaugen und dem Eisessigauszug nach Einengen i. Vak. ab. Zur Reinigung wurde zunächst aus Benzol und dann zweimal aus Methanol umkristallisiert. Feine, farblose Nadeln vom Schmp. 135° (Berl-Block, korr.). Ausb. 1.8 g.



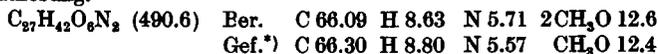
*) Getrocknet bei 100° i. Hoehvak.

Potentiometrische Titration: Einwaagen von 10–15 mg Perhydro-limocrocin wurden in 7.5 ccm Dimethylformamid-Wasser (3:2) unter kurzem Erwärmen gelöst, durch schnelles Abkühlen feinkristallin wieder abgeschieden und sogleich mit 0.1*n* NaOH titriert (Glas- und Kalomel-Elektroden, Röhrenpotentiometer). Bei dieser Arbeitsweise war die Geschwindigkeit der Potentialeinstellung befriedigend. Erst gegen Ende der Titration mußte vor jeder Ablesung einige Minuten gewartet werden. Am Äquivalenzpunkt wurde die Lösung schlagartig klar.



Perhydro-limocrocin-dimethylester: Eine Lösung von 200 mg Perhydro-limocrocin in 25 ccm Chloroform wurde mit 12 Millimol Diazomethan in 20 ccm Chloroform versetzt. Nach 48 Stdn. hatten sich aus der farblos gewordenen Lösung Kristalldrusen (142 mg) abgeschieden. Den Rückstand der Mutterlauge löste man in Benzol, gab die Lösung durch eine kurze Calciumsulfat-Säule und wusch zuerst mit Benzol, dann mit Aceton nach. Aus dem Benzol-Eluat wurden farblose Kristalle, Schmp. 120° (Berl-Block), gewonnen.

Aus Dioxan kristallisierte der Ester in Nadeln vom Schmp. 146–147°, die in heißem Benzol und Aceton wenig löslich waren. Während Perhydro-limocrocin sich leicht in *n* NaOH löst, ist der Methylester darin unlöslich. Ebenso glatt wie in Chloroform verläuft die Methylierung des in Äther suspendierten Perhydro-limocrocins mit äther. Diazomethanlösung.



*) Getrocknet bei 130° i. Hoehvak. über P₂O₅.

Verseifung: 15 mg Perhydro-limocrocin-dimethylester wurden mit 3 ccm 0.2*n* NaOH unter Stickstoff 3 Stdn. auf 100° erhitzt. Aus der angesäuerten Hydrolyseflüssigkeit erhielt man 4 mg Perhydro-limocrocin vom Schmp. 133° (Misch-Schmp. mit Perhydro-limocrocin von 133°).

Alkalische Hydrolyse von Perhydro-limocrocin: Eine Lösung von 715 mg Perhydro-limocrocin in 30 ccm 1.3*n* NaOH wurde im Stickstoff-Strom 24 Stdn. gekocht, wobei der entweichende Gasstrom eine mit 0.1*n* HCl beschickte Vorlage passierte. Beim Verdampfen der Salzsäure hinterblieb ein farbloser Rückstand (20 mg), der mit Platinchlorwasserstoff als Ammoniumchlorid identifiziert wurde.

Aus der gelblichen Hydrolyseflüssigkeit fiel beim Versetzen mit Salzsäure ein farbloser Niederschlag. Das Salzsäurefiltrat engte man i. Vak. ein, fällte den Hauptteil des Koch-

salzes durch Äthanol aus und verdampfte das Filtrat im Vakuum. Beim Aufbewahren im Vak.-Exsiccator wurde der Rückstand braunschwarz. Der farblose Niederschlag der angesäuerten Hydrolyseflüssigkeit wurde aus Benzol umkristallisiert (395 mg) und anschließend im Hochvak. bei 120–126° sublimiert. Ausb. 312 mg Kristallsublimat vom Schmp. 124° (Berl-Block, korr.). Im Gemisch mit Tetradecan-dicarbonsäure-(1.14) (Thapsiasäure), Schmp. 124°, trat keine Schmp.-Erniedrigung ein.

$C_{16}H_{30}O_4$ (286.4) Ber. C 67.10 H 10.57 Gef. C 67.12 H 10.57

Äquivalentgew.-Bestimmung durch potentiometrische Titration: Die Säure wurde wie Perhydro-limocrocin in Dimethylformamid-Wasser (3:2) mit 0.1*n* NaOH titriert.

$C_{16}H_{30}O_4$ Äquival.-Gew. Ber. 144.2 Gef. 145.4

Veresterung: Die Abbausäure wurde in Äther mit Diazomethan methyliert. Das Reaktionsprodukt vom Schmp. 53–54° (Berl-Block, korr.) gab mit dem in gleicher Weise hergestellten Dimethylester der Thapsiasäure keine Schmp.-Erniedrigung.

65. Siegfried Hünig und Jasper Utermann¹⁾: Farbreaktionen auf ungesättigte Carbonylverbindungen, I. Mitteil.: Azobenzol-hydrazinsulfonsäure-(4) als Farbreagens

[Aus dem Chemischen Institut der Universität Marburg]

(Eingegangen am 17. Dezember 1954)

An Hand von qualitativen Reaktionen und Spektralkurven wird gezeigt, daß die Farbreaktion der Azobenzol-hydrazinsulfonsäure-(4) (AHS) mit ungesättigten Carbonylverbindungen von der Zahl der zur Carbonylgruppe konjugierten Doppelbindungen abhängt.

Zum Nachweis und zur Bestimmung der Carbonylgruppe sind zahlreiche Farbreaktionen bekannt, jedoch mangelt es an einer bequemen Reaktion, mit der sich durch die auftretende Farbe die Zahl der zur Carbonylgruppe konjugierten Doppelbindungen zu erkennen gibt.

Zwar rückt bei vinylenhomologen Carbonylverbindungen das Hauptmaximum gesetzmäßig²⁾ nach längeren Wellen, erreicht aber selbst mit 6 konjugierten Doppelbindungen eben erst den sichtbaren Bereich³⁾. Die gebräuchlichen Derivate dieser Carbonylverbindungen verhalten sich ähnlich mit Ausnahme der *p*-Nitro- und Dinitro-phenylhydrazone, die in stark alkalischer Lösung doppelbindungsabhängige Farbe zeigen⁴⁾.

J. Tröger hat nun mit Azobenzol-hydrazinsulfonsäure-(4) (I) (= AHS) zahlreiche Carbonylverbindungen zu tieffarbigen Salzen umgesetzt⁵⁾, indem er die Spaltung von I zu dem nicht beständigen 4-Hydrazino-azobenzol in Gegenwart der Carbonylkomponente durchführte.

¹⁾ Dissertat. Marburg 1954.

²⁾ K. W. Hausser u. R. Kuhn, Z. physik. Chem., Abt. B **29**, 378 [1934].

³⁾ Vergl. l. c.²⁾; E. Blout u. M. Fields, J. Amer. chem. Soc. **70**, 191 [1948].

⁴⁾ F. Bohlmann, Chem. Ber. **84**, 490 [1951]; J. D. Roberts u. Ch. Green, J. Amer. chem. Soc. **68**, 214 [1946]; vergl. jedoch G. Lappin u. L. Clark, Analytic. Chem. **23**, 541 [1951].

⁵⁾ J. Tröger u. A. Westerkamp, Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. **247**, 682 [1909].