

Klaus Eckardt

Rote Antibiotica aus Actinomyceten

## Zur Identifizierung einer Reihe von Anthracyclinonpigmenten aus *Streptomyces galilaeus* Stamm JA 3043 (Galirubine und Galirubinone)

Aus dem Institut für Mikrobiologie und Experimentelle Therapie der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Jena

(Eingegangen am 24. Februar 1967)

Aus dem Stamm *Streptomyces galilaeus* JA 3043 wurde eine Reihe von Pigmenten unterschiedlicher Anthracyclinontypen isoliert und als  $\epsilon$ -Pyrromycinon (1a),  $\zeta$ -Pyrromycinon (2a),  $\eta$ -Pyrromycinon (3a), Aklavinon (1), 7-Desoxy-aklavinon (2) sowie das bisher noch nicht aus biologischem Material isolierte Bis-anhydro-aklavinon (3) identifiziert. Die in der Literatur für 7-Desoxy-aklavinon angegebene Strukturformel wurde bestätigt.  $\epsilon$ -Pyrromycinon und Aklavinon lagen im wesentlichen als Glykoside (Galirubine A und B) vor.

Die aus verschiedenen *Streptomyces*-Stämmen isolierbaren gelbroten bis roten Pigmente der Anthracyclinonreihe und deren Glykoside, die Anthracyclin-Antibiotica, lassen sich je nach Zahl und Stellung ihrer zum Chromophor gehörigen phenolischen OH-Gruppen zu wenigen Haupttypen zusammenfassen (vgl. Tab.)<sup>1)</sup>.

### Haupttypen der Anthracyclinon-Pigmente und ihrer Glykoside

Typen	Stellung der <i>peri</i> -ständigen OH-Gruppen am 9-Äthyl-7.8.9.10-tetrahydro-tetra-cenchinon-(5.12)-Gerüst <sup>a)</sup>
Iso-rhodomycinone und Glykoside	1, 4, 6, 11
Rhodomycinone und Glykoside	4, 6, 11 <sup>2)</sup>
$\delta$ -Rhodomycinon	1, 4, 11
Pyrromycinone und Glykoside	1, 4, 6
Aklavinone und Glykoside	4, 6
Ruticulomycine <sup>3)</sup>	1, 4
Iso-chinocyclin A <sup>4)</sup>	1, 6 bzw. 4, 11 <sup>b)</sup>
Daunomycin <sup>5)</sup>	6, 11; 1 oder 4 OCH <sub>3</sub> <sup>b)</sup>

a) Zur Nomenklatur s. l. c.<sup>1)</sup>.

b) Wegen der nahen Verwandtschaft mit angeführt.

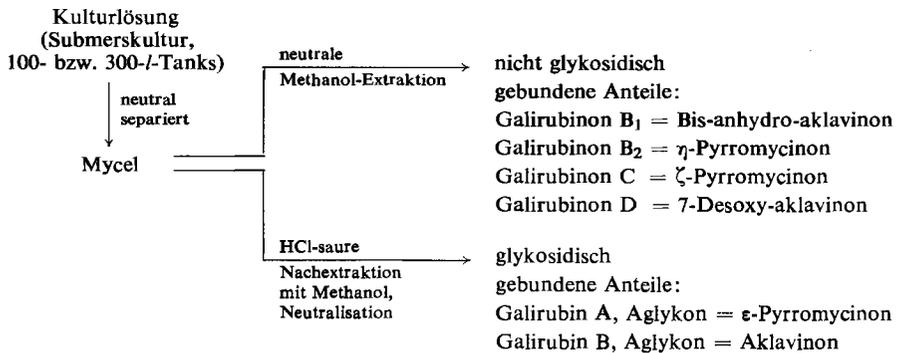
- 1) Ausführliche Übersicht: H. Brockmann, Fortschr. Chem. org. Naturstoffe [Wien] 21, 121 (1963).
- 2) H. Brockmann und E. Wimmer, Chem. Ber. 98, 2797 (1965).
- 3) L. A. Mischer, W. McCrae, W. W. Andres, J. A. Lowery und N. Bohonos, J. pharmac. Sci. 53, 1139 (1964).
- 4) A. Tulinsky, J. Amer. chem. Soc. 86, 5368 (1964).
- 5) F. Arcamone, G. Franceschi, P. Orezzi, G. Cassinelli, Wanda Barbieri und Rosanna Mondelli, J. Amer. chem. Soc. 86, 5334 (1964).

Einige Anthracycline können aus den Kulturen verschiedener *Streptomyces*-Arten gewonnen werden. Dagegen war trotz der Vorstellungen über gemeinsame Biosynthesewege die Bildung mehrerer Grundtypen von einem Stamm nach der vorliegenden Literatur nur von *Streptomyces purpurascens*, dem Bildner der Iso-rhodomyconone, Rhodomyconone sowie des  $\delta$ -Rhodomyconins, bekannt.

Nachfolgend wird über die gemeinsame Isolierung von Pigmenten der Pyrromycinongruppe sowie der Aklavinongruppe aus Kulturen eines *Streptomyces*-Stammes JA 3043, der der Species *Streptomyces galilaeus* Ettliger et al. angehört<sup>6)</sup>, berichtet. Diese Pigmente erhielten gemäß ihrer Herkunft die Bezeichnung „Galirubinone“ bzw. „Galirubine“<sup>7)</sup>.

### Identifizierung von $\epsilon$ -Pyrromycinon und Aklavinon als Aglykone der Galirubine A und B

Alle aus dem Stamm JA 3043 gewonnenen Pigmente wurden durch Extraktion des Mycels mit Methanol bei neutralem und saurem pH-Wert erhalten:



Die bei der sauren Nachextraktion des Mycels erhaltenen rot- bis rotbraunen Rohsubstanzen waren im Gegensatz zu den neutralen Extrakten stärker antibiotisch wirksam und enthielten in der Mehrzahl der Tankansätze einen roten (Galirubin A) sowie einen gelben Anteil (Galirubin B). Die saure Hydrolyse dieser Gemische ergab neben verschiedenen Zuckerkomponenten zwei Aglykone, die sich papierchromatographisch (wassergesätt. Benzol) nur wenig voneinander unterschieden. Das Aglykon B war dabei als gelbe, obere Randzone des roten Aglykons A erkennbar. Die präparative Auftrennung erfolgte an NaHCO<sub>3</sub>-behandeltem Kieselgel, wobei die reinen Aglykone in kristallisierter Form erhalten wurden.

Die Eigenschaften des roten Aglykons von Galirubin A stimmten mit den in der Literatur für  $\epsilon$ -Pyrromycinon (1a) angegebenen Daten<sup>8,9)</sup> überein. Zur Bestätigung der Identität wurde unsere Substanz nach Brockmann und Lenk<sup>8)</sup> mit Bromwasserstoffsäure/Eisessig umgesetzt. Die dabei erhaltenen roten Nadeln zeigten im Direkt-

<sup>6)</sup> G. Bradler, K. Eckardt und R. Fügner, Z. allg. Mikrobiol. 6, 361 (1966).

<sup>7)</sup> K. Eckhardt und G. Bradler, Naturwissenschaften 52, 539 (1965).

<sup>8)</sup> H. Brockmann und W. Lenk, Chem. Ber. 92, 1880 (1959).

<sup>9)</sup> L. Ettliger, E. Gäumann, R. Hütter, W. Keller-Schierlein, F. Kradolfer, L. Neipp, V. Prelog, P. Reusser und H. Zähler, Chem. Ber. 92, 1867 (1959).

vergleich mit  $\gamma$ -Pyrromycinon chromatographisch sowie nach Schmelzpunkt, Mischschmelzpunkt, Analysenwerten und IR-Spektren keine Unterschiede.

Das gelbe Aglykon des Galirubins B entsprach in seinen Eigenschaften dem von *Gordon* und Mitarbb.<sup>10)</sup> beschriebenen Aklavinon (1). Zur Sicherung der Identität wurde unsere Verbindung mit Bromwasserstoffsäure/Eisessig zum Bis-anhydro-Derivat (3) umgesetzt. Diese Verbindung hatten *Gordon* und Mitarbb. bei der Strukturaufklärung des Aklavinons auf anderem Wege erhalten, und die hierfür angegebenen Daten stimmten mit denen unseres HBr-Umsetzungsproduktes überein.

### Versuche zur Identifizierung der antibiotisch aktiven Glykoside aus *Streptomyces galilaeus* JA 3043

Als Glykosid des Aklavinons wurde Aklavin, das einzige bisher isolierte Antibioticum dieses Anthracyclinon-Typs, beschrieben<sup>11)</sup>. Dagegen sind als Glykoside des  $\epsilon$ -Pyrromycinons (Rutilantinons) mehrere Antibiotica, nämlich das Pyrromycin<sup>12)</sup>, die Cinerubine A und B<sup>9)</sup> sowie die Rutilantine<sup>13)</sup> bekannt. *Gäumann* und Mitarbb. haben unter den Cinerubine bildenden Streptomycetenstämmen bereits früher auch die Art *Streptomyces galilaeus* Ettliger et al. genannt.

Zur Identifizierung unserer Glykoside wurde die Rohsubstanz an Kieselgel (aktiviert mit Borsäure<sup>14)</sup>) chromatographiert. Nach einer Reihe von gelben und roten Vorzonen trennte sich schließlich eine gelbe Hauptzone B von einer sehr langsam wandernden roten Hauptzone A ab. Aus den Eluatn dieser Hauptzonen wurden die Galirubine A und B als amorphe Substanzen erhalten. Galirubin A enthielt wie die Cinerubine, Pyrromycin und die Rutilantine nur  $\epsilon$ -Pyrromycinon, Galirubin B wie Aklavin nur Aklavinon als Aglykon. Die papierchromatographische Untersuchung der nach saurer Hydrolyse freigesetzten Zucker ergab im Falle des Galirubins B zwei, im Falle des Galirubins A fünf Flecke, wobei sich die beiden Zucker des Galirubins B gegenüber Anilinphtalat sowie Anilin/Diphenylamin/Phosphorsäure wie die entsprechenden Zucker mit gleichen  $R_f$ -Werten des Galirubins A verhielten.

Diese Ergebnisse lassen vermuten, daß sich die Galirubine A und B von den auch hinsichtlich des Zuckerteiles näher beschriebenen Cinerubinen A und B, Pyrromycin sowie Aklavin unterscheiden<sup>1,10)</sup>. Die sichere Differenzierung steht jedoch noch aus, da trotz der Isolierung der Galirubine A und B aus einheitlichen Zonen noch nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden konnte, daß es sich um einheitliche Verbindungen mit jeweils definierter Zuckerkette handelt. Über die Zucker der Rutilantine sind keine Angaben bekannt.

### Identifizierung von Galirubinon D

Von den durch neutrale Mycelextraktion unseres Stammes gewonnenen, wasserunlöslichen Pigmenten fiel eine gelbrote Substanz mit dem Schmelzpunkt 224–225° als Hauptprodukt an. In der Literatur war keine Verbindung bekannt, deren Daten auf unsere Substanz paßten, weshalb wir die Konstitution untersuchten. Die erhal-

10) *J. J. Gordon, L. M. Jackman, W. D. Ollis und I. O. Sutherland, Tetrahedron Letters* [London] **8**, 28 (1960).

11) *F. Strelitz, H. Flon, U. Weiß und I. N. Asheshov, J. Bacteriol.* **72**, 90 (1956).

12) *H. Brockmann und W. Lenk, Chem. Ber.* **92**, 1904 (1959).

13) *I. N. Asheshov und J. J. Gordon, Biochem. J.* **81**, 101 (1961).

14) *H. Brockmann, J. Niemeyer und W. Rode, Chem. Ber.* **98**, 3145 (1965).

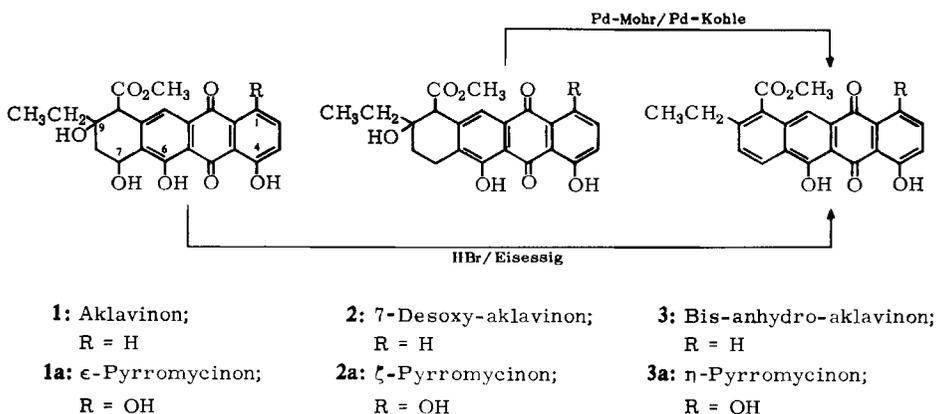
tenen Ergebnisse führten zu einer Formel, die mit dem von *Ollis* und Mitarbb.<sup>15,16)</sup> erwähnten 7-Desoxy-aklavinon übereinstimmte, über das die genannten Autoren aber außer der Strukturformel keine näheren Angaben über Eigenschaften und physikalische Daten veröffentlicht hatten. Die Identität beider Substanzen ließ sich später durch direkten Vergleich der  $R_F$ -Werte, Schmelzpunkte und IR-Spektren bestätigen.

Folgende Untersuchungen hatten zur Strukturformel unserer Substanz geführt:

Nach Analyse und Molekulargewicht<sup>17)</sup> errechnete sich die Summenformel  $C_{22}H_{20}O_7$  mit einer Methoxygruppe. Die Acetylierung mit Acetanhydrid/Pyridin ergab als Hauptprodukt ein blaßgelbes Diacetat mit einer OH-Bande bei 3610/cm ( $CCl_4$ ), die auf eine tertiäre, schwer acetylierbare OH-Gruppe hinwies<sup>11)</sup>. Die Methoxygruppe gehört zu einer Methoxycarbonylgruppe (IR-Bande bei 1730/cm). Sie war nach alkalischer Verseifung des Galirubinons D zur Säure nicht mehr vorhanden. Die für fast alle Anthracyclinone charakteristische Äthylgruppe wurde durch Kuhn-Roth-Oxydation sowie papierchromatographischen Nachweis der dabei entstandenen Essigsäure und Propionsäure bestätigt.

Die Absorptionsspektren des Galirubinons D stimmen im IR (Bereich von 1580–1700/cm) sowie im UV und sichtbaren Bereich mit denen des 1,8-Dihydroxy-anthrachinons (Chrysazin) nahezu überein. Da die Zinkstaubdestillation nach Fraktionierung in n-Hexan jedoch ein Destillat mit dem charakteristischen Absorptionsspektrum des Tetracens ergab, war für Galirubinon D das Grundgerüst des Aklavinons zu erwarten. Die Lokalisierung der Methoxycarbonylgruppe, Äthylgruppe und der tertiären OH-Gruppe erfolgte nach den für die Anthracyclinone beschriebenen Gesichtspunkten<sup>1)</sup> und führte schließlich zur wahrscheinlichen Formel 2 des Desoxy-aklavinons.

Die Bestätigung dafür wurde durch Umsetzung des Galirubinons D mit Palladium-Kohle/Palladiummoor nach dem Vorbild der Reaktion des  $\zeta$ -Pyrromycinons (2a) zu  $\eta$ -Pyrromycinon (3a)<sup>8)</sup> erhalten. Das in unserem Falle entstandene Reaktionsprodukt 3 enthält erwartungsgemäß ein O-Atom weniger und war nach seinem Absorptionsspektrum voll aromatisch.  $R_F$ -Werte, Schmelzpunkt, Analysen und IR-Spektren zeigten keine Unterschiede



<sup>15)</sup> W. D. Ollis, I. O. Sutherland und P. L. Veal, Proc. chem. Soc. [London] 1960, 349.

<sup>16)</sup> W. D. Ollis und I. O. Sutherland in: W. D. Ollis, Recent Developments in the Chemistry of Natural Phenolic Compounds, Pergamon Press, New York 1961.

<sup>17)</sup> Das Molekulargewicht wurde auf molekülmassenspektrographischem Wege im Forschungsinstitut Manfred von Ardenne, Dresden, bestimmt, wofür wir Herrn Dr. R. Tümmler herzlich danken.

zu dem aus Aklavinon (Aglykon des Galirubins B) gewonnenen Umsetzungsprodukt mit Bromwasserstoffsäure und Eisessig. Demnach hatten Äthylgruppe und Methoxycarbonylgruppe des Galirubinons D die gleiche Anordnung wie in Aklavinon.

### Isolierung weiterer Pigmente neben 7-Desoxy-aklavinon

Schon in einer vorläufigen Mitteilung war die Bildung weiterer Komponenten (Galirubinone B und C) erwähnt worden<sup>7)</sup>. Nunmehr konnte das anfangs aus verschiedenen Gründen als rein angesehene kristallisierte Galirubinon B nochmals in zwei Einzelkomponenten (B<sub>1</sub> und B<sub>2</sub>) aufgetrennt werden. Galirubinon B<sub>2</sub>, das aus den Eluaten der langsamer wandernden — an NaHCO<sub>3</sub> vorbehandeltem Kieselgel blauvioletten — Zone in Form von roten Nadeln erhalten wurde, erwies sich bei einem direkten Vergleich (Schmp., Misch-Schmp., IR-Spektren) als identisch mit  $\eta$ -Pyrromycinon (3a).

Galirubinon B<sub>1</sub> fiel aus den Eluaten der schneller wandernden — an NaHCO<sub>3</sub> vorbehandeltem Kieselgel roten — Zone als goldgelbe Nadeln an. Papierchromatographisch (wassergesätt. Benzol) wanderte die Substanz mit gleichem R<sub>F</sub>-Wert wie Komponente B<sub>2</sub> und war lediglich durch seine unterschiedliche Farbe differenzierbar. Galirubinon B<sub>1</sub> löste sich in konz. Schwefelsäure und wäßrigen Alkalien mit roter Farbe. Als Strukturformel ergab sich 3, da alle untersuchten Eigenschaften (Schmp., Absorptionsspektren im IR, sichtbaren und UV-Bereich) mit denen des aus Aklavinon und 7-Desoxy-aklavinon gewonnenen Bis-anhydro-aklavinons übereinstimmten. Einen weiteren Beweis für die Strukturformel 3 des Galirubinons B<sub>1</sub> lieferte ein Vergleich des Absorptionsspektrums in Cyclohexan mit dem Spektrum des 4,6-Dihydroxy-9-äthyl-tetracenchinons-(5.12)<sup>18)</sup>. Die Spektren wiesen nur geringe Abweichungen auf.

Die Isolierung und Identifizierung der von uns bei den Voruntersuchungen als Galirubinon C bezeichneten Komponente wurde von J. Niemeyer im Institut für Organische Chemie der Universität Göttingen durchgeführt. Die reine Verbindung ließ sich im Zusammenhang mit anderen Untersuchungen aus einer Probe von Galirubinon D durch wiederholte Chromatographie an saurem (Oxalsäure) und basischem (NaHCO<sub>3</sub>) Kieselgel (Chloroform/Aceton 10 : 1) abtrennen und durch direkten Vergleich mit der authentischen Verbindung als  $\zeta$ -Pyrromycinon (2a) identifizieren.

Der *Streptomyces galilaeus*-Stamm JA 3043 bildet somit  $\epsilon$ -,  $\zeta$ - und  $\eta$ -Pyrromycinon sowie daneben noch drei Anthracyclinone vom Typ des Aklavinons. Zwei davon ( $\epsilon$ -Pyrromycinon und Aklavinon) liegen vorwiegend in glykosidischer Form vor.

Über die Strukturaufklärung der Pyrromycinone und des Aklavinons wurde von Brockmann sowie Ollis und Sutherland zusammenfassend berichtet<sup>1,16)</sup>. Die Struktur des 7-Desoxy-aklavinons wird durch die vorliegenden Ergebnisse bestätigt. Die Umsetzung des Aglykons aus Galirubin B (Aklavinon) sowie des Galirubinons D (7-Desoxy-aklavinon) zu Bis-anhydro-aklavinon führte nicht nur zur Struktur des aus unserem Stamm isolierten dritten Vertreters der Aklavinongruppe, Galirubinon B<sub>1</sub>, sondern beweist gleichzeitig, daß alle drei Verbindungen die gleiche Anordnung der Substituenten besitzen. Die Strukturformeln der sechs von *Str. galilaeus* JA 3043 gebildeten Anthracyclinone sind in den Formeln 1 bis 3 und 1a bis 3a wiedergegeben. Papierchromatographisch haben, ähnlich wie bei den Rhodomycinonen und Iso-rhodomycinonen, jeweils die Verbindungen 1 und 1a, 2 und 2a sowie 3 und 3a gleiche oder sehr ähnliche R<sub>F</sub>-Werte.

<sup>18)</sup> H. Brockmann und J. Niemeyer, Chem. Ber., in Vorbereitung.

*Brockmann* und Mitarbb. sowie *Ollis* und Mitarbb. haben in den genannten Arbeiten, ausgehend von der nahen chemischen Verwandtschaft, auch biogenetische Zusammenhänge der Aklavinone, Pyrromycinone, Rhodomycinone und Iso-rhodomycinone erörtert. Danach könnte die Biosynthese aller Vertreter dieser vier Gruppen aus Aklavinon oder einer weiter zurückliegenden, gemeinsamen Vorstufe durch Anwendung einfacher, biogenetischer Grundreaktionen schematisch abgeleitet werden.

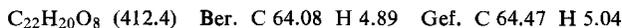
Bisher waren jedoch nur Rhodomycinone und Iso-rhodomycinone zusammen aus Kulturansätzen isoliert worden. Die gemeinsame Bildung von Aklavinonen und Pyrromycinonen durch den *Streptomyces galilaeus*-Stamm JA 3043 gibt einen weiteren Hinweis auf die engen biogenetischen Zusammenhänge zwischen den genannten Anthracyclinotypen. Verschiedene Zonen in den Papierchromatogrammen scheinen darauf hinzudeuten, daß von unserem Stamm auch Vertreter der Rhodomycinone und Iso-rhodomycinone gebildet werden.

Herrn Prof. Dr. H. *Brockmann*, Institut für Organische Chemie der Universität Göttingen, möchten wir für die Übersendung einer Probe  $\eta$ -Pyrromycinon sowie einer Reihe von Spektren herzlich danken. Ebenso danken wir Herrn Prof. Dr. W. D. *Ollis*, Department of Chemistry, University of Sheffield, für eine Vergleichsprobe 7-Desoxy-aklavinon sowie einer isomeren Substanz einschließlich der Spektren dieser Verbindungen.

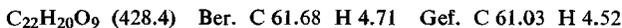
### Beschreibung der Versuche

*Isolierung von Aklavinon (1) und  $\epsilon$ -Pyrromycinon (1a) aus Galirubin-Gemisch:* 100 mg Roh-Galirubin wurden in 20 ccm 0.5 n H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gelöst und 30 Min. im siedenden Wasserbad erhitzt. Der ausgefallene Niederschlag wurde nach Abkühlen abgesaugt, mit Wasser gewaschen, das getrocknete Aglykon-Gemisch in Chloroform auf mehrere Säulen (Kieselgel, mit NaHCO<sub>3</sub> behandelt<sup>14</sup>), eingeschlämmt mit Chloroform/Aceton 1 : 1) aufgegeben und mit Chloroform/Aceton (1 : 1) eluiert. Nach einer Reihe von schwächeren Vorzonen trennte sich jeweils eine rote Hauptzone von einer langsamer wandernden violetten Hauptzone ab.

*Aklavinon (1):* Die vereinigten Eluate der roten Zone wurden mit verd. Salzsäure angesäuert, die nunmehr gelbe Lösung mehrfach mit Wasser gewaschen und i. Vak. zur Trockne eingengt. Der Rückstand ergab aus Äthanol 30 mg gelbrote Nadeln. Schmp. 171–172°. Absorptionsmaxima: 229, 257, 290, 430 m $\mu$  (Cyclohexan).



*$\epsilon$ -Pyrromycinon (1a):* Die vereinigten Eluate der violetten Zone wurden nach Ansäuern orangerot. Nach mehrmaligem Waschen mit Wasser und Einengen zur Trockne aus Äthanol hellrote Nadeln. Ausb. 25 mg, Schmp. 191–193° (Lit.<sup>8</sup>): 213–214° (Zers.).



*Umwandlung von Aklavinon (1) (Aglykon des Galirubins B) in Bis-anhydro-aklavinon (3):* 5 mg reines Aklavinon aus Galirubin B wurden in 2 ccm eines Gemisches von 30 ccm Eisessig und 5 ccm Bromwasserstoffsäure ( $d = 1.49$ ) gelöst und 2 Min. zum Sieden erhitzt. Beim Abkühlen fielen gelbrote Nadelchen aus. Schmp. aus Essigester 236–237°. Ausb. 3 mg feine, gelbrote Nadelchen. Die Substanz war nach  $R_F$ -Wert, UV- und IR-Spektren sowie Misch-Schmp. mit dem Umsetzungsprodukt von Galirubin D (7-Desoxy-aklavinon (2)) mit Palladium-Kohle/Palladiummohr identisch.

*Umwandlung von  $\epsilon$ -Pyrromycinon (1a) (Aglykon des Galirubins A) in  $\eta$ -Pyrromycinon (3a):* 30 mg reines  $\epsilon$ -Pyrromycinon aus Galirubin A wurden nach *Brockmann* und *Lenk*<sup>8</sup>

mit *Bromwasserstoffsäure*/Eisessig behandelt. Die nach Erkalten auskristallisierte Substanz wurde aus Essigester umkristallisiert. Ausb. 19 mg dunkelrote Nadeln. Schmp. 239–240° (Lit.<sup>8)</sup>: 236–237°).

$C_{22}H_{16}O_7$  (392.4) Ber. C 67.34 H 4.11 Gef. C 67.61 H 4.05

Die Substanz war nach Misch-Schmp.,  $R_F$ -Wert, UV- und IR-Spektren mit authent. **3a** identisch.

*Trennung und Säurehydrolyse der Galirubine A und B*: ca. 500 mg *Roh-Galirubin* wurden an mehreren Säulen (Kieselgel, vorbehandelt mit Borsäure, eingeschlämmt mit Chloroform/Aceton/Methanol 90:10:6.6) aufgetrennt. Nach Elution mit dem gleichen Lösungsmittelgemisch trennten sich vier Hauptzonen ab, die jeweils wieder aus 1–3 gelben und roten Teilzonen bestanden. Die gelbe sowie die rote Fraktion der langsamsten Hauptzone 4 wurden getrennt aufgefangen, zur Entfernung der mitgelösten Borsäureanteile mehrfach mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingengt. Aus den Konzentraten fielen *Galirubin B* und *Galirubin A* als orangefarbene bzw. rote, amorphe Substanzen aus. Absorptionsmaxima von *Galirubin A*: 233, 258, 290, 495 m $\mu$  (Methanol); *Galirubin B*: 230, 259, (291), 431 m $\mu$  (Methanol). Zur Untersuchung der Zucker wurden beide Verbindungen nach der für die Cinerubine angegebenen Vorschrift<sup>9)</sup> hydrolysiert und entsprechend zur Papierchromatographie aufgearbeitet. Lösungsmittelsystem: n-Butanol/Eisessig/Wasser (4:1:1). Nach Besprühen mit Anilinphthalat-Lösung wurden die Zucker als gelbe bis braune Flecke sichtbar.  $R_F$ -Werte: *Galirubin A* 0.15, 0.27, 0.45, 0.57, 0.72–0.76; *Galirubin B* 0.45, 0.57. Glucose (Vergleich) 0.18. Der Zucker mit dem  $R_F$ -Wert 0.45 wurde in allen Fällen mit Anilin/Diphenylamin/Phosphorsäure nicht angefärbt.

*7-Desoxy-aklavinon (Galirubinon D) (2)*: Die durch Säulenchromatographie und Umkristallisation aus Essigester<sup>6)</sup> gereinigte Substanz schmolz bei 224–225°.

$C_{22}H_{20}O_7$  (396.4) Ber. C 66.66 H 5.09 1 OCH<sub>3</sub> 7.83  
Gef. C 66.47 H 5.12 OCH<sub>3</sub> 7.83, 8.23

*Diacetat von 2*: 100 mg **2** wurden in 3 ccm *Pyridin* mit 3 ccm *Acetanhydrid* 24 Stdn. bei Raumtemp. belassen. Beim Eingießen in Wasser fiel das *Acetat* als hellgelber Niederschlag aus. Die abgesaugte, gewaschene und getrocknete Rohsubstanz wurde in wenig Chloroform an Kieselgel (neutral) chromatographiert. Beim Nachwaschen mit Chloroform bildeten sich vier gelbe Zonen. Der Rückstand aus den Eluaten der Hauptzone ergab aus Äthanol 40 mg blaßgelbe Nadeln. Schmp. 202–203°.

$C_{26}H_{24}O_9$  (480.5) Ber. C 64.98 H 5.03 2 CH<sub>3</sub>CO 17.9  
Gef. C 64.91 H 5.26 CH<sub>3</sub>CO 18.2\*)

\*) Abzüglich eines Blindwertes von 2.0% für 7-Desoxy-aklavinon. Ähnlich hohe Blindwerte ergeben eine Reihe von Hydroxychinonen, die bei der Acetylbestimmung ihrer Acetate mit gefunden werden. Chryszazin hatte vergleichsweise einen Blindwert von durchschnittlich 2.5%. Vgl. auch H. Brockmann und G. Budde, Chem. Ber. 86, 432 (1953).

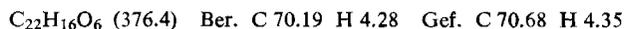
*Alkalische Verseifung von 2 zur Säure*: 100 mg **2** wurden 60 Min. auf dem siedenden Wasserbad mit 20 ccm 2 n *NaOH* erhitzt. Die klare Lösung wurde anschließend eisgekühlt, mit halbkonz. Salzsäure angesäuert, der ausgefallene Niederschlag abgesaugt, mit Wasser gewaschen und anschließend von der Fritte mit Natriumhydrogencarbonatlösung gelöst. Der erneut ausgefällte Niederschlag wurde nach Absaugen, Waschen und Trocknen aus wenig Eisessig umkristallisiert. Schmp. 209–211° (Zers.).

$C_{21}H_{18}O_7$  (382.4) Ber.\*\*) C 62.44 H 5.01 Gef. C 62.45 H 5.06

\*\*) Berechnet als Solvat mit 1 Mol Eisessig.

*Umsetzung von 2 mit Pd-Kohle und Pd-Mohr zu Bis-anhydro-aklavinon (3)*: 80 mg **2** wurden mit 100 mg *Pd-Mohr* und 160 mg *Pd-Kohle* gut vermischt und während 3 Stdn. bei 280° i.

Hochvak. sublimiert. Das Sublimat wurde in Chloroform aufgenommen, filtriert und i. Vak. zur Trockne eingengt. Aus Essigester 24 mg goldgelbe Nadeln. Schmp. 234–236°. Absorptionsmaxima: 244, 257, 263, 290, 447, 475 m $\mu$ . (Cyclohexan) und 269, 310, 515, 553, 605 m $\mu$  (konz. Schwefelsäure, rot).



*Chromatographische Trennung von Galirubinon B:* Das aus früheren Ansätzen<sup>6)</sup> gewonnene Galirubinon B wurde, in Chloroform gelöst, auf mehrere Säulen (Kieselgel, mit NaHCO<sub>3</sub> behandelt, eingeschlämmt mit Chloroform/Aceton 1 : 1; Säulenmaße 600 × 15 mm) aufgegeben. Es wurde mit dem gleichen Lösungsmittel eluiert. Nach längerer Laufzeit trennten sich je eine rote von je einer violetten Zone ab. Die sich entsprechenden Zonen wurden vereinigt und nach Waschen mit verd. Salzsäure und Wasser i. Vak. eingengt.

*Galirubinon B<sub>2</sub>:* Rote Nadeln aus dem Rückstand der violetten Zone. Die Substanz stimmte in R<sub>F</sub>-Wert, Schmp. und Absorptionsspektren im UV, sichtbaren sowie IR-Bereich mit authent.  $\eta$ -Pyrromycinon (3a) überein.

*Galirubinon B<sub>1</sub>:* Der Rückstand der roten Zonen ergab aus Essigester orangefarbene, langfaserige Nadeln mit Schmp. 236°. Die Substanz zeigte im Gemisch mit dem Umsetzungsprodukt von 2 mit Pd-Mohr und Pd-Kohle keine Schmp.-Erniedrigung und war auch nach den Spektren im UV, sichtbaren und IR-Bereich sowie papierchromatographisch mit 3 identisch.

[89/67]