

Moenomycin, IV¹⁾

Säurehydrolyse und Charakterisierung der Spaltprodukte

von *Gerhard Huber* *)

Aus den Farbwerken Hoechst, vormals Meister Lucius & Brüning, Frankfurt/Main-Hoechst
Eingegangen am 23. Februar 1967

Bei der Hydrolyse von Moenomycin mit $2n$ Salzsäure werden zwei Aminozucker und zwei Neutralzucker abgespalten. Die Aminozucker wurden als D-Glucosamin und D-Chinivosamin identifiziert, die Neutralzuckerfraktion enthält D-Glucose und einen noch nicht identifizierten Zucker Z_1 .

Vor kurzem wurde über die Isolierung, Charakterisierung und biologischen Eigenschaften von Moenomycin, einem neuen Antibioticum aus *Streptomyces bambergiensis*, berichtet^{1–3)}. Das hauptsächlich gegen Gram-positive Bakterien wirksame Antibioticum ist ein Komplex aus mehreren chemisch sehr ähnlichen Komponenten, die verschiedene Zucker, einen lipidartigen Anteil, einen UV-Chromophor und esterartig gebundenen Phosphor enthalten. Die vorliegende Mitteilung befaßt sich mit der Isolierung und Charakterisierung der durch Säurehydrolyse des Moenomyocins gebildeten Zuckerbausteine.

Als Ausgangsmaterial für die Hydrolyse diente Moenomycin-Komplex oder Moenomycin A, die nach den beschriebenen Reinigungsverfahren^{2,3)} hergestellt wurden. Bei Hydrolyse mit $2n$ Salzsäure bei 100° entsteht nach 15 Min. eine Ausfällung, die durch Extraktion mit Chloroform abgetrennt werden kann. Über die Charakterisierung dieser Lipoidfraktion wird an anderer Stelle berichtet werden⁴⁾. Nach 3 stdg. Hydrolyse bei 100° werden papierchromatographisch mehrere Silbernitrat-positive Zucker nachgewiesen, die in System A (Rundfilter) mit folgenden R_F -Werten laufen: 0.33 (N), 0.45, 0.52 (N) und 0.75. Die mit (N) bezeichneten Zucker geben positive Reaktionen mit Ninhydrin und Elson-Morgan-Reagens⁵⁾ und sind demnach als Aminozucker anzusprechen. Außerdem befindet sich in Startnähe eine breite Silbernitrat-positive Bande, die Oligosaccharide enthält.

*) Herrn Prof. Dr. *Heinrich Ruschig* zum 60. Geburtstag gewidmet.

1) III. Mitteilung: *E. v. Wasielewski, R. Muschaweck* und *E. Schütze*, Antimicrobial Agents Chemotherapy **1965**, 743 [C. A. **65**, 11 291 (1966)].

2) *K. H. Wallhäusser, G. Nesemann, P. Präve* und *A. Steigler*, Antimicrobial Agents Chemotherapy **1965**, 734 [C. A. **65**, 11 290 (1966)].

3) *G. Huber, U. Schacht, H.-L. Weidenmüller, J. Schmidt-Thomé, I. Duphorn* und *R. Tschesche*, Antimicrobial Agents Chemotherapy **1965**, 737 [C. A. **65**, 11 291 (1966)]; *F. Bauer* und *G. Dost*, ebenda **1965**, 749 [C. A. **65**, 9407 (1966)].

4) *R. Tschesche*, in Vorbereitung.

Aminozuckerfraktion

Der zeitliche Ablauf der Freisetzung der Aminozucker bei der Hydrolyse von Moenomycin mit $2n$ und $6n$ HCl bei 100° wurde durch Bestimmung des Gesamt-Hexosamins nach *Elson-Morgan*⁵⁾ verfolgt. Das Maximum ist bereits nach 3 Stdn. erreicht; nur mit $6n$ HCl erfolgt eine Abnahme durch allmähliche Zersetzung (Abb. 1). Den Versuchen wurde daher das 3-Stunden-Hydrolysat zugrunde gelegt.

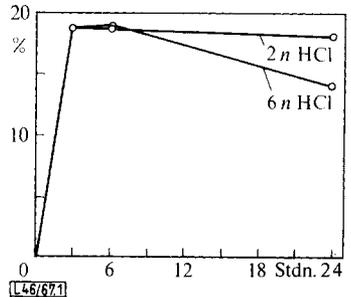


Abbildung 1

Freisetzung der Aminozucker bei der Hydrolyse von Moenomycin mit $2n$ und $6n$ HCl bei 100°
Berechnung als D-Glucosamin

Die Abtrennung der Aminozucker von den Neutralzuckern erfolgte durch Adsorption an Dowex 50 [H⁺] und Elution mit $1n$ HCl. Im Eluat wurden zwei Aminozucker nachgewiesen ($R_F = 0.36$ und 0.52 , System A), von denen der erste papierchromatographisch als D-Glucosamin identifiziert werden konnte. Zur Charakterisierung wurde versucht, die beiden Zucker chromatographisch zu trennen. Bei Fraktionierung am Kationenaustauscher⁶⁾ mit $0.33n$ HCl erhielten wir nur eine

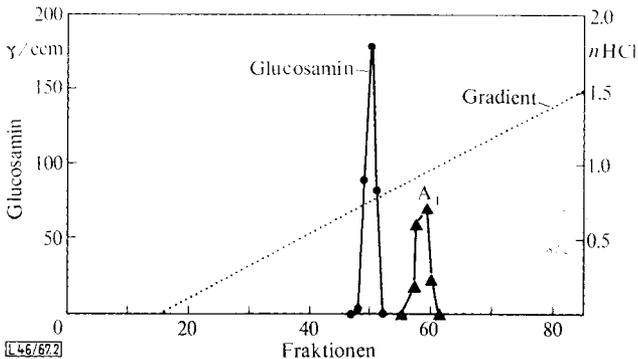


Abbildung 2. Trennung von Glucosamin und A_1 aus Moenomycin-hydrolysat an Dowex 50 [H⁺]. — Elution: Gradient aus Wasser/ $2n$ HCl. Hexosamin-Bestimmung nach *Elson-Morgan*⁵⁾

⁵⁾ L. A. Elson und W. T. J. Morgan, *Biochem. J.* **27**, 1824 (1933); C. J. M. Rondle und W. T. J. Morgan, ebenda **61**, 586 (1954).

⁶⁾ M. J. Crumpton, *Biochem. J.* **72**, 479 (1959).

unvollständige Trennung; daher arbeiteten wir an Dowex 50 [H⁺] mit einem linearen Elutionsgradienten von Wasser/2*n* HCl (Abb. 2). Aus dem ersten Peak konnte kristallines Glucosamin-hydrochlorid isoliert werden, aus dem zweiten Peak der unbekannte Aminosucker A₁, von dem eine kleine Menge kristallin erhalten wurde.

D-Glucosamin wurde durch papierchromatographischen Vergleich in verschiedenen Systemen sowie durch Analyse, optische Aktivität, Infrarotspektrum, Acetylierung zu *N*-Acetyl-D-glucosamin, Dinitrophenylverbindung und Desaminierung zu 2.5-Anhydro-mannose identifiziert.

Der Aminosucker A₁ wurde als kristallines Hydrochlorid vom Schmp. 171–172° isoliert. Die Elementaranalyse ergab eine Summenformel von C₆H₁₃NO₄·HCl, die sich von der des Glucosamin-hydrochlorids durch Fehlen eines O-Atoms unterscheidet. Der höhere R_F-Wert (0.52, System A) ließ auf einen Zucker mit geringerer Polarität schließen. Farbreaktionen auf 2- bzw. 3-Desoxy-zucker mit Perjodsäure/Thiobarbitursäure⁷⁾ und Diphenylamin (nach Dische) waren negativ, die Rimini-Reaktion (Nachweis von Acetaldehyd nach HJO₄-Spaltung, 6-Desoxy-zucker) jedoch positiv. Ninhydrin-Reaktion und Reaktion nach *Elson-Morgan*⁵⁾, die ein Absorptionsmaximum von 530 mμ ergab, wiesen auf einen 2-Amino-zucker hin.

Dische und *Shettles*⁸⁾ hatten gezeigt, daß bei der Umsetzung von Zuckern mit Cystein/H₂SO₄ charakteristische Chromophore gebildet werden, die eine Unterscheidung verschiedener Zuckertypen (Pentosen, Hexosen, Heptosen, 6-Desoxyhexosen) gestatten. Da Aminosucker keine Reaktion geben, wurde A₁ nach *Williamson* und *Zamenhof*⁹⁾ desaminiert. Bei der *Dische*-Reaktion wurden dann folgende Maxima erhalten (Vergleichssubstanzen Glucose und Rhamnose):

	Glucose	Rhamnose	Desamino- A ₁	Desamino- glucosamin
nach 82-proz. H ₂ SO ₄	316 mμ	328 mμ	329 mμ	316 mμ
nach 82-proz. H ₂ SO ₄ + Cystein	407	395	395	406

Während das Desaminierungsprodukt von aus Moenomycin isoliertem Glucosamin (2.5-Anhydro-mannose) die erwarteten Maxima der Hexosen gab, zeigte desaminiertes A₁ die für Methylpentosen (6-Desoxy-hexosen) charakteristischen Spektren. Auf Grund dieser Befunde dürfte es sich bei A₁ um eine 2-Amino-2.6-didesoxy-hexose handeln.

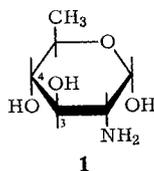
⁷⁾ L. Warren, Nature [London] **186**, 237 (1960); O. Westphal und O. Lüderitz, Angew. Chem. **72**, 881 (1960).

⁸⁾ Z. Dische und L. B. Shettles, J. biol. Chemistry **175**, 595 (1948); I. Fromme, O. Lüderitz und O. Westphal, Z. Naturforsch. **9b**, 303 (1954).

⁹⁾ A. R. Williamson und S. Zamenhof, Anal. Biochem. **5**, 47 (1963) [C. A. **59**, 11 677 (1963)].

Verbindungen dieses Typs sind in der Natur selten und wurden bisher ausschließlich aus Mikroorganismen isoliert: Pneumosamin (2-Amino-2,6-dideoxy-talose) und L-Fucosamin (2-Amino-2,6-dideoxy-L-galaktose) aus Pneumokokken¹⁰⁾, D-Fucosamin aus *Chromobacterium violaceum*¹¹⁾ sowie D-Chinivosamin (2-Amino-2,6-dideoxy-D-glucose) aus einem Gram-negativen Bakterium¹²⁾.

Die Ähnlichkeit von A₁ mit D-Chinivosamin (**1**) legte einen Vergleich mit authentischem **1** aus D-Glucosamin¹³⁾ nahe. — Die Identität des synthetischen **1**-Hydrochlorids mit dem aus Moenomycin erhaltenen Produkt wurde durch Papierchromatographie und Elektrophorese, Mischschmelzpunkt, Analyse und Infrarotspektrum gesichert. Die durch Umsetzung mit Dinitrofluorbenzol¹⁴⁾ erhaltenen Dinitrophenylverbindungen waren im Dünnschichtchromatogramm identisch.



Chinivosamin besitzt in 3,4-Stellung eine *trans*-Konfiguration und unterscheidet sich hierin von Pneumosamin und Fucosamin, die *cis*-ständige 3,4-OH-Gruppen tragen. Nach *Barker* und Mitarbeitern¹⁰⁾ ist eine Unterscheidung möglich durch Papierelektrophorese der *N*-Acetyl-aminozucker in Boratpuffer, wobei die mit Borat Komplex bildenden 3,4-*cis*-Verbindungen wesentlich schneller anodisch wandern als die entsprechenden *trans*-Verbindungen. *N*-Acetyl-A₁ wurde nach *Roseman* und *Ludowieg*¹⁵⁾ durch Umsetzung mit Acetanhydrid in Wasser bei Gegenwart von Dowex 2 [HCO₃[⊖]] dargestellt. Bei der Hochspannungselektrophorese in Boratpuffer pH 10⁶⁾ im Vergleich mit D-Glucose zeigte *N*-Acetyl-A₁ keine Wanderung relativ zu Glucose, was für eine 3,4-*trans*-Konfiguration spricht.

N-Acetyl-A₁ kristallisierte aus Aceton in Nadeln vom Schmp. 202–206° und war mit synthetisch gewonnenem *N*-Acetyl-D-chinivosamin¹³⁾ in Analyse, Mischschmelzpunkt, Papierchromatographie und Papierelektrophorese sowie im IR-Spektrum identisch.

Neutralzuckerfraktion

Die nach Abtrennung der Aminozucker erhaltene Hydrolyselösung zeigte im Papierchromatogramm Flecke von Neutralzuckern mit $R_F = 0.45$ und 0.75 (System A), daneben befand sich in Startnähe eine Silbernitrat-positive Bande, die Oligosaccharide enthält und noch näher untersucht wird.

Der Zucker vom $R_F = 0.45$ wurde papierchromatographisch und durch Phenyl-osazon nach papierchromatographisch-präparativer Isolierung als D-Glucose identi-

¹⁰⁾ S. A. Barker, J. S. Brimacombe, M. J. How und M. Stacey, Nature [London] **189**, 303 (1961).

¹¹⁾ M. J. Crumpton und D. A. L. Davies, Biochem. J. **70**, 729 (1958).

¹²⁾ E. J. Smith, Biochem. biophysic. Res. Commun. **15**, 593 (1964).

¹³⁾ Ch. J. Morel, Helv. chim. Acta **41**, 1501 (1958); R. Kuhn, W. Bister und W. Dafeldecker, Liebigs Ann. Chem. **617**, 115 (1958).

¹⁴⁾ W. A. Schroeder und J. Le Gette, J. Amer. chem. Soc. **75**, 4612 (1953).

¹⁵⁾ S. Roseman und J. Ludowieg, J. Amer. chem. Soc. **76**, 301 (1954).

fiziert. — Die Substanz vom $R_F = 0.75$ wurde Z_1 genannt und wird optimal bei 5—7stdg. Hydrolyse mit $2n$ HCl bei 100° gebildet. Z_1 konnte nach Anreicherung durch Ätherfällung mit präparativer Schichtchromatographie oder Säulenchromatographie an Aluminiumoxid mit Äthylacetat/Isopropanol/Wasser (90 : 6 : 4) chromatographisch rein isoliert werden. Das sirupöse Produkt war auch nach Acetylierung nicht zur Kristallisation zu bringen. Z_1 gibt schon bei Raumtemperatur eine starke Reaktion mit Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC), reagiert mit Silbernitrat und Perjodsäure/Benzidin, Kaliumpermanganat, Hydroxylamin/ Fe^{III} und Fehlingscher Lösung und bildet spontan ein *p*-Nitrophenylhydrazon. Die Reaktion mit Perjodsäure/Thiobarbitursäure, Anthron, Naphthoresorcin und nach Rimini sind negativ. Z_1 enthält nur C, H und O und besitzt ein UV-Maximum von $228\ m\mu$. Die Vermutung, daß es sich um einen Zuckerester handeln könnte (Reaktion mit Hydroxylamin) wird durch den Abbau mit methanolischem Ammoniak widerlegt, bei dem papierchromatographisch kein bekannter Zucker nachzuweisen war. Die Versuche zur Identifizierung¹⁶⁾ werden fortgesetzt.

Beschreibung der Versuche

Schmelzpunkte wurden im Kofler-Heiztisch-Mikroskop bestimmt und nicht korrigiert. — Die *Papierchromatographie* der Zucker wurde nach der Rundfiltermethode (in einzelnen Fällen auch absteigend) mit folgenden Lösungsmitteln durchgeführt: A) Pyridin/Butanol/Wasser (4 : 6 : 3); B) Butanol/Eisessig/Wasser (4 : 1 : 5, obere Phase); C) Butanol/Eisessig/Wasser (4 : 1 : 1); D) Pyridin/Äthylacetat/Eisessig/Wasser (5 : 5 : 1 : 4); E) Propanol/Pyridin/Eisessig/Wasser (15 : 10 : 3 : 12); F) Phenol/Wasser/konz. Ammoniak (80 : 20 : 1). Die Zucker wurden durch Sprühen mit alkalischem Silbernitrat, Aminozucker außerdem mit Ninhydrin und Elson-Morgan-Reagens sichtbar gemacht. — Die *Hochspannungselektrophorese* wurde in der Apparatur von Wieland/Pfleiderer bei 1500 V in 90 Min. mit folgenden Puffern durchgeführt: pH 1.9: Ameisensäure/Eisessig/Wasser (15 : 10 : 75) und pH 7.8: 5.9 ccm Äthylen-diamin + 6.4 ccm Eisessig, mit H_2O auf 1 l. — Die *Dünnschichtchromatographie* wurde an Kieselgel GF in der üblichen Weise aufsteigend mit den jeweils angegebenen Systemen ausgeführt. — Hexosamin wurde nach *Elson-Morgan*⁵⁾ bestimmt. Die Reaktion nach *Dische* und *Shettles*⁸⁾ wurde in der Modifikation von *Fromme*⁸⁾ durchgeführt. Die Messung erfolgte 5 Min. nach Zusatz von 82-proz. H_2SO_4 und 1.5 Stdn. nach Cystein-Zusatz.

Hydrolyse von Moenomycin: Moenomycin-Komplex bzw. *Moenomycin A* wurden mit $2n$ HCl 3 Stdn. bei 100° (bzw. 105° im geschlossenen Rohr) erhitzt und das Hydrolysat durch mehrmaliges Eindampfen i. Vak. von Salzsäure befreit. Zur Abtrennung des Lipoidanteils wurde die (offene) Hydrolyse nach 15 Min. unterbrochen, die Lösung 2mal mit 1 Tl. Chloroform extrahiert und aus dem mit $Na_2SO_4 + NaHCO_3$ getrockneten Chloroformextrakt nach Eindampfen i. Vak. das sirupöse Rohlipid (ca. 20 Gew.-%) gewonnen.

¹⁶⁾ *Anmerkung bei der Korrektur* (3. 7. 1967): Der früher³⁾ im Hydrolysat von Moenomycin-Komplex aufgefundene Meso-Inosit stammt offenbar aus einer inzwischen abgetrennten inaktiven Nebenkomponente und ist demnach nicht als Baustein des Moenomycins anzusprechen.

Aminozuckerfraktion

Abtrennung der Aminozuckerfraktion: Das 3-Stdn.-Hydrolysat aus 5 g Moenomycin-Komplex wurde nach Abdampfen der überschüssigen Salzsäure und Neutralisation mit verd. Natronlauge auf eine Säule von 100 ccm Dowex 50 (H⁺-Form, 20–50 mesh) gegeben. Die Säule wurde mit 200 ccm H₂O (Neutralzuckerfraktion) und mit 200 ccm 1*n* HCl eluiert (Aminozuckerfraktion, 1.1 g, jeweils nach Eindampfen i. Vak.). Im Papierchromatogramm (System A) waren hauptsächlich Silbernitrat- und Ninhydrin-positive Flecke vom $R_F = 0.33$ und 0.52 zu sehen. Der Aminozucker vom $R_F = 0.33$ wurde durch Vergleich mit authent. *D*-Glucosamin papierchromatographisch identifiziert, während der schneller laufende unbekannte Aminozucker mit A_1 bezeichnet wurde (Tab. 1).

Tabelle 1. Verhalten der Aminozucker bei Rundfilterchromatographie und Hochspannungselektrophorese

Aminozucker	R_F -Werte in System						kathod. Wanderung bei	
	A	B	C	D	E	F	pH 1.9	pH 7.8
Glucosamin	0.33	0.20	0.10	0.39	0.55	0.72	4.2 cm	6.0 cm
A_1	0.52	0.32	0.20	0.49	0.67	0.87	4.2	6.0

Trennung von Glucosamin und A_1 : 80 mg rohe Aminozuckerfraktion wurden in 5 ccm Wasser gelöst, nach Neutralisation auf eine Säule von Dowex 50 (H⁺-Form, 200–400 mesh, 50 × 2 cm) gegeben und mit 100 ccm H₂O durchgewaschen. Die Elution erfolgte mit einem linearen Gradienten aus je 500 ccm Wasser und 2*n* HCl. In den Fraktionen (je 10 ccm) wurde der Hexosamin-Gehalt nach Elson-Morgan bestimmt (Abb. 2). Durch Eindampfen i. Vak. wurden aus Peak I (Fraktion 48–51) 40 mg rohes *Glucosamin-hydrochlorid*, aus Peak II (Fraktion 56–62) 15 mg sirupöses A_1 -Hydrochlorid isoliert.

*Charakterisierung von *D*-Glucosamin:* Durch Umkristallisation aus Methanol/Aceton wurden 15 mg kristallin erhalten; Schmp. 190–195°. — $[\alpha]_D^{25} = +71^\circ$ ($c = 1$, H₂O) (Lit. +72.5°). — Die IR-Spektren von isoliertem und authent. *D*-Glucosamin-hydrochlorid stimmten überein.



*N-Acetyl-*D*-glucosamin.* — Aus 10 mg isoliertem *Glucosamin-hydrochlorid* mit *Acetanhydrid* in wäbr. Lösung bei Anwesenheit von Dowex 2 [HCO₃[−]]¹⁵⁾. 7 mg Kristalle vom Schmp. 203–204°. Papierchromatographisch mit authent. Material identisch; $R_F = 0.47$ (A), 0.34 (B), 0.81 (F).

*2,4-Dinitro-phenyl-*D*-glucosamin.* — Aus 5 mg isoliertem *Glucosamin-hydrochlorid* mit *Dinitrofluorbenzol* in wäbr. NaHCO₃¹⁴⁾. Das Produkt war nach Dünnschichtchromatographie mit Chloroform/Benzylalkohol/Eisessig (70:30:3) ($R_F = 0.20$) und Hochspannungselektrophorese bei pH 1.9 ($R = 0$) und 7.8 ($R = 1.5$ cm kathod.) mit authent. Material identisch.

Desaminierung: Nach Williamson und Zamenhof⁹⁾; das Produkt war nach Papierchromatographie (System A: $R_F = 0.65$) mit 2,5-Anhydro-mannose aus Glucosamin identisch.

*Charakterisierung von A_1 und Identifizierung als *D*-Chinovosamin:* Aus Peak II wurden nach Abdampfen der Salzsäure und Umlösen aus Isopropanol 2.5 mg kristallines A_1 -Hydrochlorid

gewonnen, der Rest blieb sirupös und konnte zur Chromatographie eingesetzt werden. Schmp. und Mischschmp. 171–172° (Zers.). $[\alpha]_D^{25} = +53.5^\circ$ ($c = 1$, H_2O). — Papierchromatographisch und papierelektrophoretisch (Tab. 1) mit *D-Chinivosamin* identisch. — *IR-Spektrum* (in KBr) übereinstimmend: 3340, 3060, 2940, 1990, 1623, 1601, 1517, 1452, 1428, 1408, 1384, 1320, 1250, 1170, 1130, 1120, 1100, 1058, 1015, 918, 888, 838, 762 cm^{-1} .

$C_6H_{13}NO_4 \cdot HCl$ (199.6) Ber. C 36.1 H 7.1 N 7.0 Gef. C 35.8 H 7.0 N 6.9

Dinitrophenyl-Verbindung: Wie beschrieben; nach Dünnschichtchromatographie im System Chloroform/Benzylalkohol/Eisessig (70:30:3) mit authent. Material identisch; $R_F = 0.58$.

N-Acetyl-D-chinivosamin. — Wie beschrieben; papierchromatographisch und papierelektrophoretisch mit synthetischem *N-Acetyl-D-chinivosamin*¹³⁾ identisch; $R_F = 0.70$ (A), 0.94 (B) und 0.51 (F). — Aus einem größeren Ansatz mit rohem A_1 wurde kristallines *N-Acetyl-A₁* erhalten; nach Umkristallisieren aus Aceton Nadeln vom Schmp. und Mischschmp. 202–206° (Zers.). — *IR-Spektrum* (in KBr) identisch: 3400, 2965, 2918, 2860, 1630, 1550, 1433, 1372, 1320, 1298, 1129, 1103, 1088, 976, 918, 840, 785, 769 cm^{-1} .

$C_8H_{15}NO_5$ (205.2) Ber. C 46.8 H 7.4 N 6.8 Gef. C 46.7 H 7.3 N 6.7

Neutralzuckerfraktion

Abtrennung der Neutralzucker: Die nach Abtrennung der Aminozuckerfraktion an Dowex 50 $[H^+]$ erhaltene Lösung wurde i. Vak. zu einem sirupösen Rückstand eingedampft. Papierchromatographie in System A zeigte 2 Silbernitrat-positive Flecke ($R_F = 0.45$ und 0.75) und eine Bande in Startnähe.

Identifizierung von D-Glucose: Papierchromatographisch: $R_F = 0.45$ (A), 0.21 (B), 0.14 (C), 0.45 (D), 0.61 (E). Durch präparative Papierchromatographie (System A absteigend) wurde *D-Glucose* im Mikromaßstab isoliert und aus *Phenylosazon* charakterisiert: Nach Umkristallisieren aus Pyridin/Wasser Schmp. und Mischschmp. 207–208°. Im Dünnschichtchromatogramm mit Chloroform/Methanol (80:20) lief das *Phenylosazon* mit $R_F = 0.60$.

Isolierung von Z₁: Nach 7 Stdn. Hydrolyse mit 2*n* *HCl* wurde, wie beschrieben, aufgearbeitet. Der sirupöse Rückstand der Neutralfraktion (aus 5 g Moenomycin) wurde in 20 ccm Methanol gelöst, filtriert und die Lösung mit 100 ccm Äther versetzt. Nach Abzentrifugieren der Fällung wurde die Ätherlösung i. Vak. zu einem sirupösen Rückstand eingedampft (400 mg), in dem gemäß Papierchromatogramm Z_1 stark angereichert war. — Die Feinreinigung erfolgte durch präparative Schichtchromatographie im System Äthylacetat/Isopropanol/Wasser (90:6:4). Die Zonen wurden durch UV-Löschung oder Anfärbung von Randstreifen mit Silbernitrat oder Triphenyltetrazoliumchlorid lokalisiert und mit Methanol eluiert. Aus 200 mg Roh- Z_1 wurden 85 mg Z_1 als hellgelber Sirup chromatographisch rein erhalten. Kristallisationsversuche waren ohne Erfolg. — Die Elementaranalyse ergab C (50.0%), H (7.2%). N, S und Halogen waren nicht nachzuweisen. Z_1 besitzt ein UV-Maximum bei 228 $m\mu$ ($E_{1\%}^{1\text{cm}} = 520$, H_2O) und gibt bei Raumtemperatur ein *p-Nitrophenylhydrazon*: Rote, kugelige Gebilde vom Schmp. 180–190° (Zers.). — Die Acetylierung mit Pyridin/Acetanhydrid verlief uneinheitlich und lieferte sirupöse Produkte.

[46/67]