

14. Stoffwechselprodukte von Actinomyceten.

6. Mitteilung¹⁾.

Über die Konstitution des Pikromycins. I

von R. Anliker und K. Gubler.

(I. XI. 56.)

Pikromycin ($C_{25}H_{43}O_7N$), welches einer immer wachsenden Gruppe von Antibiotica mit einem vielgliedrigen Lacton-Ring wie das Narbomycin²⁾, Methymycin³⁾, Erythromycin⁴⁾ und Carbomycin⁵⁾ angehört, wurde erstmals von H. Brockmann & W. Henkel^{6a)} aus der Kulturflüssigkeit eines Streptomyces-Stammes (*Streptomyces felleus Lindenbein*⁷⁾) isoliert⁸⁾. Trotzdem es eine hohe Wirksamkeit gegen Gram-positive Bakterien *in vitro* und *in vivo* besitzt, hat dieses Antibioticum wegen seiner nicht unbedeutenden Toxizität bis heute keinen Eingang in die Chemotherapie gefunden.

H. Brockmann und Mitarbeitern^{6c)} gelang es damals, das Pikromycin durch milde saure oder alkalische Hydrolyse in den Dimethylaminozucker Pikrocin (Desosamin) und das Anhydro-aglykon Kromycin zu spalten. Derselbe Zucker liess sich auch aus Erythromycin⁴⁾, Griseomycin⁹⁾, Methymycin³⁾ und Narbomycin²⁾ isolieren. Während

¹⁾ 5. Mitt. R. Anliker, D. Dvornik, K. Gubler, H. Heusser & V. Prelog, Helv. **39**, 1785 (1956).

²⁾ R. Corbaz, L. Ettlinger, E. Gäumann, W. Keller-Schierlein, F. Kradolfer, E. Kyburz, L. Neipp, V. Prelog, P. Reusser & H. Zähler, Helv. **38**, 935 (1955).

³⁾ a) M. M. Donin, J. Pagano, J. D. Dutcher & C. M. McKee, Antibiotic Annual 1953–54, Medical Encyclopaedia, Inc. New York, S. 179. – b) C. Djerassi, A. Bowers & H. N. Khastgir, J. Amer. chem. Soc. **78**, 1729 (1956). – c) C. Djerassi, A. Bowers, R. Hodges & B. Riniker, *ibid.* **78**, 1733 (1956). – d) C. Djerassi & J. A. Zderic, *ibid.* **78**, 2907 (1956). – e) C. Djerassi & J. A. Zderic, *ibid.*, im Druck.

⁴⁾ Vgl. P. F. Wiley, K. Gerzon, E. H. Flynn, M. V. Sigal, jr., U. C. Quarck & O. Weaver, J. Amer. chem. Soc. **77**, 3677 (1955), und frühere Mitt.

⁵⁾ P. P. Regna, F. A. Hochstein, R. C. Wagner & R. B. Woodward, J. Amer. chem. Soc. **75**, 4625 (1953); F. A. Hochstein & K. Murai, *ibid.* **76**, 5080 (1954); F. A. Hochstein & P. P. Regna, *ibid.* **77**, 3353 (1955).

⁶⁾ a) H. Brockmann & W. Henkel, Naturwissenschaften **37**, 138 (1950). – b) H. Brockmann & W. Henkel, Chem. Ber. **84**, 284 (1951). – c) H. Brockmann, H. Genth & R. Strufe, *ibid.* **85**, 426 (1952). – d) H. Brockmann & R. Strufe, *ibid.* **86**, 876 (1953). – e) H. Brockmann, H. B. König & R. Oster, *ibid.* **87**, 856 (1954). – f) H. Brockmann & R. Oster, Naturwissenschaften **42**, 155 (1955).

⁷⁾ W. Lindenbein, Arch. Mikrobiol. **17**, 361 (1952).

⁸⁾ Zahlreiche andere Arten sind ebenfalls in der Lage, diese Verbindung aufzubauen; vgl. dazu L. Ettlinger & H. Zähler, Schweiz. Zeitschr. allgem. Pathologie Bakteriologie **19**, 103 (1956).

⁹⁾ Privatmitteilung von Dr. P. Van Dijck, Leuven, an Prof. Dr. V. Prelog; vgl. dazu Fussnote ²⁾ und P. J. Van Dijck, H. P. Van de Voorde & P. De Somer, Antibiotics and Chemotherapy **3**, 1243 (1953).

die Struktur des Desosamins von *Brockmann* und Mitarbeitern^{6a)} und von *Clark*¹⁰⁾ endgültig aufgeklärt werden konnte, führten zahlreiche Abbau- und Umwandlungsversuche der erstgenannten Forscher zu einer arbeitshypothetischen Formel des Kromycins⁶¹⁾, die aber mit der Bildung des von uns¹⁾ isolierten Carboxy-lactons II¹¹⁾ bei der Oxydation von Pikromycin mit Kaliumpermanganat im Widerspruch steht.

Im Folgenden beschreiben wir Versuche, die es erlauben, für Pikromycin, dessen empirische Formel $C_{25}H_{43}O_7N$ von *Brockmann* und Mitarbeitern^{6b)} festgelegt wurde, die Konstitution I bzw. Ia vorzuschlagen. Im Gegensatz zu den Ergebnissen der erwähnten Autoren, welche 5 C-Methyl-Gruppen nach *Kuhn-Roth* nachgewiesen haben, weist unsere Bestimmung eher auf die Anwesenheit von 6 C-Methyl-Gruppen hin, wovon eine dem Dimethylaminozucker angehört. Da *Brockmann* und Mitarbeiter im Säuregemisch neben Essigsäure auch Propionsäure nachweisen konnten, muss mindestens eine C-Methyl-Gruppe an einem sekundären C-Atom stehen. Die Lage und die Höhe des Absorptionsmaximums im UV. (λ_{\max} 225 m μ , $\log \epsilon = 3,98$) spricht für die Anwesenheit eines β -monosubstituierten α, β -ungesättigten Ketons¹²⁾, in dem sich die Doppelbindung mit Wasserstoff in Gegenwart eines Palladium-Kohle-Katalysators leicht absättigen lässt. Im IR.-Absorptionsspektrum¹³⁾ (Fig. 1) treten die für α, β -ungesättigte Ketone charakteristischen Banden bei 1699 cm^{-1} und 1639 cm^{-1} auf. Die ausgeprägte Bande bei 1747 cm^{-1} rührt von einer Lacton-Gruppierung her. Weiter trägt das Pikromycin zwei Hydroxyl-Gruppen (Bande bei 3520 cm^{-1}) von welchen eine dem Zucker-Rest angehört, während die andere im Aglykon tertiär gebunden ist⁶⁾.

Durch schwach saure Hydrolyse des Pikromycins¹⁴⁾ in der Hitze wird, wie oben gesagt, der Zucker-Rest abgespalten unter Entstehung einer Verbindung, die *Brockmann* und Mitarbeiter^{6a)} Kromycin nannten. Die C-Methyl-Bestimmung nach *Kuhn-Roth* wies auf die Anwesenheit von 5 C-Methyl-Gruppen hin. Es gelang uns nicht, auch von sehr reinen und sorgfältig getrockneten Präparaten gute Verbrennungswerte zu erhalten. Diese stimmen besser auf $C_{16}H_{24}O_4$, eine Feststellung, die schon *Brockmann* und Mitarbeiter^{6c)} machten und die diese

¹⁰⁾ *R. K. Clark, jr.*, *Antibiotics and Chemotherapy* **3**, 663 (1953).

¹¹⁾ Dasselbe Bruchstück konnte gleichzeitig in unserem Laboratorium durch Oxydation mit Kaliumpermanganat auch aus Narbomyein¹⁾ und später von *Djerassi* und Mitarbeitern^{3d)} aus Methymycin gewonnen werden.

¹²⁾ *R. B. Woodward*, *J. Amer. chem. Soc.* **63**, 1123 (1941); *ibid.*, **64**, 76 (1942).

¹³⁾ Herrn Prof. Dr. *H. H. Günthard* danken wir für die Diskussion der Spektren. Sie wurden von Frl. *E. Äberli* mit einem *Perkin-Elmer* double-beam Spectrograph aufgenommen.

¹⁴⁾ Zum besseren Verständnis der Diskussion, der wir die von uns vorgeschlagene Formel I bzw. Ia von Pikromycin zugrunde legen, wurden die C-Atome des Ringgerüsts von 1 bis 11 nummeriert.

Autoren daher vermuten liess, dass die Spaltung zum Kromycin unter Verlust einer CH_2 -Gruppe vor sich gehe. Die Analysenwerte unserer hydrierten Derivate von Kromycin lassen aber keinen Zweifel zu, dass diese Verbindung die Zusammensetzung $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_4$ hat. Das Maximum im UV.-Spektrum dieser Verbindung V bzw. Va erfuhr nur eine unwesentliche bathochrome Verschiebung nach $226,5 \mu$ während aber die Intensität ($\log \epsilon = 4,22$) sehr hoch ist. Im IR.-Absorptionsspektrum zeigen sich Banden bei $3510, 1730, 1680$ und 1645 cm^{-1} , die sich

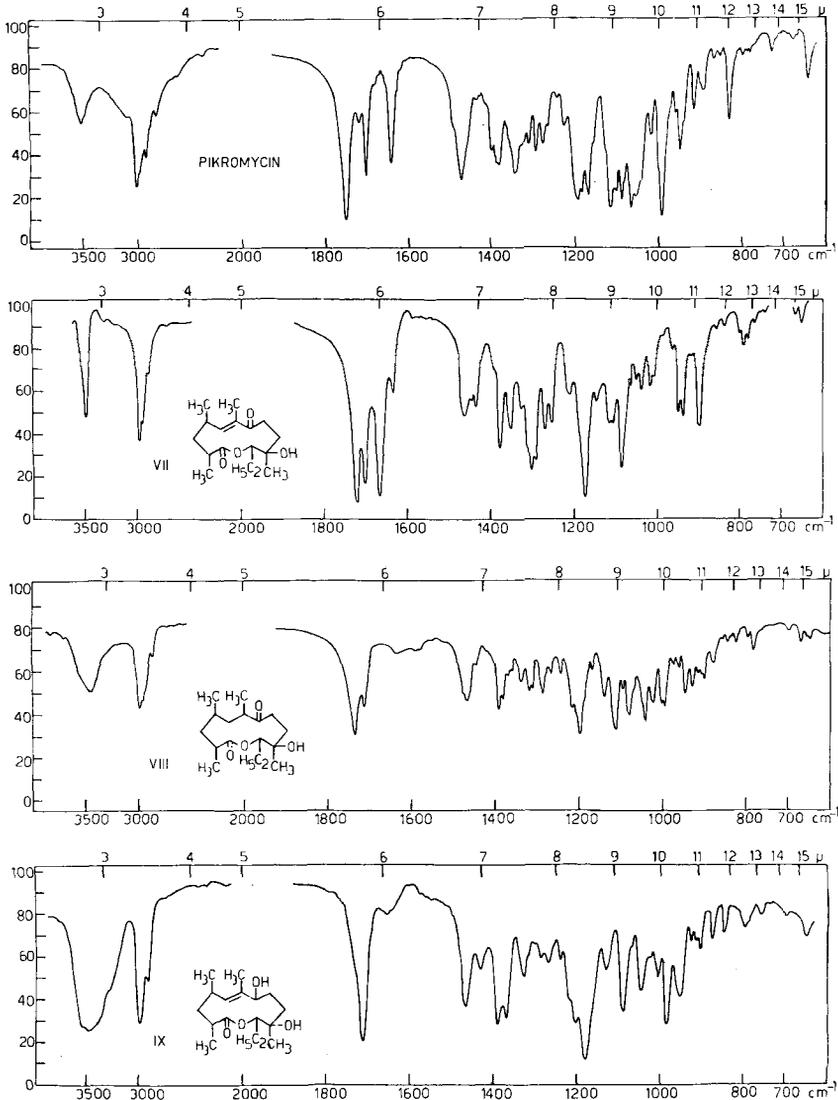


Fig. 1.

dieser Verbindung lieferte ein neues, stickstoffreies Spaltstück mit der Bruttoformel $C_{17}H_{28}O_4$, welches wir Dihydro-kromycin (VII) nannten. Die Verbindung weist im UV. ein Maximum bei $233\text{ m}\mu$, $\log \epsilon = 3,95$ auf. Die bathochrome Verschiebung um $8\text{ m}\mu$ gegenüber Pikromycin lässt sich mit dem Auftreten eines zusätzlichen α -Substituenten erklären. Dass sich die Doppelbindung in Konjugation zur ursprünglichen Ketogruppe befindet, konnte durch die Überführung der Verbindung mit Natriumborhydrid in den im UV. nicht absorbierenden, kristallinen Allylalkohol $C_{17}H_{30}O_4$ (IX) bewiesen werden. Im IR.-Absorptionsspektrum (Fig. 1) des Allylalkohols IX tritt neben einer breiten Hydroxylbande bei 3450 cm^{-1} die Lactonbande bei 1710 cm^{-1} auf. Die ungewöhnliche Verschiebung dieser Bande nach kleineren Wellenzahlen hat wahrscheinlich ihren Grund in inter- und intramolekularen Wasserstoffbrücken, wie ein Spektrum einer stark verdünnten Lösung zeigt. In diesem erfährt die Bande wohl eine Verschiebung auf 1718 cm^{-1} , liegt aber infolge noch bestehender intramolekularer Wasserstoffbrücken immer noch zu tief.

Das IR.-Spektrum (Fig. 1) des Dihydro-kromycins (VII) weist neben dem für α, β -ungesättigte Ketone typischen Doublett bei 1666 und 1635 cm^{-1} und der Lactonbande bei 1723 cm^{-1} eine Bande bei 1701 cm^{-1} auf. Der Grund des Auftretens dieser Bande ist noch unklar. Er könnte in bestehenden Wasserstoffbrücken liegen. Weniger wahrscheinlich scheint uns die Annahme, dass ein Gleichgewichtsgemisch der beiden α, β - und β, γ -ungesättigten Keton-Isomeren vorliegt^{14a}).

Die katalytische Hydrierung von Kromycin und von Dihydrokromycin (VI) mit Palladium-Kohle-Katalysator führte unter Aufnahme von 2 Molen bzw. 1 Mol Wasserstoff in beiden Fällen zum einheitlichen Tetrahydro-kromycin (VIII) vom Smp. $138-140^\circ$. Diese Verbindung VIII zeigt im UV.-Absorptionsspektrum nur noch die für gesättigte Ketone typische breite Bande bei $292\text{ m}\mu$, $\log \epsilon = 1,65$. Die Banden der Sauerstofffunktionen im IR.-Spektrum (Fig. 1) lagen bei 3450 , 1732 und 1711 cm^{-1} und sind in dieser Reihenfolge dem tertiären Hydroxyl, der Lacton-Gruppe und dem gesättigten Keton zuzuordnen.

Das von uns bei der Oxydation des Pikromycins mit Kaliumpermanganat isolierte Carboxylacton II¹) entstammt offenbar den C-Atomen 1 bis 7. Somit bestehen für die Haftstelle der Sauerstofffunktion nur noch zwei Möglichkeiten, nämlich C-3 und C-5. Da sich die bei der Hydrolyse des Dihydro-pikromycins (VI bzw. VIa) entstehende Doppelbindung im Dihydro-kromycin (VII) allem Anschein nach in Konjugation zum C-7-Carbonyl befindet, könnte man anneh-

^{14a}) Ein Beispiel einer solchen Isomerie stellt das durch säurekatalysierte Cyclisation von Nonandion-(2,8) erhaltene 1-Acetyl-2-methylcyclohexen dar. Vgl. dazu R. B. Turner & D. M. Voile, J. Amer. chem. Soc. **73**, 1403 (1951).

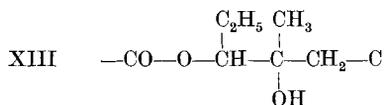
men, dass Desosamin über eine Sauerstoffbrücke an C-5 gebunden ist¹⁵). Die sehr leichte Abspaltung des Desosamin-Restes spricht ebenfalls für die β -Stellung zur Carbonyl-Gruppe.

Wenn dies zutrifft, muss man aber auf Grund der Bildung eines identischen Carboxy-lactons II aus Pikromycin und Methymycin annehmen, dass diese beiden Verbindungen im fraglichen Teil der Molekel spiegelbildlich aufgebaut sind. Eine andere Möglichkeit, die gefundenen Tatsachen zu interpretieren, besteht darin, dass man den Desosamin-Rest am C-Atom 3 lokalisiert. In diesem Falle hätte das Pikromycin dieselbe Struktur (Ia) wie das von *Djerassi* und Mitarbeitern³) kürzlich aufgeklärte Methymycin. Die Bildung des Dihydro-kromycins (VII) müsste dabei mit einer 1,3-Hydrid-Verschiebung erklärt werden. Die teilweise beträchtlichen Unterschiede in den Reaktionen der beiden Antibiotica und besonders ihr auffallend verschiedenes Verhalten bei der Hydrolyse wären dann auf verschiedene Stereochemie zurückzuführen.

Dem Kromycin könnte demnach die Konstitution V oder Va zukommen. Das UV.-Absorptionsspektrum des Kromycins erlaubt keine eindeutige Entscheidung für eine dieser Formeln, da wir nicht genau wissen, inwieweit die sterischen Verhältnisse in einem 12-Ring die Lage und die Intensität der UV.-Absorptionsbanden von mehrfach ungesättigten Verbindungen beeinflussen. Die Untersuchungen zur endgültigen Abklärung der Frage der Haftstelle des Desosamin-Restes im Prikomycin sind in unserem Laboratorium im Gange.

Das gesättigte Tetrahydro-kromycin (VIII) schien uns die geeignete Verbindung für die Festlegung der Art und Lage des freien Hydroxyls zu sein. Es zeigte sich gegenüber Chrom(VI)-oxyd-Pyridin-Komplex wie auch Acetanhydrid und Pyridin als beständig und wurde mit Lithiumaluminiumhydrid zu einer amorphen Tetrahydroxy-Verbindung X reduziert, deren IR.-Absorptionsspektrum keine Carbonyl- oder Ester-Banden mehr erkennen liess. Aus dem Reaktionsgemisch der Umsetzung der letzteren Verbindung mit Natriumperjodat isolierten wir Propionaldehyd, der in Form seines 2,4-Dinitrophenylhydrazons näher charakterisiert wurde. Der Jodlauge-Abbau des andern Spaltstückes lieferte in guter Ausbeute Jodoform.

Diese Informationen lassen die Formulierung eines weiteren Teilstückes XIII des Grundgerüsts von Tetrahydrokromycin zu, dessen



¹⁵) Die Möglichkeit, dass das Desosamin an C-10 glykosidisch gebunden ist, darf nicht ganz ausser Acht gelassen werden. Wir erachten sie aber als wenig wahrscheinlich, speziell da sich im Pikromycin auch unter energischen Bedingungen nur ein Hydroxyl (dasjenige des Desosamins) acetylieren lässt^{6c}).

Konstitution schon von *Brockmann* und Mitarbeitern¹⁶⁾ auf einem andern Wege ermittelt wurde. Dass das freie, spaltbare α -Glykol erst bei der reduktiven oder auch hydrolytischen Spaltung gebildet wird, geht aus dem negativ verlaufenen Versuch der Umsetzung von Tetrahydro-kromycin (VIII) mit Natriumperjodat hervor. Da das freie Hydroxyl in der Verbindung VIII unter den angewandten Bedingungen weder oxydierbar noch veresterbar ist und bei der Spaltung des freien α -Glykols nachgewiesenermassen in ein Methylketon übergeht, muss es tertiär gebunden sein.

In analoger Weise gelang es, aus den sauren Anteilen der alkalischen Hydrolyse des Tetrahydro-kromycins (VIII) Propionaldehyd abzuspalten. Dazu ist zu bemerken, dass Kromycin (V bzw. Va), Dihydro-kromycin (VII), speziell aber Tetrahydro-kromycin (VIII) relativ schwer verseifbar sind¹⁷⁾. An Modellen des Tetrahydro-kromycins mit verschiedenen möglichen Konstellationen lässt sich denn auch eine starke Hinderung des Carbonyls der Lacton-Gruppe erkennen.

Die Ozonisierung des Dihydro-kromycins (VII) und die weitere Umsetzung des gespaltenen Ozonids mit Perjodat, Natronlauge und erneut mit Perjodat führte zur Erfassung von 15 der 17 C-Atome des ungesättigten 12-Ring-Lactons VII in Form von meso- α, α' -Dimethylglutarsäure (Ring-C-Atome 1 bis 5 + 2 Methyl-Gruppen), Propionaldehyd¹⁸⁾ (Ring-C-Atom 11 + 1 Äthyl-Gruppe) und Lävulinsäure¹⁸⁾ (Ring-C-Atome 7 bis 10 + 1 Methyl-Gruppe). Die Entstehung der meso- α, α' -Dimethylglutarsäure ist ein weiterer Beweis der 5,6-Stellung der Doppelbindung im Dihydro-kromycin (VII), während sich die relative Lage des tertiären Hydroxyls (C-10) zum Carbonyl an C-7 auf Grund der Bildung der Lävulinsäure ableiten lässt. Da aber dieses Hydroxyl (C-10) in α -Stellung zur veresterten Hydroxyl-Gruppe (C-11) steht und die Ester-Gruppe ihrerseits über 5 C-Atome (C-2 bis C-6) direkt mit dem Carbonyl (C-7) verbunden ist, muss es sich beim Grundgerüst der Verbindungen I, V, VI, VII, VIII und IX um einen internen Ester, d. h. um ein 12-Ring-Lacton handeln. Auf Grund der beschriebenen chemischen, spektroskopischen und analytischen Daten kommt deshalb dem Pikromycin die Konstitution I bzw. Ia zu.

Wir danken Herrn Prof. V. *Prelog* für die anregenden Diskussionen und die Durchsicht des Manuskripts, den Herren Dr. L. *Ettlinger* und Dr. H. *Zähler*, Institut für spezielle Botanik der ETH., Zürich, Dr. P. *Reusser* und Dr. A. *Stalder*, CIBA Aktiengesellschaft in Basel, für die mikrobiologische Bereitung von Pikromycin, sowie der obgenannten Firma für die Unterstützung dieser Arbeit.

¹⁶⁾ Ein Hinweis auf das Vorliegen einer solchen Gruppierung wurde bereits von *Brockmann* und Mitarbeitern⁶⁾¹⁾ gegeben, indem sie aus dem Ozonisierungsgemisch von Kromycin und von dessen Lithiumaluminiumhydrid-Reduktionsprodukt Pentandion-(2,3) isolieren konnten.

¹⁷⁾ Vgl. experimenteller Teil. Bei längerer Einwirkung von Alkali erfahren diese Verbindungen tiefgreifende Veränderungen. Über Untersuchungen in dieser Richtung wird in einer späteren Mitteilung berichtet.

¹⁸⁾ In Form des 2,4-Dinitrophenylhydrazons identifiziert.

Experimenteller Teil¹⁹⁾.

Isolierung des Pikromycins (I). Das Antibioticum wurde in verschiedenen Ansätzen aus Kulturlösungen der Actinomycetenstämme ETH. Nr. 7058, 8072, 7293 und 7280 isoliert²⁰⁾. So wurden z. B. 70 l Kulturfiltrat des Stammes ETH. Nr. 7280 je dreimal mit 5 l 0,5-n. Essigsäure extrahiert. Dem mit gesättigter Soda-Lösung alkalisch gemachten Extrakt entzog man die Basen mit drei Portionen zu 2 l Essigester. Aus dem Essigsäure-Extrakt der Essigester-Lösung liessen sich die Basen nach Zufügen eines Überschusses von ges. Sodalösung mit Essigester isolieren. Der Rückstand (5,8 g) konnte aus Äther kristallisiert werden: 2,5 g Nadeln vom Smp. 160—162°. Zur Analyse wurde eine Probe aus Essigester noch viermal umkristallisiert. Smp. 169,5—170°. $[\alpha]_D^{20} = -33,5^{\circ}$ (c = 2,071 in Chloroform).

$C_{25}H_{43}O_7N$	Ber. C 63,94	H 9,23	O 23,85	N 2,98	$CH_3(C)$ 3,20%
	Gef. ,, 64,09	„ 8,93	„ 24,55	„ 2,69	„ 17,17%

Das in Feinsprit aufgenommene UV.-Absorptionsspektrum wies ein Maximum bei 225 m μ , log $\epsilon = 3,97$ auf.

IR.-Absorptionsspektrum (in KBr, Fig. 1): Banden bei 3520 cm⁻¹ (C—OH), 1747 cm⁻¹ (Lacton) und 1699, 1639 cm⁻¹ (α , β -ungesättigtes Keton).

Kromycin (V bzw. Va). Eine Lösung von 1 g Pikromycin in 30 cm³ 1-n. Salzsäure wurde mit 0,1-n. Natronlauge auf pH 6,5 eingestellt und anschliessend 4 Std. unter Rückfluss gekocht, wobei sich aus der abgekühlten Lösung Kristalle abschieden. Das durch Extraktion mit Äther gewonnene Rohprodukt (455 mg) liess sich aus Methanol-Wasser kristallisieren. Zweimaliges Umlösen ergab 84 mg reine Verbindung vom Smp. 168—170°. Eine Probe wurde nochmals umkristallisiert und 3 Tage bei 70° und 0,001 Torr getrocknet. $[\alpha]_D^{20} = -23,3^{\circ}$ (c = 1,744 in Chloroform).

$C_{17}H_{26}O_4$	Ber. C 69,36	H 8,90	$CH_3(C)$ 5,11%
	Gef. ,, 68,67	„ 8,53	„ 21,31%

In Feinsprit-Lösung weist dieses Präparat im UV.-Absorptionsspektrum ein Maximum bei 226,5 m μ , log $\epsilon = 4,22$ auf.

IR.-Absorptionsspektrum (in KBr): Banden bei 3510 cm⁻¹ (C—OH), 1730 cm⁻¹ (Lacton) und 1680, 1645 cm⁻¹ (>C=CH—CO—CH=CH—).

Dihydro-pikromycin (VI bzw. VIa). Eine Lösung von 20 g Pikromycin in 550 cm³ Feinsprit wurde zu einer Suspension von 2 g vorhydriertem 10-proz. Palladium-Kohle-Katalysator in 20 cm³ Feinsprit gegeben. Innerhalb von 15 Min. wurde ein Äquivalent Wasserstoff verbraucht, worauf die Hydrierung zum Stillstand kam. Aus der vom Katalysator befreiten Lösung liessen sich 19,1 g eines amorphen Produktes isolieren, welches nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte. In dem in Feinsprit aufgenommenen UV.-Absorptionsspektrum zeigte sich keine charakteristische Absorption.

Spaltung von Dihydro-pikromycin (VI bzw. VIa) zu Dihydro-kromycin (VII). Eine Lösung von 19,9 g Dihydro-pikromycin in 420 cm³ 1-n. Salzsäure wurde nach Einstellung auf pH 6,4 mit 0,1-n. Natronlauge 3 1/2 Std. unter Rückfluss gekocht. Aus der kalten Reaktionslösung schied sich neben öligem Produkt Kristalle ab. Mit Äther liess sich 2,55 g öliges Material extrahieren, aus dem durch Kristallisation aus Äther-Hexan 525 mg reines Dihydro-kromycin vom Smp. 147—150° gewonnen wurde.

Die wässrige Schicht wurde wiederum auf pH 6,4 eingestellt und wie oben beschrieben behandelt. Durch viermaliges Wiederholen dieser Operation konnten noch insgesamt 1,882 g reine Verbindung VII isoliert werden. Zur Analyse gelangte eine noch dreimal aus Isopropyläther umkristallisierte Probe. Prismen vom Smp. 153—154°. $[\alpha]_D^{20} = +2,2^{\circ}$ (c = 1,968 in Chloroform).

$C_{17}H_{26}O_4$	Ber. C 68,56	H 9,51%	Gef. C 68,89	H 9,52%
-------------------	--------------	---------	--------------	---------

In Feinsprit-Lösung weist dieses Präparat ein Absorptionsmaximum bei 233 m μ , log $\epsilon = 3,95$ auf.

¹⁹⁾ Alle Smp. sind korrigiert.

²⁰⁾ Wir danken Herrn Dr. W. Keller-Schierlein für die Überlassung der Vorschriften für die Isolierung des Pikromycins.

IR.-Absorptionsspektrum (in KBr, Fig. 1): Banden bei 3490 cm^{-1} (C—OH), 1721 cm^{-1} (Lacton), 1701 cm^{-1} und 1666, 1635 cm^{-1} (α , β -ungesättigtes Keton).

Tetrahydro-kromycyn (VIII) aus Dihydro-kromycyn (VII). 1,20 g Dihydro-kromycyn löste man in 40 cm^3 Feinsprit und hydrierte in Gegenwart von 120 mg vorhydriertem 10-proz. Palladium-Kohle-Katalysator. Die Hydrierung war nach 3 $\frac{1}{2}$ Std. unter Aufnahme von 98 cm^3 (0,99 Äquivalent) beendet. Aus dem amorphen Reduktionsprodukt (1,165 g) liessen sich durch wiederholtes Kristallisieren aus Methanol-Wasser 531 mg Tetrahydro-kromycyn (VIII) in Form von feinen Nadeln, Smp. 132—136°, gewinnen. Ein zur Analyse zweimal umkristallisiertes Präparat schmolz bei 138—140°. $[\alpha]_D^{20} = +76^{\circ}$ ($c = 2,022$ in Chloroform).

$\text{C}_{17}\text{H}_{30}\text{O}_4$ Ber. C 68,42 H 10,13% Gef. C 68,45 H 10,15%

Im UV.-Absorptionsspektrum dieser Verbindung liess sich nur noch eine breite Bande bei 292 $m\mu$, $\log \epsilon = 1,65$ erkennen.

IR.-Absorptionsspektrum (in KBr, Fig. 1): Banden bei 3450 cm^{-1} (C—OH), 1732 cm^{-1} (Lacton) und 1711 cm^{-1} (Keton).

Tetrahydro-kromycyn (VIII) aus Kromycyn (V bzw. Va). Eine Lösung von 500 mg Kromycyn in 15 cm^3 Feinsprit wurde zu 50 mg 10-proz. vorhydriertem Palladium-Kohle-Katalysator in 2 cm^3 Feinsprit gegeben. Innerhalb von 15 Min. wurden 70 cm^3 (1,65 Äquivalent) Wasserstoff verbraucht. Die Hydrierung kam damit zum Stillstand. Das in üblicher Weise isolierte Reduktionsprodukt kristallisierte in sehr feinen Nadeln aus Methanol-Wasser (359 mg vom Smp. 137—139°). Diese Verbindung erwies sich auf Grund des Misch-Smp., der IR.-Absorptionsspektren und der optischen Drehung mit dem Tetrahydro-kromycyn (VIII) aus Dihydro-kromycyn (VII) als identisch. Eine zur Analyse umkristallisierte Probe schmolz bei 138—140°.

$\text{C}_{17}\text{H}_{30}\text{O}_4$ Ber. C 68,42 H 10,13% Gef. C 68,79 H 9,83%

Tetrahydro-kromycyn blieb bei 12-stündiger Einwirkung von Acetanhydrid und Pyridin bei 20° unverändert. Nach Umsetzung derselben Verbindung mit Chromtrioxyd-Pyridin-Komplex konnte nur reines Ausgangsmaterial isoliert werden.

Reduktion von Dihydro-kromycyn (VII) mit Natriumborhydrid zu IX. Einer Lösung von 100 mg Dihydro-kromycyn (VII) in 5 cm^3 Dioxan-Wasser (1:1) fügte man 45 mg in 1 cm^3 Wasser gelöstes Natriumborhydrid zu. Die Lösung wurde 14 Std. bei Zimmertemperatur stengelassen, anschliessend mit verd. Schwefelsäure angesäuert und mit Äther extrahiert. Die organische Schicht hinterliess nach dem Eindampfen 98 mg eines zähflüssigen Öls, welches aus Aceton-Hexan in Drusen kristallisierte. Das stark hygroskopische Präparat wurde zur Analyse noch fünfmal aus Aceton-Hexan umgelöst, über P_2O_5 getrocknet und direkt verbrannt. Smp. 139—140°. $[\alpha]_D = +56,7^{\circ}$ ($c = 0,968$ in Chloroform).

$\text{C}_{17}\text{H}_{30}\text{O}_4$ Ber. C 68,43 H 10,13% Gef. C 68,24 H 10,21%

In Feinsprit gelöst zeigt die Verbindung kein charakteristisches Maximum im UV.

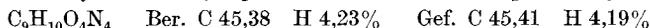
IR.-Absorptionsspektrum (in KBr, Fig. 1): Banden bei 3450 cm^{-1} (C—OH) und 1710 cm^{-1} (Lacton); (in Tetrachlorkohlenstoff): Banden bei 3520 cm^{-1} (C—OH) und bei 1718 cm^{-1} (Lacton). Es liegt die zu Tetrahydrokromycyn (VIII) isomere Verbindung IX vor.

Abspaltung von Propionaldehyd aus dem Lithiumaluminiumhydrid-Reduktionsprodukt (X) von Tetrahydro-kromycyn (VIII). 100 mg Tetrahydro-kromycyn in 25 cm^3 absolutem Tetrahydro-furan wurden zusammen mit 200 mg Lithiumaluminiumhydrid 14 Std. unter Rückfluss gekocht. Zum kalten Reaktionsprodukt wurden 5 cm^3 einer ges. Natriumsulfat-Lösung zuge tropft. Die von den ausgefallenen Salzen abfiltrierte Lösung wurde im Vakuum eingedampft. Das amorphe Produkt (98 mg) liess sich nicht zur Kristallisation bringen. Es wurde in 28,5 cm^3 Dioxan²¹⁾ gelöst und mit 80 mg Natrium-metaperjodat in 2 cm^3 Wasser versetzt. Durch die Reaktionslösung liess

²¹⁾ Das Dioxan wurde zusammen mit 2 Vol.-Proz. 4-n. Schwefelsäure und 1 Gew.-Proz. 2,4-Dinitrophenylhydrazin gekocht und destilliert, mit Calciumchlorid geschüttelt und schliesslich sorgfältig fraktioniert.

man Stickstoff strömen und leitete den Gasstrom durch ein in eine 0,2-proz. Lösung von 2,4-Dinitro-phenylhydrazin in 2-n. Salzsäure tauchendes Glasrohr. Nach ca. 2½ Std. begannen sich gelb-orange Kristalle abzusecheiden. Nach weiteren 18 Std. wurde der Niederschlag (29 mg) abfiltriert und mit viel Wasser gewaschen. Die Titration des übersässigen Perjodates in der Reaktionslösung mit 0,01-n. arseniger Säure ergab einen Verbrauch von 0,532 Mol Perjodat pro Mol Substanz.

Das gebildete 2,4-Dinitrophenylhydrazon schmolz nach dreimaligem Umkristallisieren bei 151—152° und erwies sich auf Grund des IR.-Absorptionsspektrums, des Misch-Smp. und der Analyse mit demjenigen von authentischem Propionaldehyd als identisch.



Die Reaktionslösung wurde bei Zimmertemperatur im Vakuum weitgehend eingengt und nach Zusatz von Wasser mit Äther extrahiert. Den Rückstand der ätherischen Schicht nahm man in 2 cm³ Dioxan auf und fügte 2 cm³ 2-n. Natronlauge zu. Unter gutem Umschütteln wurde bis zur bleibenden Braunfärbung tropfenweise eine Jodlösung²²⁾ zugegeben. Schon nach wenigen Min. begann sich Jodoform abzusecheiden. Das im Hochvakuum sublimierte Präparat (21 mg) erwies sich mit authentischem Jodoform in jeder Beziehung als identisch.

Abspaltung von Propionaldehyd aus dem Hydrolysat des Tetrahydro-kromycins (VIII). Aus 100 mg Tetrahydro-kromycin konnte durch Umsetzung mit Natriumperjodat auch bei einer Einwirkungsdauer von 24 Std. kein Propionaldehyd abgespalten werden.

554 mg Tetrahydro-kromycin wurden in 25 cm³ 5-proz. methanolischer Kalilauge (10% Wasser) 1 Std. in Stickstoffatmosphäre unter Rückfluss gekocht. Das Reaktionsprodukt wurde mit Wasser verdünnt und mit Äther extrahiert. In üblicher Weise liessen sich 422 mg neutrale Anteile, welche zur Hauptsache aus unverändertem Ausgangsmaterial bestanden, und 72 mg Säuren isolieren, die nicht kristallisierten.

54 mg des sauren Anteils löste man in 5 cm³ 0,1-n. Natronlauge, stellte mit 0,1-n. Schwefelsäure auf pH 6,8 ein, fügte 40 mg Natrium-metaperjodat in 1 cm³ Wasser gelöst hinzu und leitete wie oben beschrieben Stickstoff durch die Reaktionslösung. Im Auffanggefäss bildete sich nach 1½ Std. ein gelb-oranger Niederschlag, der nach weiteren 10 Std. abfiltriert wurde. Das so gewonnene Derivat (14 mg) schmolz nach dreimaligem Umkristallisieren bei 150—151° und erwies sich mit dem 2,4-Dinitrophenylhydrazon des Propionaldehyds in jeder Beziehung als identisch.

Die Verseifung von Kromycin (V bzw. Va), Dihydro-kromycin (VII) und Tetrahydro-kromycin (VIII). Je 20 mg der Verbindungen V (bzw. Va), VII und VIII wurden in 2 cm³ 0,1-n. methanolischer Kalilauge (20% Wasser) 3 Std. gekocht. Die potentiometrische Rücktitration des unverbrauchten Alkali mit 0,1-n. Salzsäure ergab folgende Werte (% hydrolysiertes Lacton): Dihydrokromycin: 100%; Kromycin: 77,2%; Tetrahydro-kromycin: 20,1%.

Nachweis von meso- α, α' -Dimethylglutarsäure, Propionaldehyd und Lävulinsäure als Spaltstücke von Dihydro-kromycin (VII). Durch eine Lösung von 361 mg Dihydro-kromycin (VII) in 20 cm³ Methylenchlorid leitete man bei -70° ein 2-proz. Ozon-Sauerstoff-Gemisch bis zur Blaufärbung der Lösung. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels im Vakuum wurde das Ozonid durch 1½stündiges Kochen in 40 cm³ Dioxan-Wasser (1:1) unter Durchleiten von Luft zersetzt. Die kalte Lösung liess man 30 Min. zusammen mit 0,2 cm³ 30-proz. Wasserstoffperoxyd-Lösung stehen und dampfte sie anschliessend bei Zimmertemperatur im Vakuum zur Trockene ein. Der Rückstand wurde in 20 cm³ reinem Dioxan²¹⁾ aufgenommen, mit 300 mg Natriumperjodat in 5 cm³ Wasser und 2 cm³ 1-n. Schwefelsäure versetzt und 12 Std. bei 20° stengelassen. Nach Verdünnen der sauren Reaktionslösung mit viel Wasser liessen sich durch Extraktion mit Äther 366 mg eines öligen Gemisches gewinnen, welches zusammen mit 50 cm³ 0,5-n. Natronlauge unter Stickstoff gekocht wurde. Die erkaltete Lösung wurde mit 4-n. Schwefelsäure neutralisiert und nach Zugabe von 300 mg Natrium-metaperjodat in 5 cm³

²²⁾ 20 g KJ und 10 g Jod in 100 cm³ Wasser.

Wasser auf pH 6,8 eingestellt. Durch Durchleiten von Stickstoff wurden verdampfende niedermolekulare Aldehyde in einer Vorlage, welche mit einer 0,4-proz. Lösung von 2,4-Dinitrophenylhydrazin in 2-n. Salzsäure beschickt war, aufgefangen. Nach 12 Std. filtrierte man den orange-gelben Niederschlag (116 mg) in der Vorlage ab und wusch ihn intensiv mit Wasser. Nach viermaligem Umkristallisieren aus Äthanol schmolz das Derivat bei 150—151° und erwies sich mit dem 2,4-Dinitrophenylhydrazon von Propionaldehyd als identisch.

Die mit Natriumchlorid gesättigte Reaktionslösung wurde mit Äther extrahiert. Den Extrakt (295 mg) nahm man in wenig Methanol auf und versetzte ihn tropfenweise unter Rühren mit 20 cm³ einer Lösung von 2,4-Dinitrophenylhydrazin in 2-n. Salzsäure. Die gelb-orange, trübe Lösung wurde mit viel Wasser verdünnt und mit Äther extrahiert. Die wässrige, alkalisch gemachte Schicht wurde zur Entfernung von Reagens mit Methylchlorid gewaschen und mit den anderen wässrigen Auszügen vereinigt. Der ätherischen Schicht entzog man die sauren 2,4-Dinitrophenylhydrazone mit 2-n. Pottasche-Lösung, welche sich tiefrot färbte und nach dem Ansäuern und Extraktion mit Äther 80 mg amorphes Material lieferte. Im Papierchromatogramm²³⁾ liess sich ein einheitliches 2,4-Dinitrophenylhydrazon nachweisen, welches dieselbe Wanderungsgeschwindigkeit zeigte, wie das authentische Derivat der Lävulinsäure.

Die vereinigten wässrigen Auszüge der Aufarbeitung sättigte man nach dem Ansäuern mit Natriumchlorid. Durch Extraktion mit Äther im *Kutscher-Steudel*-Apparat liessen sich 133 mg saure Anteile gewinnen, welche zur Hauptsache aus drei Säuren²⁴⁾ bestanden, wie ein Papierchromatogramm²⁵⁾ im System Alkohol-Ammoniak-Wasser (8:1:1) zeigte. Eine der Säuren wanderte gleich schnell wie meso- α,α' -Dimethylglutarsäure und liess sich durch präparative Papierchromatographie im selben System in einer Menge von 4 mg isolieren; sie war mit meso- α,α' -Dimethylglutarsäure in jeder Beziehung identisch (IR.-Absorptionsspektrum, Misch-Smp.). Das reine, 4fach sublimierte Präparat schmolz bei 126—128°.

Die Mikroanalysen wurden in unserem mikroanalytischen Laboratorium (Leitung *W. Manser*) ausgeführt.

Zusammenfassung.

Auf Grund von Umwandlungs- und Abbaureaktionen konnte dem Antibioticum Pikromycin (C₂₅H₄₃O₇N) die Konstitution I bzw. Ia zugewiesen werden. Im Gegensatz zum Erythronolid⁴⁾ – das Aglykon des verwandten Antibioticums Erythromycin – welches aus Propionsäure-Einheiten²⁶⁾ aufgebaut ist, zeigt das Pikromycin, wie auch das Methymycin, nur in einem Teil der Molekel eine solche Gliederung des Grundgerüsts.

Organ.-chemisches Laboratorium
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

²³⁾ Als stationäre Phase diente das mit einer Spur Cyanwasserstoff versetzte Phenol, während die bewegliche Phase vom *Sörensen*-Puffer gebildet wurde, welcher durch Mischen von gleichen Volumina von 0,1-n. Glykokoll und 0,1-n. Natriumchlorid mit 0,1-n. Natronlauge auf pH 8,4 eingestellt worden war. Vgl. dazu *A. I. Virtanen, J. K. Mietinen & H. Kuntu*, Acta chem. scand. **7**, 38 (1953).

²⁴⁾ meso- α,α' -Dimethylglutarsäure Rf = 0,45; weiter die beiden unbekanntten Säuren mit Rf = 0,22 (kristallin) und Rf = 0,82.

²⁵⁾ Vgl. *A. R. Jones, E. J. Dowling & W. J. Skraba*, Analyt. Chemistry **25**, 394 (1953). Zum Sprühen wurde die von *H. Kalbe, Z. physiol. Chem.* **297**, 19 (1954), vorgeschlagene gepufferte Methylrot-Lösung verwendet.

²⁶⁾ Vgl. *R. B. Woodward*, Angew. Chem. **68**, 13 (1956).