

147. Hans Brockmann und Reimer Strufe: Kromycin, ein stickstofffreies Abbauprodukt des Pikromycins (Pikromycin, III. Mitteil.*); Antibiotica aus Actinomyceten, XVII. Mitteil.)**

[Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen]

(Eingegangen am 15. Mai 1953)

Bei milder Hydrolyse des Pikromycins entsteht ein kristallisiertes, Kromycin genanntes Abbauprodukt, dessen funktionelle Gruppen ermittelt wurden. Durch katalytische Hydrierung konnten drei verschiedene Hydrierungsprodukte erhalten werden.

Das aus der Kulturlösung von *Streptomyces felleus*¹⁾ isolierte Antibioticum Pikromycin²⁾ wird schon unter milden Bedingungen durch verd. Alkalilauge oder verd. Säure abgebaut. Wie bereits in unserer ersten Mitteilung²⁾ angegeben, kristallisiert aus einer auf p_H 8.4 eingestellten und bei 60° gehaltenen Lösung von Pikromycinhydrochlorid nach einiger Zeit eine stickstofffreie Verbindung vom Schmp. 172°, die bakteriostatisch unwirksam ist und nicht mehr bitter schmeckt. Um dieses, im folgenden als Kromycin bezeichnete Abbauprodukt eingehender untersuchen zu können, mußte zunächst seine Ausbeute verbessert werden.

Das gelang, als wir die Pikromycin-Konzentration in der Reaktionslösung um ein mehrfaches höher ansetzten als bei unseren ersten Versuchen. Aus der auf p_H 7.8 oder auch 8.4 eingestellten und auf 60° erwärmten Lösung fiel unter diesen Bedingungen innerhalb 24 Stdn. ein Niederschlag aus, der neben Kromycin unverändertes Pikromycin enthielt. Löst man das Pikromycin mit 0.4 *n* HCl aus dem Niederschlag heraus und unterwirft es erneut der Hydrolyse, so läßt sich nach diesem Verfahren eine Kromycin-Ausbeute von 20% des Ausgangsmaterials erreichen. Einfacher und in noch besserer Ausbeute erhält man das Abbauprodukt, wenn Pikromycin in schwach saurer, 2-proz. Lösung bei 60° aufbewahrt wird. Dabei kristallisieren innerhalb 48 Stdn. bis 35% der eingesetzten Pikromycinmenge als reines Kromycin aus.

Kromycin ist optisch aktiv ($[\alpha]_D^{20}$: -27.9° in Chloroform, $[\alpha]_D^{20}$ + 5.9° in Äthanol; Drehungsrichtung in beiden Lösungsmitteln wie beim Pikromycin). Es läßt sich i. Hochvak. bei 150–160° ohne Rückstand und ohne Veränderung sublimieren. Sublimiertes und danach noch zweimal umkristallisiertes Kromycin stimmte im Schmelzpunkt und in den Analysenzahlen gut mit unseren früheren Präparaten überein. Dagegen fanden wir bei einer Wiederholung der Mol.-Gew.-Bestimmung nach Rast statt 330²⁾ nur 276 ± 10. Zur Kontrolle durchgeführte kryoskopische Bestimmungen in Phenol ergaben übereinstimmend damit 266 ± 15; in Benzol aber wurde 455 gemessen. Daß dieser Wert zu hoch ist (offenbar durch Assoziation bedingt) und die in Campher bzw. Phenol gefundenen Zahlen die richtigen sind, scheint uns aus folgenden Befunden hervorzugehen. Bei der milden Hydrolyse des Pikromycins konnte inzwischen ein zweites kristallisiertes Abbauprodukt gefaßt werden³⁾, das den

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

**) XVI. Mitteil.: H. Brockmann, G. Bohnsack u. H. Gröne, Naturwissenschaften 40, 223 [1953].

¹⁾ W. Lindenbein, Arch. Mikrobiol. 17, 380 [1952].

²⁾ H. Brockmann u. W. Henkel, Chem. Ber. 84, 284 [1951].

³⁾ Dieses Abbauprodukt wurde in unserem Institut von B. König isoliert.

Stickstoff des Antibioticums enthält und die Bruttoformel $C_8H_{17}O_3N$ (Mol.-Gew. 175) hat. Bisher spricht alles dafür, daß der erste Schritt bei der Hydrolyse des Pikromycins $C_{25}H_{43}O_7N$ (Mol.-Gew. 469.6) in der Abspaltung der Verbindung $C_8H_{17}O_3N$ besteht. Dann wäre $C_{17}H_{26}O_4$ die größte für Kromycin in Frage kommende Formel. Mit ihrem Mol.-Gew. 294.4 lassen sich die für Kromycin in Campher und Phenol gefundenen Werte 276 bzw. 266 durchaus vereinbaren und auch die Analysenzahlen des Kromycins weichen von den für $C_{17}H_{26}O_4$ berechneten nicht erheblich ab. Viel besser passen sie allerdings auf die Formel $C_{16}H_{24}O_4$, die aber voraussetzt, daß beim Zerfall des Pikromycins in Kromycin und Pikrocin die Gruppe CH_2 in irgendeiner Form abspalten wird. Ohne sie als endgültig anzusehen, haben wir die C_{16} -Formel zunächst den Berechnungen dieser Arbeit zugrunde gelegt.

Pikromycin liefert bei der Chromsäure-Oxydation nach Kuhn-Roth 5 Moll. flüchtiger Säure, Kromycin dagegen nur 4. Das Abbauprodukt enthält also eine *C*-Methylgruppe weniger als Pikromycin. Die Papierchromatographie hat ergeben, daß das bei der Chromsäure-Oxydation des Kromycins erhaltene Destillat neben Essigsäure auch Propionsäure enthält. Ein Teil der *C*-Methylgruppen steht also an *sek.* C-Atomen.

Über die Funktionen der vier Sauerstoff-Atome des Kromycins geben folgende Reaktionen Aufschluß. Kromycin ist in wäßriger Alkalilauge unlöslich und verbraucht in der Kälte in alkoholischer 0.5 *n* NaOH, wie die konduktometrische Rücktitration zeigt, kein Alkali. Freie Carboxygruppen sind also nicht vorhanden. Demnach muß das eine aktive H-Atom der Zerewitinoff-Bestimmung einer Oxygruppe angehören, und zwar einer tertiären, denn auch nach mehrstdg. Erwärmen des Kromycins mit Acetanhydrid-Pyridin war kein Essigsäureverbrauch festzustellen und aus dem Ansatz ließ sich unverändertes Kromycin zurückgewinnen. Eine primäre oder sekundäre Oxygruppe wäre unter den angewandten Bedingungen acetyliert worden.

Kromycin reagiert nicht mit Fuchsin-schwefliger Säure oder Fehlingscher Lösung, enthält also keine Aldehydgruppe. Dagegen wurden bei der Carbonyl-Titration nach W. M. D. Bryant und D. M. Smith⁴⁾ 0.8–0.9 Moll. Hydroxylamin verbraucht, wodurch das Vorliegen einer Ketogruppe sichergestellt ist.

Erwärmt man Kromycin 3 Stdn. mit methanolischer 0.5 *n* NaOH auf 60°, so zeigt die konduktometrische Rücktitration, daß ein Mol. Säure entstanden ist. Die beiden restlichen Sauerstoff-Atome des Kromycins gehören also entweder zu einer Lacton- oder einer Estergruppe.

Bei der katalytischen Hydrierung des Kromycins mit Platin in Methanol kam die Wasserstoffaufnahme in Abhängigkeit von Menge und Aktivität des Katalysators entweder nach Aufnahme von 1 Mol. oder 2 Moll. Wasserstoff zum Stillstand. Das mit 1 Mol. Wasserstoff erhaltene kristallisierte Hydrierungsprodukt vom Schmp. 149° ist im Gegensatz zum Kromycin in Chloroform rechtsdrehend ($[\alpha]_D^{20} : + 37.1^\circ$) und gibt Analysenzahlen, die auf ein Dihydrokromycin $C_{16}H_{26}O_4$ passen. Es enthält, wie die Carbonyl-Titration⁴⁾ und der

⁴⁾ J. Amer. chem. Soc. 57, 57 [1935].

geringe Verbrauch bei der Hydroxyl-Titration⁵⁾ zeigt, noch die Carbonylgruppe des Kromycins.

Auch das nach Aufnahme von 2 Moll. Wasserstoff gebildete Hydrierungsprodukt ließ sich zur Kristallisation bringen und zeigte in Chloroform noch schwache Rechtsdrehung. Aus der Carbonyl- und Hydroxyl-Titration geht hervor, daß die Carbonylgruppe des Ausgangsmaterials noch vorhanden ist. Der Verbrauch von zwei Moll. Wasserstoff ist also auf die Anwesenheit von zwei Doppelbindungen im Kromycin zurückzuführen. Sie zeichnen sich dadurch aus, daß sie weder mit Benzopersäure noch mit Brom vollständig titrierbar sind.

Unter energischen Bedingungen – in Eisessig mit viel Platin – nahm Kromycin innerhalb von 2–3 Stdn. 3 Moll. Wasserstoff auf. Das Hydrierungsprodukt, ein farbloses Öl, wurde zur Reinigung zweimal bei 140°/10³ Torr destilliert. Das so erhaltene Präparat enthielt erheblich weniger Sauerstoff, als für ein Hexahydro-kromycin berechnet, was möglicherweise auf eine Wasser-Abspaltung bei der Destillation zurückzuführen ist. Daß das dritte Moll. Wasserstoff die Carbonylgruppe des Kromycins reduziert hat, geht aus dem geringen Hydroxylaminverbrauch des Hydrierungsproduktes bei der Carbonyl-Titration hervor.

Der Befund, daß Kromycin 2 bzw. 3 Moll. Wasserstoff aufnimmt, hat uns veranlaßt, die Hydrierung des Pikromycins erneut zu untersuchen. Während wir früher*) bei einer 0.4-proz. Lösung in Eisessig mit Platin bei 20°/760 Torr keine Wasserstoffaufnahme feststellen konnten, fanden wir nunmehr mit aktiverem Katalysator als früher unter den beim Kromycin angewendeten Bedingungen innerhalb von 2–3 Stdn. sowohl in Eisessig als auch in Methanol eine Aufnahme von 2 Moll. Wasserstoff. Pikromycin enthält demnach eine hydrierbare Gruppe weniger als Kromycin.

Bei der Reduktion des Kromycins mit Lithiumaluminiumhydrid erhielten wir ein amorphes Reduktionsprodukt, dessen Analyse auf die Formel $C_{16}H_{30}O_4$ paßt. Daraus folgt, daß die Carboxygruppe, die bei der Alkalibehandlung des Kromycins entsteht, einer Lactongruppe und nicht einer Estergruppe angehört. Denn die $LiAlH_4$ -Reduktion eines Esters zum Alkohol ist mit Verlust eines Sauerstoff-Atoms verbunden. Das $LiAlH_4$ -Reduktionsprodukt enthält vier aktive Wasserstoffatome, also drei mehr als Kromycin. Von diesen dreien entsteht das eine bei der Reduktion der Carbonyl-, die beiden anderen bei der Reduktion der Lactongruppe.

Nur zwei von den vier Oxygruppen des Reduktionsproduktes lassen sich mit Acetanhydrid-Pyridin titrieren. Die beiden anderen also sind tertiär; das eine von ihnen stammt aus dem Kromycin, das andere muß aus dem Ringsauerstoffatom des Lactonringes hervorgehen, das demnach an einem tertiären C-Atom steht. In neutraler Lösung verbraucht das Reduktionsprodukt fast zwei Moll. Natriumperjodat, woraus zu folgern ist, daß je zwei von den vier Oxygruppen benachbart sind. Bei der Aufarbeitung des Ansatzes wurde neben anderen Produkten Acetaldehyd als *p*-Nitro- und 2.4-Dinitro-phenylhydrazon isoliert.

⁵⁾ L. C. Ogg, W. L. Porter u. C. O. Willits, Ind. Engng. Chem. analyt. Edit. 17, 394 [1945].

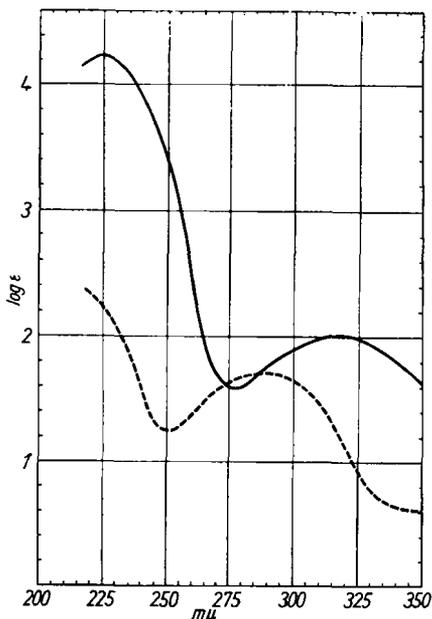
Bei der katalytischen Hydrierung nahm das LiAlH_4 -Reduktionsprodukt, das im Gegensatz zum Kromycin keine reduzierbaren sauerstoffhaltigen Gruppen mehr enthält, 1.8 Moll. Wasserstoff auf, ein weiterer Beweis, daß Kromycin zwei C-Doppelbindungen enthält.

Gegenüber einer gesättigten acyclischen Verbindung $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_4$ hat die Kromycinformel $\text{C}_{10}\text{H}_{24}\text{O}_4$ ein Defizit von 10 Wasserstoff-Atomen. Von ihnen entfallen vier auf die beiden Äthylenbindungen, zwei auf die Carbonylgruppe und vier auf den Lactonring. Außer diesem dürfte Kromycin demnach keine Ringe enthalten. Das gleiche gilt für die Kromycinformel $\text{C}_{17}\text{H}_{28}\text{O}_4$.

Wird Kromycin mit $n \text{ Ba(OH)}_2$ unter CO_2 -Ausschluß gekocht, so fällt die 0.7–0.8 Moll. entsprechende Menge Bariumcarbonat aus. Daneben scheiden sich etwa 85% des Ausgangsmaterials in Form eines zähen Öles ab, das offenbar mit dem schon früher beim Alkaliabbau des Pikromycins erhaltenen „Abbauketon“ identisch ist. Demnach muß die aus dem Lactonring entstehende Carboxygruppe so angeordnet sein, daß sie unter Bildung einer Ketogruppe leicht decarboxyliert wird. Das wäre z. B. der Fall, wenn in α -Stellung eine tertiäre Oxygruppe oder in β -Stellung eine Carbonylgruppe steht.

Aussagen über die Stellung der Äthylenbindungen sowie der Carbonyl- und Lactongruppe zueinander, erlaubt das UV-Spektrum des Kromycins.

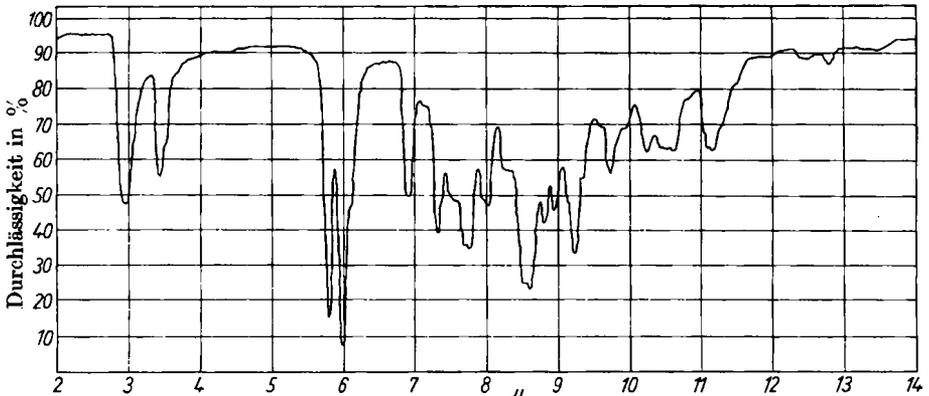
Seine Absorptionskurve (Abbild. 1) zeigt einen Verlauf, wie er für α,β -ungesättigte Ketone charakteristisch ist. Die Lage des langwelligen Maximums schließt eine Konjugation der zweiten Äthylenbindung oder der Lactongruppe mit den Doppelbindungen der C:C:C:O-Gruppe aus. Im Spektrum des Tetrahydro-kromycins (Abbild. 1) gibt sich das



Abbild. 1. Absorptionskurven des Kromycins ——— und Tetrahydro-kromycins - - - - in Methanol

Fehlen der zur Carbonylgruppe konjugierten Doppelbindung dadurch zu erkennen, daß die hohe Absorptionsbande bei 225 $m\mu$ verschwunden und die langwellige Bande nach 275 $m\mu$ verschoben ist. Ob die zweite Äthylenbindung des Kromycins der Lactongruppe

benachbart ist, läßt sich aus der UV-Absorptionskurve nicht klar ersehen. Eine Entscheidung erlaubt jedoch das Ultrarot-Spektrum (Abbild. 2), demzufolge die beiden Gruppen nicht konjugiert sind.



Abbild. 2. Ultrarot-Spektrum des Kromycins in KBr⁶⁾

Im einzelnen ergibt sich aus dem von U. Schiedt⁷⁾ in Kaliumbromid und in Chloroform aufgenommenen und ausgewerteten Ultrarot-Spektrum in Bestätigung und Erweiterung unserer chemischen Befunde folgendes:

- 1.) Die Oxygruppe des Kromycins gibt sich durch die Bande bei 2.92 μ zu erkennen.
- 2.) Die Bande bei 5.80 μ (typisch für Ester oder Lactongruppen), muß der chemisch nachgewiesenen Lactongruppe zugeschrieben werden. Das Vorliegen eines γ -Lactons oder eines Enol-lactons ist auszuschließen. Der heterocyclische Ring des Kromycins ist seiner Größe nach mindestens ein δ -Lactonring.

Die Banden bei 6.0 und 6.15 μ bestätigen die Aussage des UV-Spektrums, daß Kromycin eine α, β -ungesättigte Ketogruppe enthält. Die Bande bei 11.15 μ kann einer peripheren

Doppelbindung $\text{CH}_2\text{:C} \begin{matrix} \text{R}_1 \\ \text{R}_2 \end{matrix}$ zugeordnet werden.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft, dem Fonds der Chemie und vor allem den Farbenfabriken Bayer, Werk Elberfeld, danken wir für großzügige Förderung unserer Arbeit.

Beschreibung der Versuche⁸⁾

1.) Abbau des Pikromycins zum Kromycin

Abbau in alkal. Lösung: a) Eine Lösung von 638 mg Pikromycin in 13.6 ccm 0.1 n HCl wurde mit 30 ccm Wasser verdünnt, mit 0.1 n Ba(OH)₂ auf p_{H} 8.4 eingestellt und 24 Stdn. bei 60° aufbewahrt. Der ausgefallene, z.Tl. kristalline Niederschlag (312 mg) wurde in 15 ccm Wasser suspendiert und mit 1.8 ccm 0.4 n HCl versetzt. Dabei löste sich der amorphe Anteil, während krist. Kromycin (72 mg) zurückblieb. Aus dem mit 0.1 n Ba(OH)₂ auf p_{H} 8.4 eingestellten und bei 60° aufbewahrten Filtrat war nach 24 Stdn. wiederum ein Niederschlag ausgefallen, der in der eben beschriebenen Weise von amorphen Anteilen befreit, eine zweite Fraktion Kromycin (35 mg) lieferte. Das auf p_{H} 8 eingestellte

⁶⁾ Hrn. Dr. U. Schiedt sind wir für die Aufnahmen und die Auswertung der Ultrarot-Spektren zu großem Dank verpflichtet.

⁷⁾ U. Schiedt u. H. Reinwein, Z. Naturforsch. 7b, 270 [1952].

⁸⁾ Alle Schmelzpunkte korrigiert.

Filtrat bewahrte man weiterhin bei 60° auf und erhielt dabei eine dritte Fällung, aus der sich nach Behandlung mit Salzsäure noch eine kleine Menge Kromycin (15 mg) gewinnen ließ. Umkristallisieren der vereinigten Kromycinfraktionen aus 90-proz. Methanol lieferte 97 mg Kromycin vom Schmp. 172°.

b) Eine Lösung von 469 mg Pikromycin in 10 ccm 0.1 n HCl wurde mit 50 ccm Wasser verdünnt, mit 0.1 n NaOH auf p_H 7.8 eingestellt und bei 60° aufbewahrt. Nach 2 Stdn. filtrierte man den ausgefallenen Niederschlag (169 mg) ab und extrahierte ihn mit 2.5 ccm 0.4 n HCl. Dabei hinterblieben 34 mg krist. Kromycin. Das Filtrat wurde mit dem der ersten Fällung vereinigt, mit 0.1 n NaOH auf p_H 7.8 eingestellt und wiederum bei 60° aufbewahrt. Die Aufarbeitung der entstandenen Fällung und die Weiterverarbeitung des Filtrates erfolgte in der gleichen Weise wie bei der ersten Fällung. Es wurde noch dreimal in der gleichen Weise verfahren. Nach insgesamt 32stdg. Hydrolyse erhielt man 94 mg reines Kromycin.

Abbau in saurer Lösung: Eine Lösung von 469 mg Pikromycin in einer Mischung von 20 ccm Wasser und 2.5 ccm 0.4 n HCl wurde mit 1.62 ccm 0.1 n NaOH auf p_H 6.5 eingestellt und bei 60° aufbewahrt. Nach etwa 24 Stdn. trübte sich die Lösung und nach 34 Stdn. waren 4—6 mm lange Nadeln (87 mg) vom Schmp. 173° ausgefallen. Aus dem weiter auf 60° gehaltenen Filtrat schieden sich im Laufe von 14 Stdn. noch 74 mg krist. Kromycin ab.

Kromycin ist in den gebräuchlichen organischen Lösungsmitteln mit Ausnahme von Petroläther gut, in Wasser dagegen sehr schwer löslich.

Für alle im folgenden beschriebenen Versuche wurde zweimal umkristallisiertes bei 156—160°/5×10⁻⁴ Torr sublimiertes Kromycin verwendet.

C₁₆H₂₄O₄ (280.4)

Ber. C 68.54 H 8.62 O 22.83 4 C-CH₃ 21.4 1 akt. H

Gef. C 68.67 H 8.53 O 22.84 C-CH₃ 21.2 0.81**, 1.11***) Mol.-Gew. 256, 277*)

*) kryoskop. in Phenol. **) b. 20° in Pyridin. ***) b. 95° in Pyridin.

2.) Funktionelle Gruppen des Kromycins

Lacton-Titration: 120.6 mg Kromycin wurden in 8 ccm Methanol gelöst, mit 4 ccm methanol. 0.5 n NaOH versetzt und 3½ Stdn. bei 60° aufbewahrt. Die gelblich gewordene Lösung wurde konduktometrisch mit 0.1 n HCl (4.20 ccm) zurücktitriert; Verbrauch: 0.98 Äquiv. NaOH.

Benzopersäure-Titration: Aus einer im Eisschrank aufbewahrten Lösung von 103 mg Kromycin in 25 ccm einer Benzopersäure-Chloroform-Lösung (12.9 mg Benzopersäure/ccm) wurden zu verschiedenen Zeiten je 5 ccm abpipettiert und nach Zusatz von 20 ccm Wasser, 1 ccm n HCl und 2 ccm 20-proz. Kaliumjodid-Lösung mit 0.1 n Na₂S₂O₃ titriert. Der Benzopersäure-Verbrauch gegenüber einer Blindprobe betrug nach 2 Tagen 0.1 Mol. und nach 21 Tagen 0.3 Moll.

Hydroxyl-Titration⁵⁾: 83.8 mg Kromycin wurden in 2 ccm eines Gemisches aus 1 ccm Acetanhydrid und 20 ccm Pyridin 1 Stde. im verschlossenen Gefäß auf 100° erhitzt. Nach Zugabe von 10 ccm Wasser erwärmte man kurz auf siedendem Wasserbad, um das Acetanhydrid zu verseifen und titrierte nach Abkühlen die gebildete Essigsäure mit methanol. 0.5 n NaOH zurück; Verbrauch: 3.79 ccm. 2 ccm in gleicher Weise umgesetztes Acetylierungsgemisch verbrauchten 3.82 ccm 0.5 n NaOH.

C₁₆H₂₄O₄ (280.4) Ber. 1 OH 6.06 Gef. OH 0.30

Die austitrierte Reaktionslösung hinterließ beim Verdampfen i.Vak. einen Rückstand, der nach scharfem Trocknen einer Hochvak.-Sublimation unterworfen wurde. Bei 174°/10⁻³ Torr bildeten sich 76 mg eines krist. Sublimates vom Schmp. 172°, das mit Kromycin gemischt keine Schmp.-Erniedrigung zeigte.

Perjodsäure-Titration: Aus einer bei 20° aufbewahrten Lösung von 78.4 mg Kromycin in 25 ccm Perjodsäure-Eisessig-Lösung (4.8 mg Perjodsäure/ccm) wurden zu verschiedenen Zeiten 5 ccm entnommen und mit Kaliumjodid und 0.1 n Na₂S₂O₃ titriert. Verbrauch: nach 24 Stdn. 0.12 Moll., nach 9 Tagen 0.16 Moll. Perjodsäure. Pikromycin

hatte nach 2 Tagen 0.10 und nach 5 Tagen 0.53 Moll. Perjodsäure verbraucht. Bei vergleichenden Versuchen mit Weinsäure und Threonin wurde 1 Mol. Perjodsäure nach 50 Min. bzw. 24 Stdn. verbraucht.

Perjodsäure-Titration nach Alkalieinwirkung: 100 mg Kromycin wurden mit 1 cem einer methanol. 0.43 *n* NaOH und 5 cem Methanol versetzt und 2 Stdn. bei 20° aufbewahrt. Die Reaktionslösung füllte man mit Perjodsäure-Eisessig-Lösung (5.1 mg HJO₄/cem) auf 25 cem auf und bestimmte zu verschiedenen Zeiten den Perjodsäureverbrauch gegenüber einem Blindwert. Verbrauch: nach 24 Stdn. 0.8 Moll., nach 5 Tagen 1.3 Moll. Perjodsäure.

Carbonyl-Titration⁴⁾: Eine Mischung von 3 cem einer wäbr. Lösung von Hydroxylamin-hydrochlorid und 10 cem Indicator-Lösung (20 cem Pyridin, 0.2 cem einer 4-proz. Bromphenolblau-Lösung und 980 cem 95-proz. Alkohol) wurde nach Zugabe von 46.2 mg Kromycin 4 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Die kalte Reaktionslösung verbrauchte 0.35 cem 0.1 *n* NaOH, entspr. 0.9 Moll. NH₂OH.

Bromtitration: Eine Lösung von 60.2 mg Kromycin in 20 cem Eisessig (über Bleitetraacetat destilliert) wurde mit 5 cem 0.1 *n* KBr-KBrO₃ versetzt und 2 Stdn. auf 60° erwärmt. Zum Zurücktitrieren des überschüss. Broms wurden (nach Zugabe von 2 cem 20-proz. KJ-Lösung) 0.62 cem 0.1 *n* Na₂S₂O₃, entspr. 0.14 Moll. Brom verbraucht. Unter gleichen Bedingungen verbrauchte Zimtsäure 0.98 Moll. Brom.

3.) Reduktion des Kromycins mit Lithiumaluminiumhydrid

Eine Lösung von 1 g Kromycin in 100 cem absol. Äther wurde unter Feuchtigkeitsausschluß zu 5 cem 1.9 *m* äther. LiAlH₄ gegeben und 5 Stdn. unter Rückfluß gekocht. In die Reaktionslösung tropfte man unter Rühren und Kühlen 7 cem 4 *n* H₂SO₄ ein, trennte die Ätherphase ab, trocknete über Natriumsulfat und dampfte den Äther ab. Das Reduktionsprodukt war ein farbloser, spröder, sehr hygroskopischer Lack; Ausb. 870 mg.

C₁₆H₃₀O₄ (286.4) Ber. C 67.56 H 9.93 O 22.51 4 akt. H
Gef.*) C 67.94 H 10.27 O 21.32 4.3 akt. H**)

*) getr. bei 40° i. Hochvak. **) in Anisol bei 20°.

Hydroxyl-Titration⁵⁾: 76.0 mg des vorstehenden Reduktionsproduktes wurden, wie beim Kromycin angegeben, mit 2 cem Acetylierungsgemisch behandelt.

C₁₆H₃₀O₄ (286.4) Ber. 2 OH 11.88 Gef. OH 9.45

Carbonyl-Titration⁴⁾: 46.2 mg Reduktionsprodukt wurden, wie beim Kromycin beschrieben, mit Hydroxylamin-hydrochlorid umgesetzt.

C₁₆H₃₀O₄ (286.4) Ber. 1 >CO 9.78 Gef. >CO 2.13

Perjodsäure-Titration: 87.2 mg des Reduktionsproduktes verbrauchten nach 24 Stdn. 0.9, nach 4 Tagen 1.8 Moll. Perjodsäure.

Katalytische Hydrierung. a) 25 mg Reduktionsprodukt in 6 cem Methanol (p. a. E. Merck) verbrauchten b. Ggw. von 40 mg Platin (aus PtO₂) innerhab 14 Stdn. keinen Wasserstoff.

b) Eine Lösung von 38 mg Reduktionsprodukt in 6 cem Eisessig (p. a. E. Merck) verbrauchten b. Ggw. von 40 mg Platin (aus PtO₂) innerhalb 70 Min. 5.2 cem H₂ (0°/760 Torr) entspr. 1.8 Moll. H₂.

4.) Dihydro-kromycin

Eine Lösung von 28 mg Kromycin in 6 cem Methanol (p. a. E. Merck) nahm b. Ggw. von 30 mg Platin (aus PtO₂) innerhalb von 6 Stdn. 2.37 cem H₂ (0°/760 Torr) auf; Verbrauch: 1.06 Moll. H₂. Zur Darstellung des Dihydro-kromycins wurde eine Lösung von 800 mg Kromycin in 15 cem Methanol und 100 mg Platin (aus PtO₂) bis zur Sättigung unter Wasserstoff geschüttelt. Nach Abtrennung des Katalysators verdampfte man das Lösungsmittel bei 20° im Luftstrom auf etwa 3 cem. Nach Anreiben kristallisierten 520 mg Dihydro-kromycin aus. Durch Anspritzen mit wenig Wasser konnten aus der Mutterlauge nach Anreiben noch 60 mg kristallisiertes Hydrierungsprodukt erhalten wer-

den. Nach Umkristallisieren aus 90-proz. Methanol bildete das Dihydro-kromycin büschelig vereinigte, farblose Nadelchen vom Schmp. 149°.

$C_{16}H_{26}O_4$ (282.4) Ber. C 68.10 H 9.28 O 22.62 1 akt. H
Gef. C 68.16 H 9.13 O 22.47 0.69 akt. H

Hydroxyl-Titration⁵⁾: 22.4 mg Dihydro-kromycin mit 2 ccm Acetylierungsgemisch angesetzt, verbrauchten 0.03 ccm 0.438 *n* NaOH weniger als die Blindprobe.

$C_{16}H_{26}O_4$ (282.4) Ber. 1 OH 6.1 Gef. OH 1.0

Carbonyl-Titration⁶⁾: 90.6 mg Dihydro-kromycin mit 3 ccm Hydroxylaminhydrochlorid-Lösung und 10 ccm Indicator-Lösung 3 Stdn. unter Rückfluß erhitzt, ergaben einen Verbrauch von 0.50 ccm 0.438 *n* NaOH.

$C_{16}H_{26}O_4$ (282.4) Ber. 1 >CO 9.9 Gef. >CO 6.8

5.) Tetrahydro-kromycin

Eine Lösung von 400 mg Kromycin in 40 ccm Methanol (p. a. E. Merck) wurden mit 300 mg Platin (aus PtO₂) unter Wasserstoff geschüttelt. Nach 12 Min. war die für 2 Doppelbindungen ber. Menge Wasserstoff (64 ccm; 0°/760 Torr) aufgenommen. Die vom Katalysator abfiltrierte Lösung wurde im Luftstrom auf 1 ccm eingengt. Beim Anreiben kristallisierte das Hydrierungsprodukt in feinen, büschelig vereinigten Nadeln vom Schmp. 107°.

$C_{16}H_{26}O_4$ (284.4) Ber. C 67.52 H 9.93 O 22.51 1 akt. H
Gef. C 68.05 H 9.71 O 21.85 0.86 akt. H

Hydroxyl-Titration⁵⁾: 68.0 mg Tetrahydro-kromycin mit 2 ccm Acetylierungsgemisch umgesetzt, verbrauchten 0.10 ccm 0.438 *n* NaOH weniger als die Blindprobe.

$C_{16}H_{26}O_4$ (284.4) Ber. 1 OH 6.07 Gef. OH 1.9

Carbonyl-Titration⁶⁾: 52.6 mg Tetrahydro-kromycin wurden mit der Hydroxylaminhydrochlorid-Lösung 4½ Stdn. unter Rückfluß gekocht. Verbrauch: 0.39 ccm 0.438 *n* NaOH.

$C_{16}H_{26}O_4$ (284.4) Ber. 1 >CO 9.9 Gef. >CO 9.1

6.) Perhydro-kromycin

Eine Lösung von 28.0 mg Kromycin in 6 ccm Eisessig (p. a. E. Merck) wurde b. Ggw. von 30 mg Platin (aus PtO₂) unter Wasserstoff geschüttelt. Nach 150 Min. war unter Verbrauch von 6.60 ccm (0°/760 Torr) entspr. 3 Moll. H₂ die Wasserstoffaufnahme beendet.

Darstellung des Perhydro-kromycins: eine Lösung von 580 mg Kromycin in 25 ccm Eisessig und 260 mg Platin (aus PtO₂) wurden unter Wasserstoff geschüttelt. Nach Verbrauch von 3 Moll. Wasserstoff filtrierte man vom Katalysator ab und verdampfte den Eisessig i. Vak.; das hinterbleibende farblose Öl wurde zweimal bei 140°/2 × 10⁻³ Torr destilliert.

$C_{16}H_{30}O_4$ (286.4) Ber. C 67.09 H 10.56 O 22.35 2 akt. H
 $C_{16}H_{28}O_3$ (268.4) Ber. C 71.60 H 10.52 O 17.88 2.14 akt. H
Gef. C 70.01 H 10.16 O 19.70 1.54 akt. H

Hydroxyl-Titration⁵⁾: 170 mg Perhydro-kromycin mit 2 ccm Acetylierungsgemisch umgesetzt verbrauchten 0.30 ccm 0.438 *n* NaOH weniger als die Blindprobe.

$C_{16}H_{30}O_4$ (286.4) Ber. 1 OH 5.93 Gef. OH 1.31
 $C_{16}H_{28}O_3$ (268.4) Ber. 1 OH 6.33

Carbonyl-Titration⁶⁾: 72.4 mg Perhydro-kromycin verbrauchten nach Umsetzung mit Hydroxylaminhydrochlorid (4 Stdn.) 0.07 ccm 0.438 *n* NaOH.

$C_{16}H_{30}O_4$ (286.4) Ber. 1 >CO 9.8
 $C_{16}H_{28}O_3$ (268.4) Ber. 1 >CO 10.4 Gef. >CO 1.2

7.) CO₂-Bestimmung beim alkalischen Kromycin-Abbau

205 mg Kromycin wurden unter Stickstoff mit 10 ccm methanol. *n* Ba(OH)₂ drei Stdn. auf dem Wasserbad erhitzt. Das ausgeschiedene Bariumcarbonat wurde durch eine am Kolben angeblasene Glasfritte abgesaugt und der Filtrerrückstand zur Entfernung von

org. Substanz dreimal mit je 10 ccm CO_2 -freiem Methanol gewaschen. Das Filtrat vom BaCO_3 -Niederschlag wurde verdampft; dabei hinterblieben 132 mg Rückstand. Der BaCO_3 -Niederschlag wurde mit 2 ccm n HCl in Lösung gebracht und das entstandene Kohlendioxyd im Stickstoffstrom in 30-proz.-Kalilauge absorbiert. Gef. 19.4 mg, Kohlendioxyd entspr. 0.8 Moll. CO_2 . Aus der im Kolben zurückgebliebenen Bariumchlorid-Lösung ließen sich mit 1 ccm n H_2SO_4 106 mg Bariumsulfat ausfällen, entspr. 0.9 Moll. CO_2 .

8.) Hydrierung des Pikromycins

a) Eine Lösung von 100 mg Pikromycin in 25 ccm Eisessig (p. a. E. Merck) nahm beim Schütteln mit 50 mg Platin (aus PtO_2 frisch hergestellt) innerhalb 7 Std. 8.5 ccm Wasserstoff ($0^\circ/760$ Torr) auf, entspr. 1.7 Moll. H_2 .

b) Eine Lösung von 46.9 mg Pikromycin in 5 ccm Methanol (p. a. E. Merck) nahm beim Schütteln mit 50 mg Platin (aus PtO_2) in der Differentialapparatur innerhalb 2 Std. 4.56 ccm Wasserstoff ($0^\circ/760$ Torr) auf, entspr. 2.1 Moll. H_2 .

148. Gustav Ehrhart: Synthesen von α -Aminosäuren, V. Mitteil.: α -Aroyl-*N*-acyl-serinester*)

[Aus dem Pharmazeutisch-Wissenschaftlichen Laboratorium der Farbwerke Hoechst, Frankfurt/Main-Höchst]

(Eingegangen am 21. Mai 1953)

Das in der IV. Mitteil. beschriebene Verfahren der Kondensation von aromatischen Säurechloriden mit Acylamino-acetessigester sowie die *C*-Acetyl-Abspaltung durch saure Hydrolyse erfährt weitere Variationen durch andere Substituenten.

Die Kondensation der erhaltenen Aroylacylamino-essigsäureester mit Formaldehyd führt zu α -Aroyl-*N*-acyl-serinestern. Bei Hydrierung der Benzylester bilden sich unter Benzyl-Abspaltung und gleichzeitiger Decarboxylierung Acylamino-acetophenon-Derivate.

In analoger Weise, wie für Acetessigsäure-äthylester in der I. Mitteil.¹⁾ beschrieben, läßt sich aus Acetessigsäure-benzylester Phenacetyl-amino-acetessigsäure-benzylester (Ic) darstellen. Die Kondensation mit aromatischen Säurechloriden — wir erwähnen Benzoylchlorid, *p*-Methoxy-benzoylchlorid und *p*-Diphenyl-carbonsäurechlorid — führte zu den entsprechenden Aroyl-acylamino-acetessigsäure-benzylestern (IIc-e). Die Acetyl-Abspaltung mit Chlorwasserstoff in Methanol ergab die entsprechenden Essigsäure-benzylester-Derivate (IIIc-e).

In diese α -Amino- β -keto-säureester III läßt sich eine Oxymethylgruppe mit wäßrigem Formaldehyd mittels *sek.* Natriumphosphats oder Natriumacetats einführen. Wir haben die CH_2OH -Gruppe in IV einerseits durch Acetylierung, andererseits durch Umsetzung mit Phenylisocyanat zum entsprechenden Phenylurethan nachgewiesen.

Um sicherzustellen, daß wir tatsächlich eine C—C-Bindung erhalten haben und Formaldehyd nicht etwa an die benachbarte NH-Gruppe addiert worden war, haben wir *p*-Nitrobenzoyl-phenacetyl-amino-acetessigester (IIb) in gleicher Weise mit Formaldehyd umgesetzt. Wir erhielten bei dieser Verbindung, deren H-Atome am Kohlenstoff vollständig

*) IV. Mitteil.: Chem. Ber. 86, 713 [1953].

¹⁾ Chem. Ber. 82, 60 [1949].