

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit werden eine neuartige Gruppe basisch substituierter Hydrazine sowie verschiedene zur Synthese dieser Verbindungen ausgearbeitete Wege beschrieben. Diese Hydrazin-Derivate zeichnen sich zum Teil durch eigene physiologische Eigenschaften aus, andererseits werden sie für die Synthese von physiologisch wirksamen Heterocyclen verwendet.

Pharmazeutisch-chemisches Laboratorium
SANDOZ, Basel

61. Stoffwechselprodukte von Actinomyceten

17. Mitteilung¹⁾

Holomycin

von L. Ettliger, E. Gäumann, R. Hütter, W. Keller-Schierlein, F. Kradolfer,
L. Neipp, V. Prelog, und H. Zähler

(26. I. 59)

Aus den Kulturen des Actinomyceten, Stamm ETH. 17474, welcher nach seinen artbestimmenden Merkmalen der Species *Streptomyces griseus* (KRAINSKI) WAKSMAN et HENRICI zugeordnet werden muss²⁾, haben wir ein gelbes, lipophiles, neutrales Antibioticum, das mit keinem in der Literatur beschriebenen Actinomyceten-Metaboliten identisch ist, in kristallisierter Form isolieren können. Das Antibioticum liess sich aus den Kulturfiltraten mittels Äthylacetat extrahieren und nach chromatographischer Anreicherung durch Kristallisation und Hochvakuumsublimation in reiner Form gewinnen. Es wurde von uns *Holomycin* genannt.

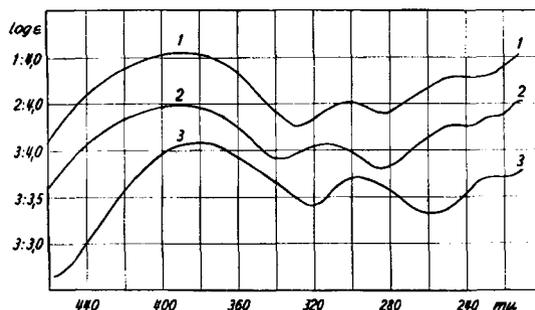


Fig. 1. UV.-Absorptionsspektren in Feinsprit (BECKMAN-Spektrograph, Modell DK 1)
Kurve 1: Holomycin; Kurve 2: Thiolutin; Kurve 3: Holothin-hydrochlorid

¹⁾ 16. Mitt.: Chem. Ber. (im Druck).

²⁾ Systematik nach L. ETTLINGER, R. CORBAZ & R. HÜTTER, Arch. Mikrobiol. **31**, 326 (1958).

Das UV.-Absorptionsspektrum von Holomycin (Fig. 1, Kurve 1) deutet auf eine nahe Verwandtschaft mit den Antibiotica Thiolutin (I)³⁾⁴⁾ (Fig. 1, Kurve 2) und Aureothricin (II)³⁾⁴⁾⁵⁾ hin. Die IR.-Absorptionsspektren der drei genannten Antibiotica sind dagegen untereinander eindeutig verschieden (vgl. Fig. 2, Kurve 1, sowie 4)

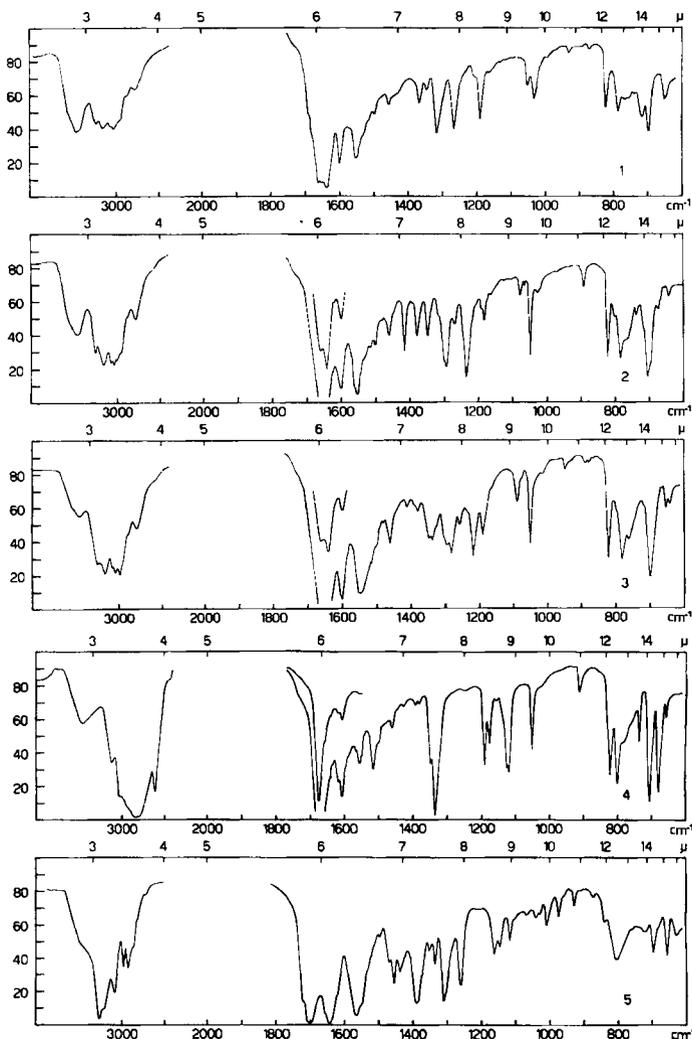


Fig. 2. IR.-Absorptionsspektren in KBr (PERKIN-ELMER Zweistrahl-Spektrograph Modell 21)
Kurve 1: Holomycin; Kurve 2: Propionylholothin; Kurve 3: Butyrylholothin; Kurve 4: Holo-
thin-hydrochlorid; Kurve 5: Hexahydro-desthiolomycin

³⁾ W. D. CELMER & I. A. SOLOMONS, *Antibiotics Annual 1953-1954*, 622; W. D. CELMER, F. W. TANNER, M. HARFENIST, T. M. LEES & I. A. SOLOMONS, *I. Amer. chem. Soc.* **74**, 6304 (1952).

⁴⁾ W. D. CELMER & I. A. SOLOMONS, *J. Amer. chem. Soc.* **77**, 2861 (1955).

⁵⁾ H. UMEZAWA, T. TASAKI, K. MAEDA, H. KOSAKA & S. FUKUYAMA, *J. Antibiotics (Japan)* **2**, 107 (1949); H. UMEZAWA, K. MAEDA & H. KOSAKA, *Japan. med. J.* **1**, 512 (1948); K. MAEDA, *ibid.* **2**, 85 (1949); *J. Antibiotics (Japan)* **2**, 795 (1951).

und ebenso verschieden ist ihr papierchromatographisches Verhalten (vgl. Tabelle im experimentellen Teil). Aus den Analysen von Holomycin folgt die Bruttoformel $C_7H_6O_2N_2S_2$; es enthält also eine CH_2 -Gruppe weniger als das Thiolutin $C_8H_8O_2N_2S_2$. Wie das letztere besitzt das Holomycin eine (C) CH_3 -Gruppe und spaltet bei der energischen Hydrolyse ein Mol einer flüchtigen Säure ab. Im Gegensatz zum Thiolutin konnte aber keine (N) CH_3 -Gruppe nachgewiesen werden.

Die nahe Verwandtschaft zum Thiolutin ergibt sich auch aus dem chemischen Verhalten des Holomycins. Bei der sauren Hydrolyse wird unter Abspaltung von Essigsäure eine Base $C_5H_4ON_2$, die wir *Holothin* genannt haben, erhalten. Diese wurde als kristallines Hydrochlorid gefasst und charakterisiert (UV.-Absorptionsspektrum Fig. 1, Kurve 3; IR.-Absorptionsspektrum Fig. 2, Kurve 4). Für die Hydrolyse konnten dieselben Bedingungen angewandt werden, die sich für die Herstellung von Pyrrothin (III), des Grundkörpers von Thiolutin und Aureothricin, bewährt haben⁴⁾. Bei der Acylierung von Holothin-hydrochlorid mit Säure-anhydriden lassen sich verschiedene N-Acyl-Derivate erhalten. Von diesen ist das N-Acetyl-Derivat identisch mit Holomycin. Die von uns hergestellten Derivate N-Propionyl- und N-Butyryl-holothin lassen sich papierchromatographisch (vgl. Tabelle im experimentellen Teil) und durch ihre IR.-Absorptionsspektren (vgl. Fig. 2, Kurven 1–3) eindeutig untereinander und von Holomycin unterscheiden.

Aus den analytischen und spektroskopischen Daten sowie den erwähnten chemischen Umsetzungen konnte geschlossen werden, dass dem Holomycin die Konstitution eines Des-N-methyl-thiolutins (IV) zukommt. Das Holothin (Des-N-methyl-pyrrothin) besitzt demnach die Formel V. Es ist erwähnenswert, dass sich das eigentümliche Gerüst des Holomycins auf einem biogenetisch plausiblen Weg in gleicher Weise vom Cystin durch Dehydrierung, Decarboxylierung und Ringschluss ableiten lässt (vgl. VIII), wie die Pyrrothin-Derivate vom N-Methyl-cystin⁶⁾.

Den Beweis für das Kohlenstoff-Stickstoff-Gerüst des Holomycins haben wir durch die Entschwefelung mit RANEY-Nickel erbracht, die unter gleichzeitiger Absättigung der beiden Doppelbindungen zum Hexahydro-desthiolomycin, $C_7H_{12}O_2N_2$ führt. Dieses wurde durch Misch-Smp. und IR.-Absorptionsspektrum (Fig. 2, Kurve 5) mit synthetischem 2-Acetylamino-5-methyl-pyrrolidon-(2) (IX) identifiziert.

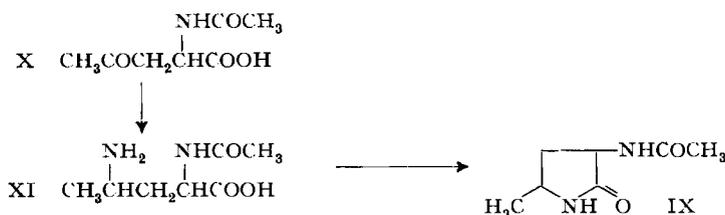
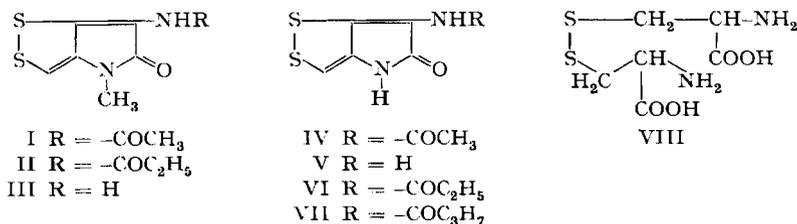
Die Synthese des 3-Acetylamino-5-methyl-pyrrolidons-(2) (IX) haben wir in Anlehnung an diejenige des Desthiolutins⁴⁾ durchgeführt. Für die Herstellung des Ausgangsmaterials, der α -Acetylamino-lävulinsäure (X), haben wir einen etwas einfacheren Weg eingeschlagen als CELMER & SOLOMONS⁴⁾. Acetylamino-malonsäure-diäthylester wurde mit Bromaceton kondensiert⁷⁾. Die Ester-Gruppen im Kondensationsprodukt liessen sich mit Natronlauge leicht verseifen, ohne dass die Acetylamino-Gruppe merklich angegriffen wurde. Durch thermische Decarboxylierung der α -Acetylamino-acetyl-malonsäure gelangte man in guter Ausbeute zur α -Acetylamino-lävulinsäure. Diese wurde in Gegenwart von Ammoniak mit Palladiumschwarz hydriert⁸⁾, wobei man als Zwischenprodukt in kristalliner Form die α -Acetyl-

⁴⁾ E. P. ABRAHAM, 4th International Congress of Biochemistry, Vol. 5, Pergamon Press, London, New York, Paris, Los Angeles 1958 (im Druck).

⁷⁾ O. WISS & H. FUCHS, Helv. **35**, 407 (1952).

⁸⁾ F. KNOOP & H. OESTERLIN, Z. physiol. Chem. **148**, 294 (1925); R. SCHOENHEIMER & S. RATNER, J. biol. Chemistry **127**, 301 (1939).

amino- γ -amino-valeriansäure (XI) fasste, die durch Vakuumdestillation bei etwa 200° das 3-Acetylamino-5-methyl-pyrrolidon-(2) (IX) lieferte. Von der letzteren Verbindung sind zwei racemische Diastereomere möglich. Bei der synthetischen Verbindung handelt es sich um das gleiche Diastereomere, welches bei der reduktiven Entschwefelung entsteht.



Holomycin zeigt eine antibiotische Wirkung sowohl gegen GRAM-positive und GRAM-negative Bakterien als auch gegen eine Reihe von Pilzen und Protozoen. *In vitro* wurde Hemmung bei folgenden Konzentrationen in $\mu\text{g/ml}$ beobachtet: *Micrococcus pyogenes var. aureus* 100, *Streptococcus pyogenes* 1, *Streptococcus faecalis* 100, *Escherichia coli* 10, *Salmonella Schottmülleri* 10, *Pseudomonas aeruginosa* 100, *Klebsiella* Typ A 10, *Vibrio cholerae el Tor* 10, *Mycobacterium tuberculosis* 10, *Candida vulgaris* 100, *Endomyces albicans* 100, *Entamoeba histolytica* 10, *Trichomonas foetus* 1. Holothin-hydrochlorid, N-Propionylholothin und N-Butyrylholothin besitzen eine deutliche, aber meistens geringere antibiotische Wirkung als Holomycin.

Experimenteller Teil ⁹⁾

Beschreibung des Organismus. Die Bodenprobe, aus welcher der Holomycin produzierende Stamm ETH. 17474 isoliert wurde, stammt aus Riccino, Italien. Der Stamm ist durch folgende Merkmale charakterisiert: 1. Sporen glatt; 2. Farbe des Luftmycels gelblich-grünlich-grau (*griseus*); 3. Sporenketten meist stark gewellt, sympodial verzweigte Büschel mit kurzer Hauptachse; 4. keine melanoide, schwarzbraune Verfärbung peptonhaltiger Nährböden. Auf Grund der neuen Anschauungen auf dem Gebiet der Streptomyceten-Systematik²⁾ betrachten wir diese vier Merkmalsgruppen (Sporenmorphologie, Luftmycelfarbe, Luftmycel-Morphologie und Melanin-Bildung) als genügend zur Art-Charakterisierung. In den angeführten Merkmalen stimmt unser Organismus mit *Streptomyces griseus* (KRAINSKY) WAKSMAN *et* HENRICI, beurteilt nach einem Streptomycin produzierenden Stamm, den wir von Prof. WAKSMAN 1945 erhalten haben (ETH. 4289) überein, weshalb wir den Stamm ETH. 17474 zu dieser Art stellen. Diese Bestimmung steht nicht im Widerspruch mit den Ansichten des «Subcommittee on the Taxonomy of the Actinomycetales», wonach eine vollständige Stamm-Charakterisierung auch die Farbe des Substratmycels enthalten soll. Bei unserem Stamm ist das Substratmycel weissgelb oder weissgrau bis sattgelb. Gleiche Farbtöne treten in der Art *Streptomyces griseus* häufig auf, weshalb keine Ursache besteht, den Organismus ETH. 17474 nicht mit dieser Art zu vereinigen.

⁹⁾ Die Smp. wurden unter dem Mikroskop bestimmt und sind korrigiert.

Züchtung und Isolierung. Für die Herstellung von Holomycin wurde der Stamm ETH. 17474 18 bis 24 Std. in Gärtankkultur bei 27° auf einer Nährlösung folgender Zusammensetzung gezüchtet¹⁰⁾: Fleischextrakt 0,3 g, Pepton 0,5 g, Rohglucose 1,0 g, NaCl 0,5 g, Kalk 1,0 g, Leitungswasser 100 ml. 146 l Kulturfiltrat, das man aus den Kulturen durch Abfiltrieren des Mycels erhalten hatte, wurden mit Äthylacetat extrahiert und der Auszug im Vakuum konzentriert, wobei 12,5 g eines dunkelbraunen zähen Öls zurückblieben. In gleicher Weise wurden aus 8500 l Kulturfiltrat 380 g eines Konzentrates gewonnen. Dieses wurde in vier Ansätzen zu 90–100 g an je 2 kg Aluminiumoxyd (Akt. III) chromatographiert. Mit abs. Chloroform und Chloroform-Methanol 99:1 liessen sich inaktive braune Verunreinigungen entfernen; der antibiotisch wirksame gelbe Farbstoff wurde dann mit je ca. 4–5 l Chloroform-Methanol 97:3 eluiert. Die Hauptmenge der schwarzbraunen Verunreinigungen blieben im oberen Teil der Kolonne adsorbiert.

Durch Eindampfen der aktiven Eluate im Vakuum erhielt man pro Ansatz etwa 15 g eines zähen, gelbbraunen Öls, das in 100 ml Äthylacetat aufgenommen wurde. Das Antibioticum fiel nach kurzer Zeit als tief orangegelber kristalliner Niederschlag aus, der nach mehrstündigem Stehen bei 0° abfiltriert wurde. Alle Ansätze zusammen lieferten 2,90 g *Holomycin*; die Mutterlaugen enthielten nur noch geringe Mengen an antibiotisch wirksamem Material.

Zur Analyse wurde *Holomycin* dreimal aus Methanol-Äthylacetat umkristallisiert und bei 80° im Hochvakuum getrocknet: glänzende orangegelbe, rautenförmige Blättchen, Smp. 264–271° (Zers.), Misch-Smp. mit Thiolutin⁴⁾ 240–250°.

$C_7H_6O_2N_2S_2$	Ber.	C 39,24	H 2,82	N 13,08	S 29,93	1 (C)CH ₃ 7,02	1 CH ₃ CO 20,09%
	Gef.	„ 39,25	„ 2,79	„ 13,07	„ 29,77	„ 7,04	„ 21,38%

Die Substanz enthält kein (N)CH₃. IR.-Absorptionsspektrum in KBr: Fig. 2, Kurve 1. UV.-Absorptionsspektrum in Feinsprit: Fig. 1, Kurve 1.

Holothin-hydrochlorid. 500 mg *Holomycin* wurden in 25 ml siedendem Dioxan mit 5 ml konz. Salzsäure versetzt⁴⁾. Nach 45 Min. Kochen wurde das Reaktionsgemisch abgekühlt und die ausgeschiedenen grünschwarzen Kristalle von rohem *Holothin-hydrochlorid* durch Filtration abgetrennt. Dieses wurde aus 90 ml heisser 2-n. Salzsäure umkristallisiert, Ausbeute 72% d. Th. Zur Analyse wurde ein zweimal umkristallisiertes Präparat 48 Std. bei 80° im Hochvakuum getrocknet. Die olivgrünen, metallisch schimmernden Blättchen verlieren bei 240–260° langsam ihre Doppelbrechung, schmelzen aber bis 300° nicht. IR.-Absorptionsspektrum in KBr: Fig. 2, Kurve 4. UV.-Absorptionsspektrum in Feinsprit s. Fig. 1, Kurve 3.

$C_5H_5ON_2S_2Cl$	Ber.	C 28,78	H 2,42	N 13,25	S 30,72	Cl 16,99%
	Gef.	„ 29,06	„ 2,54	„ 13,35	„ 30,56	„ 16,74%

133 mg rohes *Holothin-hydrochlorid* (bereitet durch Hydrolyse von 200 mg *Holomycin*) wurden in 13 ml Wasser gelöst und unter Rühren mit 2 ml Essigsäure-anhydrid versetzt. Das *Acetylholothin* schied sich fast momentan als orangegelber Niederschlag ab. Nach halbstündigem Stehen wurde abfiltriert und dreimal aus Methanol-Äthylacetat umkristallisiert. Das Produkt war nach Smp., IR.-Absorptionsspektrum und papierchromatographischem Verhalten identisch mit *Holomycin*.

$C_7H_6O_2N_2S_2$	Ber.	C 39,24	H 2,82	N 13,08%	Gef.	C 39,08	H 3,08	N 13,46%
-------------------	------	---------	--------	----------	------	---------	--------	----------

Propionylholothin (VI). 130 mg *Holothin-hydrochlorid* wurden wie oben mit 3 ml Propionsäure-anhydrid umgesetzt. Das Produkt wurde aus 60 ml Methanol-Äthylacetat umkristallisiert: orangegelbe Blättchen, Smp. 250–260° (Zers.). Zur Analyse wurde entweder im Hochvakuum bei 80° getrocknet oder bei 180°/0,05 Torr sublimiert.

$C_6H_8O_2N_2S_2$	Ber.	C 42,11	H 3,53	N 12,27	S 28,09%
	Gef.	„ 41,91	„ 3,45	„ 12,26	„ 28,17%

Das UV.-Absorptionsspektrum deckt sich völlig mit demjenigen von *Holomycin* (vgl. Fig. 1). IR.-Absorptionsspektrum in KBr s. Fig. 2, Kurve 2.

Butyrylholothin (VII). In gleicher Weise wurden aus 110 mg kristallisiertem *Holothin-hydrochlorid* und 2 ml Buttersäure-anhydrid in 18 ml Wasser das Butyryl-Derivat hergestellt. Das Reaktionsprodukt kristallisierte aus 3 ml Methanol in orangegelben rautenförmigen Blättchen

¹⁰⁾ Nähere Angaben über die Züchtung s. *Helv.* **38**, 935 (1955).

vom Smp. 215–218. Zur Analyse wurde entweder bei 80° im Hochvakuum getrocknet oder bei 180° im Hochvakuum sublimiert.

$C_9H_{10}O_2N_2S_2$ Ber. C 44,61 H 4,16 N 11,57 S 26,42%
Gef. „ 44,57 „ 4,25 „ 11,56 „ 26,10%

Das UV.-Absorptionsspektrum in Feinsprit ist deckungsgleich mit dem von Holomycin. IR.-Absorptionsspektrum in KBr s. Fig. 2, Kurve 3.

Papierchromatographie. Zur Trennung der Holothin- und Pyrrothin-Derivate wurde das Rundfilterverfahren verwendet. Die Präparate wurden in Äthylacetat auf den Startkreis aufgetragen. Sie waren durch ihre intensive gelbe Eigenfarbe bei Verwendung von 50–100 μ g pro Kreissektor gut erkennbar. Als Vergleichsverbindung wurde stets Thiolutin mitlaufen gelassen. Die Verhältnisse der Laufstrecken zur Laufstrecke des Thiolutins – die R_F -Werte – sind für zwei Systeme tabellarisch zusammengestellt.

System A¹¹⁾. Papier WHATMAN Nr. 1 in 10-proz. wässriger Natrium-m-kresotinat-Lösung getränkt und zwischen Fliesspapier abgepresst. Fließmittel: n-Butylacetat/di-n-butyläther 3:1, mit Natrium-m-kresotinat-Lösung gesättigt.

System B¹²⁾. Papier WHATMAN Nr. 1 in 20-proz. Lösung von Formamid in Aceton getränkt und einige Min. an der Luft getrocknet. Fließmittel: mit Formamid gesättigtes Benzol.

R_F-Werte in den Systemen A und B

	A	B		A	B
Thiolutin	1,00	1,00	Holomycin	0,78	0,10
Aureothricin	1,62	1,47	Propionylholothin	1,50	0,28
Butyrylpyrrothin	2,10	1,76	Butyrylholothin	1,87	0,52

Hexahydro-desthiolomycin (IX). 206 mg Holomycin und 2 g RANEY-Nickel wurden in 70 ml Feinsprit suspendiert 2 Std. unter Rückfluss gekocht. Die vom Katalysator abfiltrierte farblose Lösung wurde im Vakuum eingedampft und der Rückstand aus 2 ml Aceton umkristallisiert. Ausbeute 100 mg farblose Nadelchen, welche noch eine schwer entfernbare Verunreinigung enthielten, die sich vor allem durch eine Absorptionsbande im IR. bei 1725 cm^{-1} und durch zu tiefe N-Werte bemerkbar machte. Die Reinigung gelang schliesslich durch Chromatographie an aktivierter Kieselsäure. MALINCKRODT «standard-grade» Kieselsäure wurde durch Aufschlännen in Wasser von den am langsamsten sedimentierenden Anteilen befreit und mit Methanol, Aceton und Äther gewaschen. Danach liess man sie $\frac{1}{2}$ Std. mit 0,1-n. Salzsäure stehen, filtrierte ab und aktivierte durch 2std. Erhitzen auf 120–130° in einer 2 cm dicken Schicht. 35 mg des Entschwefelungsproduktes wurden in Chloroform-Lösung an einer Säule aus 3,5 g der so vorbehandelten Kieselsäure chromatographiert. Nachdem mit 35 ml abs. Chloroform und 25 ml Chloroform/Methanol 99:1 praktisch kein Material eluiert worden war, liessen sich mit 15 ml Chloroform/Methanol 19:1 25 mg einer kristallinen Verbindung erhalten, die nach einmaligem Umkristallisieren aus Aceton und Sublimation im Hochvakuum bei 188–189° schmolz. Diese gab mit dem synthetischen Vergleichspräparat keine Smp.-Erniedrigung, und die IR.-Absorptionsspektren (Fig. 2, Kurve 5) der beiden Präparate in KBr waren identisch.

$C_7H_{12}O_2N_2$ Ber. C 53,83 H 7,94 N 17,94% Gef. C 53,90 H 7,52 N 17,90%

α -Acetylamino-lävulinsäure (X). Als Ausgangsmaterial diente *α -Acetylamino-acetonyl-malonsäure-diäthylester*, der nach den Angaben von WISS & FUCHS⁷⁾ hergestellt wurde. 5,0 g Ester wurden in 18 ml heissem Alkohol gelöst und mit 25 ml 5-n. wässriger Natronlauge 30 Min. unter Rückfluss gekocht. Die im Vakuum auf die Hälfte eingeengte Lösung wurde unter Kühlung mit Eiswasser mit konz. Salzsäure angesäuert. Nach einigem Stehen in der Kälte fiel die farblose, kristalline *α -Acetylamino-acetonyl-malonsäure* aus, Ausbeute 3,5 g (88% d. Th.), Smp. 124–125° (Zers.). Die Decarboxylierung von 8 g Säure erfolgte durch langsames Erhitzen im Ölbad auf etwa 160°. Die anfangs heftige Gasentwicklung hörte nach 15 Min. auf. Der Rückstand wurde in

¹¹⁾ H. BROCKMANN & H. GRÖNE, Chem. Ber. **87**, 1036 (1954).

¹²⁾ A. ZAFFARONI, R. B. BURTON & E. H. KEUTMANN, Science **111**, 6 (1950).

200 ml heissem Äthylacetat gelöst und die heisse Lösung filtriert. Nach dem Erkalten fielen 5,45 g (85%) farblose, kristalline α -Acetylamino-lävulinsäure aus, Smp. 125–127°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum sublimiert.

$C_7H_{11}O_4N$ Ber. C 48,55 H 6,40 N 8,09 CH_3CO 24,86%
 Gef. „ 48,69 „ 6,30 „ 8,12 „ 25,27%

α -Acetylamino- γ -amino-valeriansäure (XI). 2,5 g α -Acetylamino-lävulinsäure wurden in 100 ml Feinsprit unter Zugabe von 10 ml konz. Ammoniak mit 2,5 g Palladiumschwarz 24 Std. hydriert. Der Rückstand, der beim Eindampfen der vom Katalysator abfiltrierten Lösung zurückblieb, wurde in 15 ml warmem Wasser gelöst. Die zum Sieden erhitzte Lösung wurde zuerst mit etwas Alkohol und dann bis zur bleibenden Trübung mit etwa 200 ml Aceton versetzt. Die α -Acetylamino- γ -amino-valeriansäure fiel dabei als farbloses kristallines Pulver aus und wurde nach 20std. Stehen bei 0° abfiltriert, Ausbeute 1,6 g (63%). Nach Umlösen aus Wasser-Alkohol-Aceton schmolz die Verbindung bei 223,5–224,5°. Sie spaltet schon bei 100° langsam Wasser ab und wurde deshalb drei Tage bei Zimmertemp. im Hochvakuum getrocknet, konnte jedoch auf diese Weise nicht ganz frei vom Lösungsmittel erhalten werden.

$C_7H_{14}O_3N_2$ Ber. C 48,26 H 8,10 N 16,08% Gef. C 47,38 H 8,15 N 15,78%

Das 2,4-Dinitrophenyl-Derivat wurde aus 54 mg der Säure hergestellt, die man unter Zusatz von 160 mg Natriumhydrogencarbonat in 4 ml Wasser löste und mit 140 mg 2,4-Dinitrofluorbenzol in 4 ml Alkohol 3 Std. stehen liess. Nach dem Entfernen des überschüssigen 2,4-Dinitrofluorbenzols durch Ausschütteln mit Äther wurde das Reaktionsgemisch mit Salzsäure angesäuert und mit Äthylacetat ausgezogen. Den Rückstand, der nach dem Abdestillieren des Äthylacetats im Vakuum zurückblieb, kristallisierte man dreimal aus Aceton-Petroläther um, Smp. 224–226°. Zur Analyse wurde bei 80° im Hochvakuum getrocknet.

$C_{13}H_{16}O_7N_4$ Ber. C 45,88 H 4,74 N 16,46% Gef. C 45,74 H 4,77 N 16,41%

3-Acetylamino-5-methyl-pyrrolidon-(2) (IX). 1,175 g α -Acetylamino- γ -amino-valeriansäure wurden in Ansätzen von etwa 170 mg bei 12 Torr langsam destilliert. Oberhalb 200° destillierte ein nahezu farbloses Öl, das bald kristallin erstarrte. Die vereinigten Destillate wurden aus 15 ml heissem Aceton umkristallisiert. Man erhielt 348 mg farblose Nadeln vom Smp. 185–187° und aus den Mutterlaugen 72 mg einer weniger reinen Verbindung. Zur Analyse wurde noch zweimal aus Aceton umkristallisiert und dann im Hochvakuum sublimiert, Smp. 190,5–191°.

$C_7H_{12}O_2N_2$ Ber. C 53,83 H 7,74 N 17,94% Gef. C 53,63 H 7,87 N 18,09%

Das synthetische Produkt gab keine Smp.-Erniedrigung mit Hexahydro-desthiolomycin, und die IR.-Absorptionsspektren der beiden Verbindungen waren identisch.

Die Analysen wurden im Mikroanalytischen Laboratorium des Organisch-chemischen Laboratoriums der ETH. (Leitung W. MANSER) ausgeführt.

Zusammenfassung

Das gelbe, lipophile Antibioticum *Holomycin*, $C_7H_8O_2N_2S_2$, welches aus den Kulturfiltraten des Actinomyceten-Stammes ETH. 17474 isoliert wurde, besitzt die Konstitution IV eines Des-N-methyl-thiolutins.

Forschungslaboratorium der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT,
 Pharmazeutische Abteilung, Basel
 Institut für spezielle Botanik
 und Organisch-chemisches Laboratorium
 der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich