

64. Synthesen in der Polymyxin-Reihe

7. Mitteilung¹⁾Synthese des hochaktiven cyclischen Decapeptids 7 α

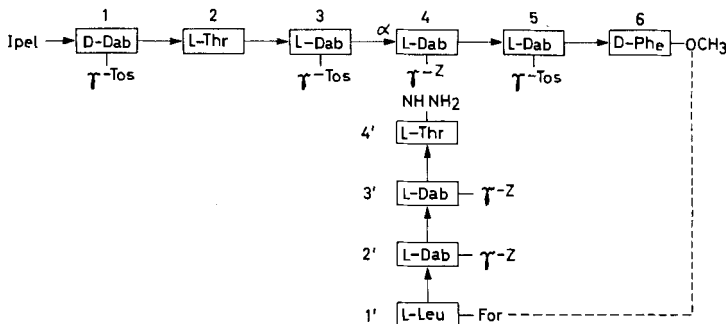
von R. O. Studer, W. Lergier und K. Vogler

(18. I. 63)

Im Zuge unserer Arbeiten über die Konstitutionsaufklärung des Polymyxins B₁ durch Synthese ist es uns vor einiger Zeit gelungen²⁾, von den vier auf Grund der Abbauresultate in Betracht fallenden möglichen Strukturen³⁾ zwei hochaktive Vertreter zu synthetisieren. Beide wiesen gegen *Brucella bronchiseptica* ATCC 4617 *in vitro* die gleiche antibiotische Aktivität²⁾ auf wie das Naturprodukt. Diese zwei Strukturen besitzen interessanterweise beide einen Ring mit 7 Aminosäuren.

Im folgenden wird nun über die Totalsynthese des cyclischen Decapeptids 7 α ausführlich berichtet.

Der synthetische Aufbau ist in der schematischen Darstellung Fig. 1 skizziert, die uns bereits früher⁴⁾⁵⁾ bei der Beschreibung der Strukturen 8 α und 8 γ gute Dienste leistete. Danach wird das bereits beschriebene⁶⁾, vollständig geschützte Hexapeptid 1–6 in 4- γ -Stellung durch Hydrogenolyse selektiv decarbobenzoxylisiert und damit in das Zwischenprodukt I mit freier 4- γ -Stellung übergeführt. An letzteres wird mit der Azid-Methode das Tetrapeptid For-L-Leu \rightarrow N γ -Z-L-Dab \rightarrow N γ -Z-L-Dab \rightarrow L-Thr⁷⁾ kondensiert und das verzweigte, offene, allseitig geschützte Decapeptid 7 α (II) in analy-

Fig. 1. Aufbauschema des cyclischen Decapeptids 7 α

¹⁾ 6. Mitteilung: R. O. Studer & K. Vogler, *Helv.* **45**, 819 (1962). – Dab = α,γ -Diaminobuttersäure, Ipel = Isopelargonsäure, Tos = Tosyl, Z = Benzylloxycarbonyl.

²⁾ K. Vogler, R. O. Studer, P. Lanz, W. Lergier & E. Böhni, *Experientia* **17**, 223 (1961).

³⁾ W. Hausmann, *J. Amer. chem. Soc.* **78**, 3663 (1956); G. Bizerte & M. Dautrevaux, *Bull. Soc. Chim. biol.* **39**, 795 (1957).

⁴⁾ K. Vogler, R. O. Studer, W. Lergier & P. Lanz, *Helv.* **43**, 1751 (1960).

⁵⁾ R. O. Studer, K. Vogler & W. Lergier, *Helv.* **44**, 131 (1961).

⁶⁾ R. O. Studer & K. Vogler, *Helv.* **45**, 819 (1962).

⁷⁾ K. Vogler & P. Lanz, *Helv.* **43**, 270 (1960).

senreiner Form gewonnen. Zur Cyclisierung des letzteren müssen zuerst die Schutzgruppen an den Kettenenden 1' und 6 entfernt werden. Die selektive Deformylierung gelingt mit HCl/Methanol⁸⁾ unter Verwendung von Dimethylformamid als Lösungsvermittler⁵⁾, wobei allerdings nur ein Rohprodukt (III) resultiert. Dieser Reaktionsschritt kann mittels quantitativer Ninhydrinreaktion⁵⁾ kontrolliert werden. Die Esterverseifung mittels wässriger Natronlauge und Dimethylsulfoxid als Lösungsvermittler führt in 92-proz. Ausbeute zum

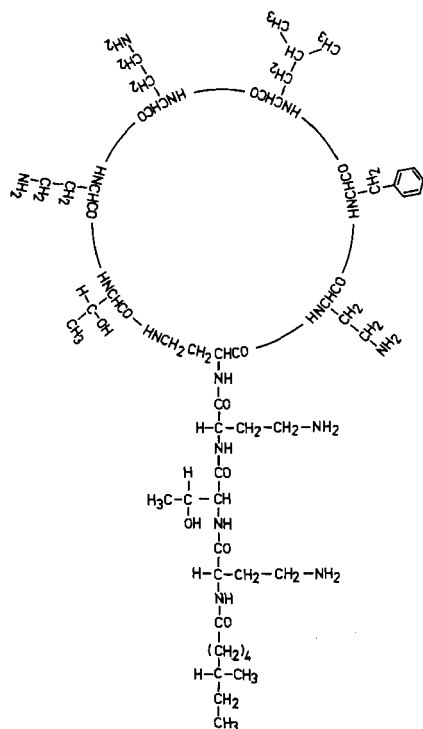


Fig. 2. Strukturvorschlag für das cyclische Decapeptid 7 α

ein Cyclisierungsprodukt, das nach der Verteilungskurve als einheitlich anzusprechen ist (2500 E/mg), aber noch NaCl enthält. Es wird 3mal aus Wasser mit eiskaltem Ammoniak gefällt, mit Wasser gewaschen, ins Hydrochlorid übergeführt und anschliessend lyophilisiert, wobei das Synthese-Endprodukt (Strukturvorschlag siehe Fig. 2) als lockeres, farbloses Pulver resultiert, das nach Tabelle (siehe experimenteller Teil) als rein und einheitlich anzusprechen ist.

Der einzig fassbare Unterschied gegenüber Polymyxin B₁ liegt im Drehwert. Für unser Syntheseprodukt erhielten wir ein $[\alpha]_{589}^{25} = -65,3^\circ$ (75-proz. wässriges Äthanol), während für Polymyxin B₁ unter gleichen Bedingungen ein $[\alpha]_{589}^{25} = -85,2^\circ$ ⁹⁾ ge-

⁸⁾ S. G. WALEY, Chemistry & Ind. 72, 107 (1953).

⁹⁾ W. HAUSMANN & L. C. CRAIG, J. Amer. chem. Soc. 76, 4892 (1954).

analysenreinen, offenen Decapeptid IV. Es empfiehlt sich das Peptid aus Pyridin/Wasser umzufällen, um sicher zu sein, dass die freie Aminogruppe nicht teilweise protoniert ist. Der Cyclisierungsschritt selbst wird wie früher⁴⁾⁵⁾ nach der SHEEHAN-Methode in grosser Verdünnung ausgeführt, wobei das Dicyclohexyl-carbodiimid (grosser Überschuss⁴⁾) in Dioxan vorgegeben und mit der ebenfalls verdünnten Dimethylformamidlösung des offenen Decapeptides versetzt wird. Wie schon früher festgestellt⁴⁾, bietet die Abtrennung des Dicyclohexylharnstoffes vom Cyclisierungsprodukt V keine Schwierigkeiten. Letzteres wird nach mehrmaligem Umfällen im Rohzustand weiterverarbeitet. Frühere Versuche haben ergeben, dass es sinnvoll ist, vor der weiteren Reinigung alle Schutzgruppen mit Na in flüssigem NH₃ zu entfernen, wobei ein stark mit NaCl verunreinigtes Rohprodukt VI mit einer Aktivität von ca. 300 E/mg gegen *Brucella bronchiseptica* resultiert. Durch anschliessende Gegenstromverteilung im System *n*-Butanol/Pyridin/Eisessig/Wasser (40 : 10 : 5 : 45) in zwei Schritten über insgesamt ca. 1800 Stufen erhält man

messen wurde. Dieses Resultat bildet auch gleichzeitig einen der physikalischen Beweise, dass unser Syntheseprodukt, dem wir die Struktur 7α zuschreiben, nicht mit natürlichem Polymyxin B_1 identisch ist. Plattenchromatographisch konnte 7α gegenüber B_1 nicht differenziert werden, obwohl ca. 50 Lösungsmittelsysteme durchgetestet wurden. Die IR.-Spektren erwiesen sich als identisch. Über die mikrobiologische Charakterisierung unseres Syntheseproduktes wird in der nächsten Mitteilung berichtet, in der die physikalische Charakterisierung gegenüber natürlichem Polymyxin B_1 zusammen mit dem cyclischen Decapeptid 7γ diskutiert wird.

Experimenteller Teil¹⁰⁾

1. *N α -Isopelargonyl-N γ -Tos-D- α , γ -diaminobutyryl-L-threonyl-N γ -Tos-L- α , γ -diaminobutyryl-L- α , γ -diaminobutyryl-N γ -Tos-L- α , γ -diaminobutyryl-D-phenylalanin-methylester-hydrochlorid (I-hydrochlorid). 4,2 g (0,003 Mol) des geschützten Hexapeptides Ipel \rightarrow N γ -Tos-D- α , γ -Dab \rightarrow L-Thr \rightarrow N γ -Tos-L- α , γ -Dab \rightarrow N γ -Z-L- α , γ -Dab \rightarrow N γ -Tos-L- α , γ -Dab-D-Phe-OCH₃⁶⁾ werden in 200 ml Methanol und 0,25 ml konz. HCl gelöst und über Palladiumkohle hydriert. Nach der Hydrierung wird vom Katalysator abfiltriert und zur Trockne verdampft. Das anfallende Hydrochlorid wird 2mal aus Methanol/Äther umgefällt; Ausbeute 3,5 g (88%). Smp. 188–189°; $[\alpha]_D^{22} = -7,2^\circ$.*

C₆₀H₈₇O₁₅N₁₀S₃Cl (1320,0) Ber. C 54,55 H 6,64 N 10,61% Gef. C 54,49 H 6,77 N 10,49%

Zur Freisetzung des Hexapeptides aus dem Hydrochlorid wird in Methanol gelöst und mit 1N eiskaltem wässrigem Ammoniak gefällt, abgenutscht, mit viel Wasser und Äther gewaschen und getrocknet.

2. *N α -Isopelargonyl-N γ -Tos-D- α , γ -diaminobutyryl-L-threonyl-N γ -Tos-L- α , γ -diaminobutyryl-N γ -[For-L-leucyl-N γ -Z-L- α , γ -diaminobutyryl-N γ -Z-L- α , γ -diaminobutyryl-L-threonyl]-L- α , γ -diaminobutyryl-N γ -Tos-L- α , γ -diaminobutyryl-D-phenylalanin-methylester (II). 2,22 g (0,003 Mol) For-L-Leu \rightarrow N γ -Z-L- α , γ -Dab \rightarrow N γ -Z-L- α , γ -Dab \rightarrow L-Thr-NHNH₂⁷⁾ werden in 25 ml Wasser, 35 ml Eisessig und 2,1 ml 3N HCl gelöst, auf -10° gekühlt und mit 207 mg (0,003 Mol) NaNO₂ in 5 ml Wasser versetzt. Nach 10 Min. Rühren bei -10° wird das Azid durch Zusatz von Eiswasser gefällt, abgenutscht, mit Eiswasser, eiskalter 5-proz. NaHCO₃-Lösung und Eiswasser gewaschen und scharf abgepresst. Es wird in eine kalte Lösung von 5,8 g (0,003 Mol) freiem Hexapeptid I in 50 ml Dimethylformamid eingetragen und bis zur vollständigen Lösung bei 0° gerührt. Dann wird die Lösung im Eiskasten über Nacht aufbewahrt und anschliessend das geschützte Decapeptid durch Zusatz von Alkohol gefällt. Es wird abgenutscht, mit Alkohol und Äther gewaschen und getrocknet. Nach nochmaligem Umfällen aus Dimethylformamid/Alkohol erhält man 2,2 g (37%) eines festen Produktes, Smp. 241–243°. $[\alpha]_D^{22,5} = -12,1^\circ$; ϵ bei 257 m μ = 1952 (100,63 mg%, Eisessig; ϵ ber. = 1957¹¹⁾).*

C₉₅H₁₃₂O₂₅N₁₆S₃ (1994,3) Ber. C 57,21 H 6,66 N 11,23% Gef. C 57,30 H 6,66 N 10,90%

3. *N α -Isopelargonyl-N γ -Tos-D- α , γ -diaminobutyryl-L-threonyl-N γ -Tos-L- α , γ -diaminobutyryl-N γ -[L-leucyl-N γ -Z-L- α , γ -diaminobutyryl-N γ -Z-L- α , γ -diaminobutyryl-L-threonyl]-L- α , γ -diaminobutyryl-N γ -Tos-L- α , γ -diaminobutyryl-D-phenylalanin-methylester (III) (durch Deformylierung von II). Die Lösung von 3,6 g Formyldecapeptid-methylester II in 110 ml Dimethylformamid wird auf 0° gekühlt und mit 110 ml 14 Tage bei 20° aufbewahrter 4N methanolischer Salzsäure versetzt. In Abständen von 1 Std. werden noch zweimal je 110 ml 4N HCl/Methanol zugegeben. Die so erhaltene Lösung wird über Nacht bei Raumtemperatur aufbewahrt; dann wird das Methanol im Vakuum bei 40° abdestilliert, der Rückstand in Eis gekühlt, bei 0° mit Triäthylamin auf ein pH von 8–9 eingestellt und in 1 $\frac{1}{2}$ l Eiswasser ausgerührt. Der entstandene Niederschlag wird abgenutscht, mit viel Wasser gewaschen und getrocknet. Die Substanz wird nochmals aus Dimethylformamid/1-proz. NaCl-Lösung gefällt, abgenutscht, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Ausbeute 3 g. Der Ninhydrinwert entspricht 1,0 NH₂-Gruppe⁵⁾.*

¹⁰⁾ Die Smp. wurden auf einem KOFLER-Block bestimmt und sind korrigiert. Die Drehungen wurden, wenn nichts anderes angegeben, in Dimethylformamid bei $c = 2$ bestimmt. Fehlergrenze $\pm 2^\circ$.

¹¹⁾ K. VOGLER, J. WÜRSCH, R. O. STUDER & P. LANZ, *Chimia* 14, 379 (1960).

4. *N^α-Isopelargonyl-N^γ-Tos-D-α,γ-diaminobutyryl-L-threonyl-N^γ-Tos-L-α,γ-diaminobutyryl-N^γ-[L-leucyl-N^γ-Z-L-α,γ-diaminobutyryl-N^γ-Z-L-α,γ-diaminobutyryl-L-threonyl]-L-α,γ-diaminobutyryl-N^γ-Tos-L-α,γ-diaminobutyryl-D-phenylalanin (IV) (durch Verseifung der Estergruppe von III).* Die Lösung von 25,5 g (0,013 Mol) Decapeptidester III in 390 ml Dimethylsulfoxid wird mit 19,5 ml (0,0195 Mol) 1N NaOH versetzt und 20 Std. unter Verschluss bei 20° stehengelassen. Darauf wird mit Eisessig auf pH 6 gestellt und durch Einrühren in 2 l 2-proz. Natriumchloridlösung gefällt. Der Niederschlag wird abgenutscht, mit Wasser und Äther gewaschen und getrocknet. Die Substanz wird aus Pyridin/Wasser umgefällt, abgenutscht, mit viel Wasser gewaschen und getrocknet. Ausbeute 23,5 g (92%). Aus der Mikrotitration wird 1,0 COOH-Gruppe errechnet.

$C_{93}H_{130}O_{24}N_{16}S_3$ (1953,2) Ber. C 57,21 H 6,71 N 11,48% Gef. C 56,93 H 6,90 N 11,31%

5. *Cyclisierung von IV zu V.* 8 g (0,0041 Mol) Decapeptid IV werden in 10 l Dimethylformamid gelöst und langsam in eine Lösung von 320 g Dicyclohexyl-carbodiimid in 40 l Dioxan eingerührt. Nach gutem Durchmischen wird die Lösung 5 Tage bei Raumtemperatur aufbewahrt. Darauf wird mit 350 ml 50-proz. Essigsäure versetzt und die Lösung im Hochvakuum bei 35° auf ca. 1 l konzentriert. Vom ausgefallenen Dicyclohexylharnstoff wird abgenutscht und das Filtrat zur Trockne verdampft. Der Rückstand wird in 200 ml Dimethylformamid gelöst, von einer weiteren Menge Dicyclohexylharnstoff abgenutscht und erneut im Hochvakuum bei 35° zur Trockne verdampft. Dieser Prozess wird noch 4mal wiederholt. Darauf wird in 100 ml Dimethylformamid gelöst und mit 2 l Äther/Petroläther 2:1 gefällt, filtriert, mit Äther gewaschen, wieder in 50 ml Dimethylformamid gelöst und mit Äther gefällt, filtriert, mit Äther gewaschen und getrocknet. – In analoger Weise werden noch zwei weitere Cyclisierungsexperimente mit je 6,5 g Decapeptid IV durchgeführt. Ausbeute aus allen drei Cyclisierungsansätzen 20,1 g (Rohprodukt).

6. *Entfernung der Schutzgruppen.* In 4 Ansätzen reduziert man je 5 g Rohprodukt V in 750 ml flüssigem Ammoniak mit 1,6 g Natrium (bis zu einer 20 Min. bestehenden Blaufärbung), setzt 3,8 g Ammoniumchlorid zu, verdampft das Ammoniak und entgast den Rückstand 1 Std. bei 25° im Vakuum. Der Rückstand wird in 100 ml Eiswasser gelöst, bei 0° mit 6N HCl auf pH 6 eingestellt, filtriert und das Filtrat lyophilisiert. Die Rohprodukte aller vier Reduktionen werden in Wasser gelöst, vereinigt und lyophilisiert. Man erhält 34 g Lyophilisat mit einer Aktivität von 300 E/mg gegen *Brucella bronchiseptica* ATCC 4617.

7. *Reinigung des Cyclisierungsproduktes.* – a) *Durch Gegenstromverteilung.* Das Rohprodukt (34 g, entsprechend ca. 11,9 Mill. Einheiten) wurde in zwei Chargen einer multiplikativen Verteilung über 180 Stufen im System *n*-Butanol/Pyridin/Eisessig/Wasser (40:10:5:45) unterworfen (Fig. 3). Die Verteilungskurve erhielten wir durch Umsetzen von je 0,2 ml unterer Phase mit FOLIN-DENIS-Reagens und Bestimmung der optischen Dichten bei 750 μ . Die Verteilung wurde zudem plattenchromatographisch kontrolliert (Laufmittel siehe unten). Die vereinigten Gläscheninhalte 100–140 beider Verteilungen wurden im Hochvakuum bei 20° konzentriert und anschlies-

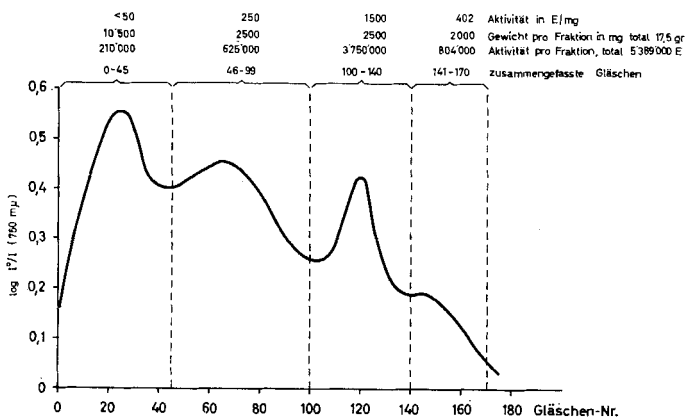


Fig. 3. *Gegenstrom-Verteilung des Cyclisierungs-Rohproduktes im System n-Butanol|Pyridin|Eisessig|Wasser (40:10:5:45)*

send lyophilisiert. Nach 2maligem Lyophilisieren erhielt man 5 g eines farblosen, lockeren Pulvers mit einer Aktivität von 1500 E/mg gegen *Brucella bronchiseptica* ATCC 4617.

Diese Substanz wurde ein zweites Mal im gleichen System über 1600 Stufen verteilt und die Hauptfraktion in analoger Weise wie oben aufgearbeitet. Man erhielt 1,3 g mit einer Aktivität von 2500 E/mg gegen *Brucella bronchiseptica* ATCC 4617.

b) *Umfällen über die freie Base*. Das so erhaltene Lyophilisat wurde in wenig Wasser gelöst. In die Lösung wurde unter Eis-Kochsalz-Kühlung NH_3 bis zur bleibenden Fällung eingeleitet. Nach 4 Std. Stehen unter Verschluss bei 0° wurde zentrifugiert, die Fällung 3mal mit wenig Eiswasser gewaschen, in Wasser suspendiert und lyophilisiert. Nach 2maligem Wiederholen der Gefrier-trocknung wurde die Base in 0,1N HCl gelöst und als Hydrochlorid lyophilisiert.

Diese ganze Operation des Umfällens über die freie Base wurde noch 2mal wiederholt, wodurch man schliesslich 200 mg Endprodukt erhielt, dessen analytische Charakterisierung in der Tabelle zusammengefasst ist.

Analytische Charakterisierung des Endproduktes

Charakterisierung	Cyclisierungsprodukt 7 α	Polymyxin B ₁
1. Papierchromatographie	Rf = 0,56	Rf = 0,57
2. Dünnschichtchromatographie	scharf begrenzter Fleck; wie Polymyxin B ₁ wandernd	siehe 7 α
3. Hochspannungselektrophorese	einheitlich; Wander- strecke ca. 11,9 cm	einheitlich; Wander- strecke ca. 11,9 cm
4. Chloranalyse (ber. 12,79%) $\text{C}_{58}\text{H}_{103}\text{O}_{13}\text{N}_{16}\text{Cl}_5$ (1385,79)	12,52%	12,88%
5. Freie Aminogruppen nach Ninhydrin- Bestimmung (ber. 5,0)	4,92 \pm 10%	5,0 \pm 10%
6. Spezifische Drehung $[\alpha]_{589}^{25} \pm 2^\circ$	-65,3° ($c = 0,5$, 75-proz. wässer. Äthanol)	-85,2° ($c = 0,5$, 75-proz. wässer. Äthanol ⁹⁾)
7. IR.-Spektrum	identisch mit demjenigen von B ₁	identisch mit dem- jenigen von 7 α
8. Totalhydrolyse-Aminosäureverhältnis (ber. Dab 6,0 Thr 2,0 Phe 1,0 Leu 1,0)	Dab Thr Phe Leu 6,5 1,75 0,9 1,0	Dab Thr Phe Leu 6,2 2,0 0,9 1,0
9. Dinitrophenylierung und Hydrolyse des DNP.-Peptides	kein DNP.-Leu	kein DNP.-Leu
10. Mikrobiologische Aktivität <i>in vitro</i>	6270 E/mg	6300 E/mg ¹²⁾

Erläuterungen zur Tabelle. – 1. Die Papierchromatographie wurde auf SCHLEICHER & SCHÜLL-Papier 2043 b mgl, gewaschen, 15 Std. absteigend, bei ca. 25° im Laufmittel *n*-Butanol/Pyridin/Eisessig/Wasser 30:20:6:24 durchgeführt. Aufgetragen wurden in der Regel 20 μg in 2 μl . Die Entwicklung erfolgte durch Besprühen mit einer 0,5-proz. alkoholischen Ninhydrinlösung und kurzes Erhitzen auf 100°.

2. Die Herstellung der Kieselgel-Platten und die Arbeitstechnik entsprechen den Originalangaben von STAHL¹³⁾. Als Laufmittel diente das gleiche Gemisch wie bei der Papierchromatographie. Die Laufzeit betrug 2–3 Std.; aufgetragen wurden ca. 5 μg in 1 μl .

3. Wir benutzten den Hochspannungs-Pherographen nach WIELAND & PFLEIDERER¹⁴⁾ der Firma L. HORMUTH, Heidelberg. Arbeitsbedingungen: Papier: SCHLEICHER & SCHÜLL 2043 b mgl,

¹²⁾ Dieser Wert von Polymyxin B₁⁹⁾, das nunmehr besonders rein erhalten wurde, ist gegenüber früheren Bestimmungen in diesem Plattentest höher.

¹³⁾ E. STAHL, Arbeitsvorschrift für Dünnschichtchromatographie, herausgegeben von der Firma C. DESAGA, GMBH, Heidelberg.

¹⁴⁾ TH. WIELAND & G. PFLEIDERER, *Angew. Chem.* 67, 257 (1955).

gewaschen; Elektrolyt: 2N Essigsäure (pH ca. 2,5); Feldstärke: 65 V · cm⁻¹; Versuchsdauer: 45 Min.; Kammertemperatur: +1° bis +3°.

4. Die Chloranalyse sowie alle übrigen Mikroanalysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung unter der Leitung der Herren Dres. H. WALDMANN und A. DIRSCHERL ausgeführt.

5. Zur Ermittlung der Anzahl freier Aminogruppen wurde das für Aminosäure-Bestimmungen viel gebrauchte Ninhydrin-Hydrindantin-Reagens pH 4,7 (s. z. B. R. A. BOISSONNAS¹⁵) verwendet, als Vergleichssubstanz wurde Polymyxin B₁ mitbestimmt.

6. Die Drehungsmessungen wurden in einem photoelektrischen Polarimeter mit Thermostat, das in unserer physikochemischen Abteilung durch Dr. F. BURKHARDT entwickelt wurde, aufgenommen.

7. Die IR.-Spektren wurden von Dr. L. H. CHOPARD-DIT-JEAN in Kaliumbromid (1 mg Substanz in 300 mg KBr) mit einem Infrarotspektrophotometer Marke PERKIN-ELMER, Mod. 21, aufgenommen.

8. Zur Totalhydrolyse wurden 2 mg Cyclisierungsprodukt in 1 ml 5,7N HCl gelöst (Pyrex-Bombenröhrchen) und eingefroren. Das Röhrchen wurde evakuiert, mit Stickstoff begast, zugeschmolzen und 24 Std. auf 110° erhitzt. Nach Entfernung der Salzsäure löste man das Hydrolysat in 0,1 ml Wasser und trug 5–10 µl 2,5 cm breit auf die Startlinie eines Chromatographie-Papieres auf, ebenso entsprechende Mengen einer Vergleichslösung, enthaltend Dab/Thr/Phe/Leu im Molverhältnis 6:2:1:1. Chromatographiert wurde über Nacht im Laufmittel *n*-Butanol/Eisessig/Wasser 4:1:1. Die Auswertung erfolgte nach Entwickeln mit Ninhydrin-Kupfer-Reagens durch direktes Photometrieren der gefärbten Banden im Densitometer¹⁶.

9. 2 µMol Cyclisierungsprodukt wurden nach SANGER¹⁷) dinitrophenyliert und das DNP-Peptid in 5,7N HCl totalhydrolysiert. Die extrahierten DNP-Aminosäuren wurden durch Dünnschichtchromatographie in *n*-Butanol, gesättigt mit 0,1-proz. Ammoniak, mit Hilfe krist. Reinpräparate von DNP.-Leu und γ-DNP.-Dab identifiziert.

10. Die Bestimmungen wurden ausgeführt von Fr. Dr. E. BÖHNI in unserer mikrobiologischen Abteilung (Leitung Prof. B. FUST) mit Hilfe des Plattentestes mit *Brucella bronchiseptica* ATCC 4617.

SUMMARY

The synthesis of an antibiotic substance to which we assign the structure 7α, one of the four possible formulas proposed for natural polymyxin B₁, is reported. Although both synthetic and the natural product have the same antimicrobial activity towards *Brucella bronchiseptica in vitro* (plate test), they are not identical, as shown by the lower optical rotation of the synthetic material.

Chemische Forschungsabteilung der
F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG. Basel

¹⁵) R. A. BOISSONNAS, Helv. 33, 1975 (1950).

¹⁶) K. RÖWE, E. FERBER & H. FISCHER, Z. physiol. Chem. 313, 174 (1958).

¹⁷) F. SANGER, Biochem. J. 39, 507 (1945).