

D,L-Desoxy-chloromycetin*.

(D,L-3-p-Nitrophenyl-2-dichloroacetamido-propanol-1.)

Von

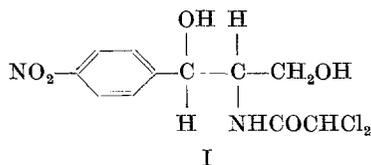
K. Eiter und E. Sackl.

Aus dem II. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

Mit 1 Abbildung.

(Eingelangt am 13. Sept. 1951. Vorgelegt in der Sitzung am 17. Jan. 1952.)

Chloromycetin (I), ein Antibiotikum aus *Streptomyces venezuelae*, wurde bereits auf verschiedenen Wegen synthetisiert. Alle beschriebenen Synthesen sind jedoch verhältnismäßig kompliziert bzw. technisch schwierig durchzuführen.



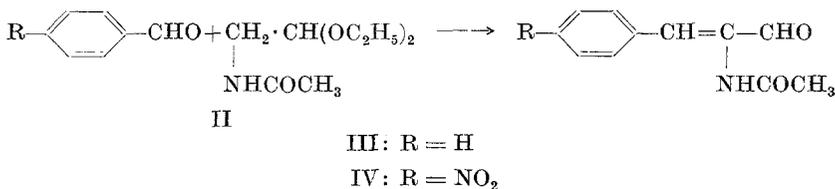
Es war nun naheliegend zu versuchen, Abkömmlinge des Chloromycetins herzustellen, die physiologisch einigermaßen wirksam und darüber hinaus einfach zu synthetisieren waren. Wir haben zu diesem Zwecke die 3-Desoxy-Verbindung (XVIII)¹ des Chloromycetins hergestellt; sie war gegen *Shigella sonnei* mit 300 Gamma/ml teilweise und mit 1000 Gamma/ml absolut hemmend. Zum Vergleich hierzu zeigt Chloromycetin von *Parke, Davis & Co.* absolute Hemmung mit 10 Gamma/ml und teilweise Hemmung mit 5 Gamma/ml.

Nachdem Modellversuche gezeigt hatten, daß Benzaldehyd mit der Acetylverbindung des Amino-acetaldehyd-diäthylacetals (II) nach *Knövenagel* zum α -Acetamido-zimtaldehyd (III) kondensierbar war,

* Herrn Prof. Dr. A. Zinke zum 60. Geburtstag gewidmet.

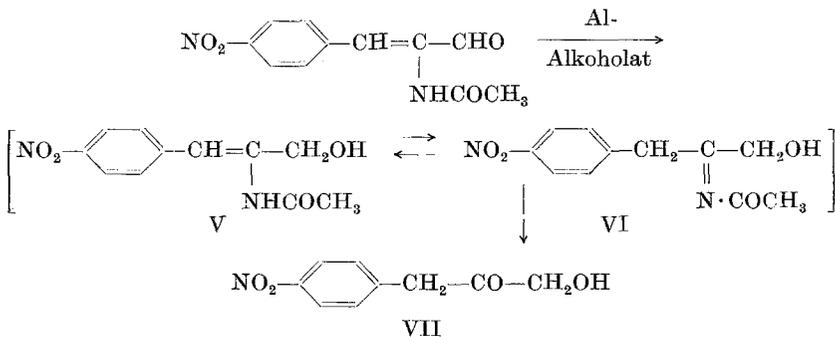
¹ Österr. Patent angemeldet.

haben wir in Analogie dazu p-Nitrobenzaldehyd mit dem N-Acetaminoacetaldehyd-diäthylacetal umgesetzt.



Da der dem Acetal entsprechende freie Aldehyd nicht beständig, die Kondensation jedoch nur beim Vorhandensein einer freien Carbonylgruppe durchführbar ist, mußte das Acetal aufgespalten werden; dies wurde dadurch erreicht, daß das Acetal mit p-Nitrobenzaldehyd in Eisessig in der Wärme bei Gegenwart von Piperidin kondensiert wurde. Wir erhielten dann in befriedigender Ausbeute den α -Acetamido-p-nitrozimtaldehyd (IV) als kristallisierte Verbindung, welche mit p-Nitrophenylhydrazin sofort ein orangerotes Hydrazon liefert.

Dieser Aldehyd sollte nun nach *Meerwein-Ponndorf* mit Al-Isopropylat zum entsprechenden ungesättigten Alkohol (V) reduziert werden; dieser Alkohol schien uns das gegebene Ausgangsmaterial für eine neue Synthese des Chloromycetins. Zu unserer Überraschung erhielten wir nur mit frisch destilliertem Al-Alkoholat und in schlechter Ausbeute eine Verbindung, der vielleicht die folgende Konstitution zukommt (VII):



Diese Reaktion scheint über die tautomere Form eines N-substituierten Ketimids (VI) zu verlaufen. Ein ähnlicher Reaktionsverlauf wurde kürzlich auch von *C. F. Huebner* und *C. R. Scholz*² beschrieben; diese Autoren erhielten bei der Hydrolyse von α -Dichloracetamido-p-nitrozimtsäure unter Abspaltung der substituierten α -Amidogruppe p-Nitrophenylbrenztraubensäure.

Dieses vermutliche p-Nitrophenyl-acetol (VII) gibt mit p-Nitro-

² J. Amer. chem. Soc. **73**, 2089 (1951).

phenylhydrazin in der Wärme einen Niederschlag von nicht definierter Zusammensetzung.

Die Reduktion des α -Acetamido-p-nitrozimtaldehyds (IV) zum gesättigten Alkohol (VIII) konnte nun nur, wollte man nicht mit dem teuren und an dieser Stelle Nebenreaktionen verursachenden LiAlH_4 ³ arbeiten, auf fermentativem Wege durchgeführt werden. Tatsächlich haben wir den Aldehyd in Rohrzuckerlösung 2 bis 3 Tage mit obergäriger Hefe vergoren und konnten nach Filtration des Hefebreies über Kieselgurpapier und nachfolgender Extraktion in guter Ausbeute das D,L-3-p-Nitrophenyl-2-acetamido-propanol-1 (VIII) erhalten. Interessanterweise war dieser Versuch trotz einer sehr großen Anzahl unter den verschiedensten Bedingungen angestellter Gärungen, bei denen Hefekonzentration, Temperatur, Zeit und pH variiert wurden, nicht reproduzierbar. Bei allen später durchgeführten Hydrierungen wurde nämlich immer ein Substanzgemisch erhalten, welches aus D,L-3-p-Nitrophenyl-2-acetamido-propanol-1 (VIII) und D,L-3-p-Nitrophenyl-3-acetamido-propanol-1 (IX) bestand. Zur Erklärung dieses sonderbaren Verhaltens bei der Hydrierung können wir nur annehmen, daß bei den ersten Reduktionsversuchen eben eine Hefe vorlag, welche reduzierte, ohne dabei umzulagern; Untersuchungen darüber sind noch im Gange.

Daß bei der fermentativen Reduktion des 3-p-Nitro- α -acetamidozimtaldehyds neben dem entsprechenden gesättigten Alkohol (VIII) 3-p-Nitrophenyl-3-acetamido-propanol-1 (IX) entstand, also während der Hydrierung teilweise Umlagerung der Acetamidogruppe von Stellung 2 des Propangerüsts nach Stellung 3 erfolgte, konnte, wie im folgenden näher ausgeführt wird, bewiesen werden.

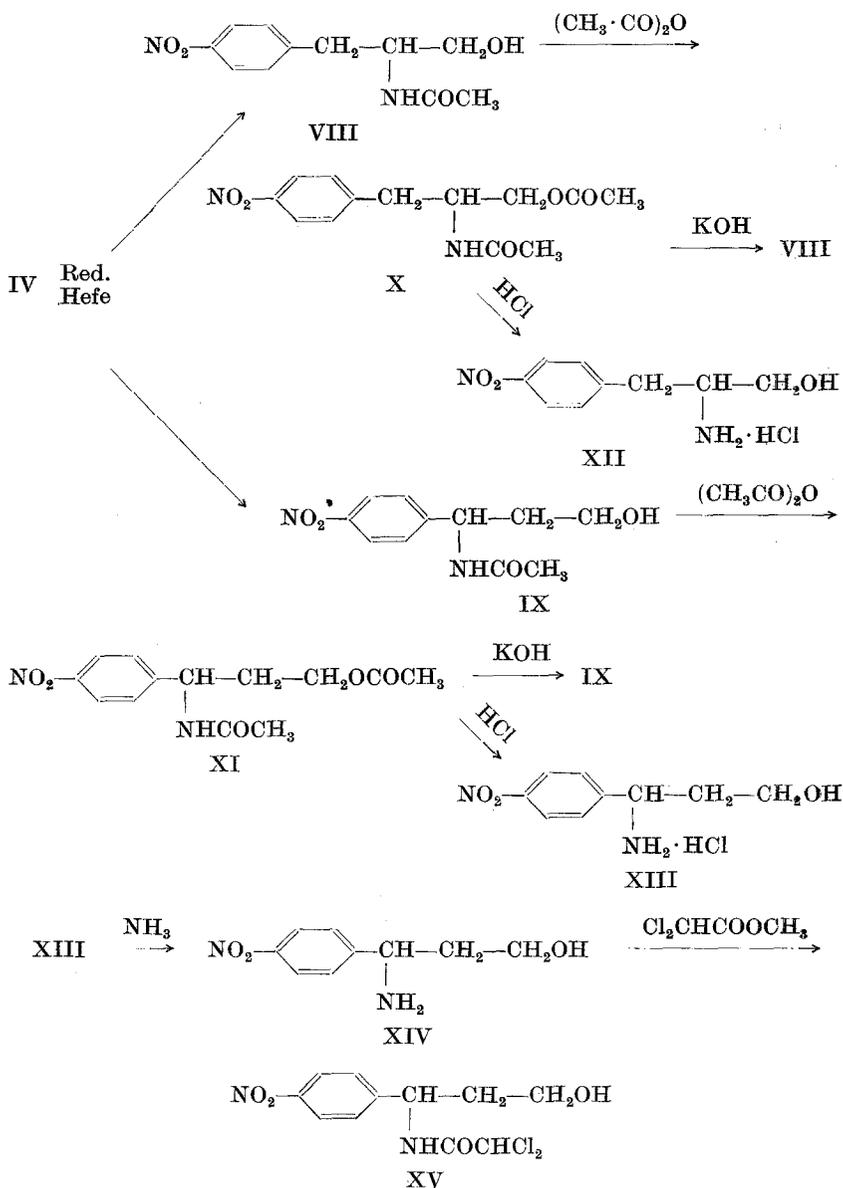
Bei der Aufarbeitung unseres ersten Gäransatzes erhielten wir D,L-3-p-Nitrophenyl-2-acetamido-propanol-1 mit dem Schmp. 133°, das nach dem Acetylieren mit Acetanhydrid die O,N-Diacetylverbindung (X) des optisch inaktiven p-Nitrophenyl-alaninols vom Schmp. 161° ergab. Dieses Diacetat lieferte bei der Verseifung mit verdünnter Salzsäure das Hydrochlorid (XII) des D,L-p-Nitrophenyl-alaninols mit dem Schmp. 179 bis 180°; wurde dieses Hydrochlorid reacetyliert, so entstand wieder das O,N-Diacetat des D,L-p-Nitrophenyl-alaninols (X) vom Schmp. 161°. Während diese Versuche durchgeführt wurden, erhielten wir Kenntnis von Arbeiten G. Carraras und Mitarbeiter⁴, S. M. Rebstocks und Mitarbeiter⁵ sowie A. Dornows und G. Winters⁶, die auf völlig anderem

³ Anmerkung bei der Korrektur: Beim Versuch, den p-Nitro- α -acetamidozimtaldehyd (IV) mit der berechneten Menge LiAlH_4 in der Kälte zu reduzieren, wurde gleichfalls p-Nitrophenyl-acetol erhalten.

⁴ Gazz. chim. Ital. **80**, 709 (1950).

⁵ J. Amer. chem. Soc. **73**, 3670 (1951).

⁶ Ber. dtsh. chem. Ges. **84**, 307 (1951).



Wege die Diacetylverbindung des D,L-p-Nitrophenyl-alaninols mit dem Schmp. 151° und dessen Hydrochlorid mit dem Schmp. 179 bis 180° hergestellt hatten. Da unsere Schmelzpunkte von denen der deutschen Autoren immerhin etwas nach oben abwichen, mußten wir aus Gründen der exakten Identitätsbestimmung ihre Angaben nacharbeiten. Wir

hatten D,L-Phenylalaninol acetyliert und nitriert und hierbei einen Körper erhalten, der den nicht ganz scharfen Schmp. 156 bis 158° zeigte. Im Gemisch mit unserem D,L-3-p-Nitrophenyl-2-acetamido-1-acetoxypropan (X) vom Schmp. 161° trat keine Depression auf. Das Hydrochlorid des D,L-p-Nitrophenylalaninols vom Schmp. 179 bis 180° zeigte sich mit p-Nitrophenylalaninol-hydrochlorid, das uns Herr Prof. *Dornow* in liebenswürdiger Weise zur Verfügung stellte, wofür wir an dieser Stelle herzlich danken, gleichfalls identisch.

Während bei der Nitrierung des D,L-Phenylalaninol-diacetats wahrscheinlich durch Spuren von isomeren Substanzen der Schmelzpunkt des entstandenen Nitrokörpers etwas herabgedrückt wird, besitzt die auf dem zuerst von uns beschriebenen Wege dargestellte Diacetylverbindung des D,L-p-Nitrophenylalaninols den höheren Schmp. von 161°.

Bei den übrigen Gäransätzen, bei denen gleichfalls mit Bäckereihefe wie beim ersten fermentativen Reduktionsversuch oder mit frischer Ansatzhefe bei Gegenwart oder Abwesenheit von Nährsalzen hydriert wurde, fiel nach der Aufarbeitung eines solchen Ansatzes eine ölige, äußerst schwer zur Kristallisation zu bringende Verbindung an, die einen Schmp. von 110 bis 130° zeigte. Es war dies das Gemisch von D,L-3-p-Nitrophenyl-2-acetamido-propanol-1 (VIII) und D,L-3-p-Nitrophenyl-3-acetamidopropanol-1 (IX). Zur Trennung der beiden Verbindungen haben wir das Gemisch mit Essigsäureanhydrid acetyliert und das Gemisch der beiden Diacetate mit dem Schmp. 161 bis 185° erhalten. Durch Umlösen aus Methanol läßt sich leicht das D,L-3-p-Nitrophenyl-3-acetamido-1-acetoxypropan (XI) vom Schmp. 185 bis 186° abtrennen. Aus den Mutterlaugen kann durch etwas mühevolleres Umlösen aus Benzol D,L-3-p-Nitrophenyl-2-acetamido-1-acetoxypropan (X) vom Schmp. 161° isoliert werden.

Das Diacetat vom Schmp. 185 bis 186° gibt beim Verseifen mit verd. Salzsäure das Hydrochlorid (XIII) des D,L-3-p-Nitrophenyl-3-amino-propanol-1 vom Schmp. 195°, das nach der Reacetylierung wieder ein Diacetat (XI) vom Schmp. 185 bis 186° liefert. Die Verseifung dieses Diacetats mit verd. Lauge ergibt D,L-3-p-Nitrophenyl-3-acetamido-propanol-1 vom Schmp. 134° (IX), wie es nach der Gärung des Zimtaldehyds (IV) im Gemisch mit dem isomeren D,L-3-p-Nitrophenyl-2-acetamido-propanol-1 (VIII) vom Schmp. 133° vorliegt. Verseifung des D,L-3-p-Nitrophenyl-3-acetamido-propanol-1 mit verd. Salzsäure liefert abermals das bereits beschriebene Hydrochlorid des D,L-3-p-Nitrophenyl-3-aminopropanol-1 vom Schmp. 195° (XIII), das nach Umsatz mit Ammoniak D,L-3-p-Nitrophenyl-3-aminopropanol-1 (XIV) mit dem unscharfen Schmp. 120 bis 123° ergibt. Wird nun dieses Amin mit Dichloressigsäuremethylester umgesetzt, so resultiert hieraus D,L-3-p-Nitrophenyl-3-dichloracetamido-propanol-1 (XV) vom Schmp. 146 bis

148°. Die biologische Aktivität dieser Verbindung wird zur Zeit geprüft und wir werden zu gegebener Zeit darüber berichten.

Die Elementaranalyse und die physikalischen Daten des *D,L*-3-*p*-Nitrophenyl-3-acetamido-1-acetoxypropans vom Schmp. 185° (XI) und des *D,L*-3-*p*-Nitrophenyl-2-acetamido-1-acetoxypropans vom Schmp. 158° (X) zeigten also, daß die beiden Verbindungen Stellungsisomere sind. Da jedoch ein strenger Konstitutionsbeweis durch Abbau in unserem Falle nur sehr schwer zu erbringen ist, wurde von den beiden Verbindungen ein Ultrarotspektrum aufgenommen, wofür wir Herrn Dr. *H. Tschamler* an dieser Stelle bestens danken.

Die Aufnahmen wurden mit einem Infrared-Spectrometer der Firma *Perkin-Elmer* (Mod. 12 C) mit Natriumchloridprisma (3 bis 15 μ) und automatischer Spaltveränderung gemacht.

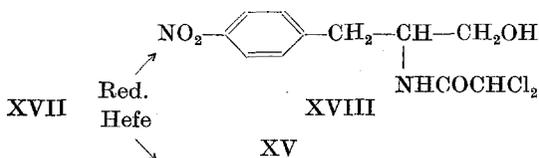
Aus den beiden Aufnahmen lassen sich eine Reihe von Banden den in beiden Molekeln vorhandenen speziellen Gruppen zuordnen: wie die NO_2 -Gruppe bei 6,4 bis 6,7 μ und 7,3 bis 7,7 μ , die Dehnfrequenz der NH -Gruppe bei 3,05 μ , die Dehnfrequenz der aromatischen CH -Gruppen bei 3,25 μ , die Dehnfrequenz der $\text{C}=\text{O}$ -Gruppe bei 5,8 μ , die Dehnfrequenzen der $\text{C}=\text{C}$ -Gruppen im aromatischen Ring bei 6,1 μ , 6,2 bis 6,3 μ und 6,6 bis 6,7 μ . Weiters sind in beiden Ultrarotspektren die symmetrischen $\text{H}-\text{C}-\text{H}$ -Knickschwingungen der CH_3 -Gruppe bei 7,25 bis 7,27 μ und die $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ -Dehnfrequenz in der Estergruppe bei 9,0 μ zu erkennen.

Differenzen der in beiden Aufnahmen auftretenden Banden bzw. ihrer Intensitäten, soweit sie aus diesen qualitativen Aufnahmen ablesbar sind, zeigen sich bei 7,65 μ , 8,45 μ , 9,03 μ , 9,61 μ , 9,80 μ , 11,7 μ , 12,1 μ , 13,5 μ . Über die bereits angeführten experimentellen Daten hinaus zeigen die Ultrarotspektren, daß die vorliegenden Verbindungen wohl weitgehend ähnliche Struktur besitzen, jedoch nicht identisch sind.

Daß bei der Reduktion des α -Acetamido-*p*-nitro-zimtaldehyds (IV) mit gärender Hefe nicht mehr ein substituierter *p*-Nitrozimtalkohol, sondern Dihydrozimtalkohole entstanden sind, geht nicht nur aus den analytischen Daten, sondern auch daraus hervor, daß die Diacetylverbindungen (X) und (XI) der Alkohole (VIII) und (IX) alkalische Kaliumpermanganatlösung auch in der Hitze nicht zu entfärben vermögen.

Durch Verseifung des bei der Hefereduktion anfallenden *D,L*-3-*p*-Nitrophenyl-2-acetamido-propanol-1 kann man also *D,L*-*p*-Nitrophenylalaninol herstellen, das nach Umsatz mit Dichloressigsäuremethylester *D,L*-Desoxy-chloromycetin ergibt.

Dieser Syntheseweg läßt sich wesentlich kürzen, wenn es gelingt, *p*-Nitrobenzaldehyd mit der *N*-Dichloracetylverbindung des Aminoacetaldehyd-diäthylacetals (XVI) umzusetzen.



Im Gemisch mit *D,L*-3-*p*-Nitrophenyl-3-dichloracetamido-propanol-1 (XV) vom Schmp. 146 bis 148° trat Schmelzpunktsdepression auf. Aus den Mutterlaugen konnte eine niedrigschmelzende Fraktion (131 bis 145°) isoliert werden, die die gleiche biologische Aktivität wie Desoxychloromycetin besitzt, sicherlich aber ein Gemisch von *D,L*-Desoxychloromycetin (XVIII) und *D,L*-3-*p*-Nitrophenyl-3-dichloracetamido-propanol-1 (XV) darstellt. *D,L*-Desoxychloromycetin zeigte die bereits eingangs angegebene bakteriostatische Wirkung. Das gleichfalls von *A. Dornow* und Mitarbeiter⁶ beschriebene *D,L*-*N*-Dichloracetyl-*p*-nitrophenyl-alaninol besitzt den Schmp. 154 bis 156°.

Für die Austestung unserer Verbindungen an Kulturen von *Shigella sonnei* möchten wir Herrn *H. Eibl* vom Sero-Therapeutischen Institut in Wien herzlich danken.

Experimenteller Teil⁷.

N-Acetamino-acetaldehyd-diäthylacetal (II).

10 g Aminoacetal wurden unter Kühlung mit 8,5 ml Essigsäureanhydrid vermischt und 2 Tage stehen gelassen; das Reaktionsprodukt wurde sodann mit Alkohol aufgenommen, der überschüssige Essigester im Wasserstrahlvak. vertrieben und das erhaltene Öl bei 0,1 Torr destilliert. In quantitativer Ausbeute geht bei 100° Luftbadtemp. das Acetal als farbloses Öl über.

$\text{C}_8\text{H}_{17}\text{O}_3\text{N}$. Ber. N 7,99. Gef. N 8,05.

p-Nitrophenylhydrazon des *N*-Acetyl-aminoacetaldehyds. *N*-Acetamino-acetaldehyd-diäthylacetal ergibt nach kurzem Erwärmen mit Eisessig am Wasserbad nach dem Versetzen mit einer gesättigten Lösung von *p*-Nitrophenylhydrazin in 30%iger Essigsäure einen gelben Niederschlag. Das Hydrazon schmilzt nach Umlösen aus Alkohol von 202 bis 204° u. Zers.

$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_3\text{N}_4$. Ber. N 23,72. Gef. N 23,69.

α -Acetamido-zimtaldehyd (III).

1 g frisch destillierter Benzaldehyd, 1,8 g *N*-Acetamino-acetaldehyd-diäthylacetal wurden mit 10 ml Eisessig und 5 Tropfen Piperidin 15 Min. im Ölbad zum Sieden erhitzt und 2 Tage im Dunkeln stehen gelassen. Das Lösungsmittel wurde im Wasserstrahlvak., die übrigen flüchtigen Bestandteile im Vak. der Ölpumpe bis zu einer Luftbadtemp. von 140° entfernt.

⁷ Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

Der dunkle gummiartige Rückstand wog 1,5 g und kristallisierte aus wenig Methanol-Äther nach Anreiben und längerem Stehen im Eis. Durch Destillation kleiner Substanzmengen bei 0,005 Torr konnte die Verbindung als farbloses, bald kristallisierendes Öl vom Schmp. 131° erhalten werden. Der α -Acetamido-zimtaldehyd ist in heißem Wasser und Alkohol gut, in Äther schwer löslich.

$C_{11}H_{11}O_2N$. Ber. C 69,82, H 5,86. Gef. C 69,71, H 5,99.

α -Acetamido-p-nitrozimtaldehyd (IV).

Ein Gemisch aus 1,5 g p-Nitrobenzaldehyd, 1,8 g N-Acetamino-acetaldehyd-diäthylacetal und 15 ml Eisessig wurden mit 3 Tropfen Piperidin versetzt und 10 Min. im Ölbad (zirka 140°) mit aufgesetztem Rückflußkühler erhitzt; der Kolbeninhalt war nach dieser Zeit dunkelbraun geworden. Nach abermaligem Zusatz von 3 Tropfen Piperidin ließ man verschlossen über Nacht stehen. Als nach Entfernung des Eisessigs im Wasserstrahlvak. der verbleibende dicke Sirup mit etwas Methanol versetzt wurde, begann die Substanz rasch zu kristallisieren, was öfters auch bereits schon beim Abdampfen des Eisessigs der Fall war. Aus Methanol umgelöst, erhält man den α -Acetamido-p-nitrozimtaldehyd in hellgelben Nadeln vom Schmp. 204°. Ausbeute 35 bis 40%.

$C_{11}H_{10}O_4N_2$. Ber. C 56,41, H 4,30, N 11,96.
Gef. C 56,36, H 4,36, N 12,08.

p-Nitrophenylhydrazon des α -Acetamido-p-nitrozimtaldehyds.

Der in Essigsäure gelöste und mit Wasser auf eine Gesamtsäurekonzentration von 50% gebrachte Aldehyd wurde mit einer kalt gesättigten Lösung von p-Nitrophenylhydrazin in 30%iger Essigsäure versetzt; das Hydrazon fiel alsbald in orangeroten Nadeln aus, welche nach dem Absaugen und Waschen des Niederschlages den Schmp. 262 bis 265° u. Zers. zeigten.

$C_{17}H_{15}O_5N_5$. Ber. N 18,96. Gef. N 18,62.

Reduktion des α -Acetamido-p-nitrozimtaldehyds nach Meerwein-Ponndorf. 0,5 g Aldehyd wurden zu einer Lösung von 0,3 g Al-Isopropylat in 25 ml absol. Isopropanol in einer für diese Reaktionen üblichen Apparatur zugesetzt und bei einer Ölbadtemp. von 115° 14 Stdn. erwärmt. Der Kolbeninhalt hatte sich während dieser Zeit rot gefärbt; nach dem Abdestillieren der Hauptmenge des Isopropanols unter gewöhnlichem Druck, der letzten Reste im Wasserstrahlvak., wurde der Rückstand mit Wasser zersetzt, mit wenig verd. Schwefelsäure angesäuert und mit Essigester wiederholt ausgeschüttelt. Dieser Extrakt ergab nach dem Entsäuern mit gesättigter $NaHCO_3$ -Lösung, Trocknen und Abdampfen des Lösungsmittels im Vak. ein teilweise kristallisiertes Öl; dieses wurde in kleinen Portionen im Hochvak. destilliert. Nach dem Abtrennen eines Vorlaufes wurde die bei 120 bis 140° Luftbadtemp. übergehende Fraktion isoliert; sie erstarrte alsbald und schmolz dann von 105 bis 109°. Umlösen aus Methanol-Äther-wenig Petroläther erhöhte den Schmp. auf 111 bis 112°; die Verbindung (VII) ist schwach gelb gefärbt.

$C_9H_9O_4N$. Ber. C 55,10, H 4,63, N 7,14.
Gef. C 55,44, 55,29, H 4,65, 4,78, N 6,94.

Reduktion des p-Nitro- α -acetamido-zimtaldehyds mit $LiAlH_4$. 0,3 g p-Nitro- α -acetamido-zimtaldehyd wurden in 30 ml absol. Tetrahydrofuran gelöst;

unter Kühlung und Rühren wurden 50 mg LiAlH_4 (berechnet für zwei Mole + 10% Überschuß) zugegeben. Nach einer Stunde wurde mit einigen Tropfen Wasser zersetzt, filtriert, nachgewaschen und das Lösungsmittel im Vak. entfernt. Der Rückstand wurde, wie oben angegeben, weiterverarbeitet. Die erhaltene Substanz schmolz von 111 bis 112° und gab im Gemisch mit dem bei der Reduktion nach *Meerwein-Ponndorf* erhaltenen *p*-Nitrophenylacetol keine Depression.

D,L-N-Acetyl-p-nitrophenyl-alaninol (VIII).

Die fermentativen Reduktionen des α -Acetamido-*p*-nitrozimtaldehyds wurden sowohl mit Bäckereihefe ohne Zusatz von Nährsalzen als auch mit vollkommen frischer Ansatzhefe der Firma *Mautner-Markhof* bei Gegenwart von Nährsalzen durchgeführt. Die Ausbeuten an reinem *D,L-N*-Acetyl-*p*-nitrophenyl-alaninol, welches bei unserem ersten Gärversuch, der nicht mehr reproduziert werden konnte, erhalten wurde, waren die gleichen, wie die bei allen folgenden Reduktionsversuchen erhaltenen Gemische von *D,L-N*-Acetyl-*p*-nitrophenyl-alaninol (VIII) und *D,L-3-p*-Nitrophenyl-3-acetamidopropanol-1 (IX).

Reduktion mit Bäckereihefe ohne Nährsalze.

In eine sterilisierte Lösung von 50 g Rohrzucker in 200 ml Leitungswasser wurden 30 g Bäckereihefe eingetragen und angären gelassen; in den heftig gärenden Ansatz wurden unter starkem Rühren 0,5 g α -Acetamido-*p*-nitrozimtaldehyd gegeben, wobei die Temp. während der 2 Tage aufrechterhaltenen Gärung zwischen 26° und 28° gehalten wurde. Beim Nachlassen der Gärung wurde nochmals eine gärende Hefelösung obiger Zusammensetzung zugefügt. Am Ende der Reaktion stellte sich das pH \sim 4 ein. Durch Zentrifugieren konnte die Hefe entfernt werden, die verbleibende gelbe Lösung wurde im Extraktor mit einem Gemisch von Äther und Essigester ausgezogen; der mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung gewaschene Extrakt hinterließ nach dem Abdampfen im Vak. ein helles dickliches Öl, das nach einigem Stehen kristallisierte. Rohausbeute 80% d. Th. Nach dem Umlösen aus Methanol-Äther unter Verwendung von Tierkohle resultierte das *D,L-N*-Acetyl-*p*-nitrophenyl-alaninol mit dem Schmp. 133°. Die Verbindung war optisch inaktiv.

$\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_4\text{N}_2$. Ber. N 11,76. Gef. N 11,40.

D,L-O,N-Diacetyl-p-nitrophenyl-alaninol, D,L-3-p-Nitrophenyl-2-acetamido-1-acetoxy-propan (X).

D,L-N-Acetyl-*p*-nitrophenyl-alaninol vom Schmp. 133° wird mit überschüssigem Essigsäureanhydrid über Nacht stehen gelassen. Sobald das überschüssige Anhydrid durch Versetzen mit Eiswasser zersetzt war, wurde die Lösung mit Äthylacetat ausgeschüttelt, mit NaHCO_3 -Lösung entsäuert, getrocknet und das Lösungsmittel im Vak. abgedampft. Der ölige Rückstand kristallisierte sofort auf Zusatz von wenig Methanol. Aus Methanol mehrmals umgelöst, schmilzt das Diacetat bei 161°.

$\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_5\text{N}_2$. Ber. N 10,00. Gef. N 9,75.

Zur Bestimmung der Identität wurde nach den Angaben von *A. Dornow*² *D,L*-Phenyl-alaninol acetyliert und nitriert. Das *D,L-p*-Nitrophenyl-alaninoldiacetat schmolz nach wiederholtem verlustreichem Umlösen aus Methanol

von 156 bis 158°. Im Gemisch mit dem Diacetat vom Schmp. 161° trat keine Depression auf.

Verseifung des D,L-O,N-Diacetyl-p-nitrophenyl-alaninols mit Salzsäure. 50 mg der Diacetylverbindung vom Schmp. 161° wurden mit 4 ml 5%iger HCl 1½ Stdn. am siedenden Wasserbad verseift. Das entstandene Hydrochlorid (XII) schmolz nach dem Umlösen aus Alkohol-Äther von 179 bis 180° und zeigt mit D,L-O,N-Diacetyl-p-nitrophenyl-alaninol von Dornow keine Schmelzpunktsdepression.

Reacetylierung des D,L-p-Nitrophenyl-alaninol-hydrochlorids. Das bei der obigen Verseifung erhaltene Hydrochlorid vom Schmp. 179 bis 180° wurde mit 2 ml Acetanhydrid und 50 mg geschmolzenem Natriumacetat 1 Std. am lebhaft siedenden Wasserbad erhitzt, mit Eis zersetzt und vorsichtig mit Natriumkarbonatlösung neutralisiert; es entstand eine Fällung, welche abgesaugt wurde. Diese Diacetylverbindung schmolz bei 161° und war mit D,L-O,N-Diacetyl-p-nitrophenyl-alaninol identisch.

Verseifung des D,L-O,N-Diacetyl-p-nitrophenyl-alaninols mit verd. Kalilauge. 100 mg der Diacetylverbindung vom Schmp. 161° wurden mit 15 ml n/10 KOH am Wasserbad vorsichtig durch Erwärmen in Lösung gebracht und über Nacht stehen gelassen; nach dem Neutralisieren mit verdünnter Essigsäure wurde mit Äthylacetat extrahiert, die Lösung getrocknet und das Lösungsmittel im Vak. abgedampft. Das zurückbleibende D,L-3-p-Nitrophenyl-2-acetamido-propanol-1 (VIII) schmolz nach dem Umlösen von 132 bis 133°.

Reduktion mit Ansatzhefe bei Gegenwart von Nährsalzen.

*D,L-3-p-Nitrophenyl-2-acetamido-propanol-1 (VIII) und
D,L-3-p-Nitrophenyl-3-acetamido-propanol-1 (IX).*

Eine sterilisierte Lösung von 120 g Rohrzucker in 1000 ml Leitungswasser, 11 g (NH₄)₂SO₄, 1,7 g (NH₄)₂HPO₄ wurden mit verd. Schwefelsäure auf pH 4,5 bis 4,8 eingestellt; hierauf gab man 20 ml Hefebrei zu und trug unter starkem Rühren 1 g α-Acetamido-p-nitrozimtaldehyd ein. Die Temp. war dieselbe wie beim obigen Gärversuch; nach 2½ Tagen wurde die Lösung über Kieselgurpapier filtriert, das klare Filtrat mit Äther-Äthylacetat extrahiert, der Extrakt mit gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen, getrocknet und im Vak. abgedampft. Es hinterblieb ein heller, schwer kristallisierender Sirup, der 0,9 g wog. Durch Anreiben mit Chloroform-Äther konnte schließlich ein Kristalliat erhalten werden, das von 110 bis 130° schmolz. Zur Auftrennung dieses Substanzgemisches wurden die vorliegenden Alkohole durch Stehenlassen mit Essigsäureanhydrid acetyliert. Nach dem Verdampfen des überschüssigen Essigsäureanhydrids verblieb eine Kristallmasse, welche von 158 bis 184° schmolz. Durch mehrmaliges Umlösen aus Methanol konnte D,L-3-p-Nitrophenyl-3-acetamido-1-acetoxy-propan (XI) vom Schmp. 185 bis 186° in schwach gelblichweißen Nadeln erhalten werden.

C₁₅H₁₆O₅N₂. Ber. C 55,70, H 5,75, N 10,00.

Gef. C 55,45, H 5,81, N 10,50.

Aus den methanol. Mutterlaugen wurde durch oftmaliges Umlösen aus Benzol D,L-3-p-Nitrophenyl-2-acetamido-1-acetoxy-propan (X) vom Schmp. 158 bis 160° erhalten. Die Ausbeuten an beiden Verbindungen waren wechselnd. Die UV-Absorptionsspektren (λ_{max}, min) von D,L-3-p-Nitrophenyl-2-acetamido-1-acetoxy-propan und D,L-3-p-Nitrophenyl-3-acetamido-1-acetoxy-propan waren erwartungsgemäß praktisch identisch.

Verseifung des D,L-O,N-3-p-Nitrophenyl-3-amino-propanol-1-diacetats. 50 mg der Diacetylverbindung (XI) vom Schmp. 185 bis 186° wurden, wie bereits beim Isomeren beschrieben, mit 5%iger HCl verseift und aufgearbeitet. Das aus Alkohol-Äther umkristallisierte Hydrochlorid schmolz bei 195°.



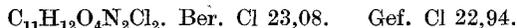
Reacetylierung des D,L-3-p-Nitrophenyl-3-amino-propanol-1-hydrochlorids. Wurde das bei der Verseifung erhaltene Hydrochlorid (XIII) vom Schmp. 195°, wie bereits beschrieben, mit Acetanhydrid und geschmolzenem Natriumacetat acetyliert, so entstand eine Verbindung, die nach dem Umlösen aus Methanol von 185 bis 186° schmolz. Der Mischschmp. mit D,L-3-p-Nitrophenyl-3-acetamido-1-acetoxy-propan (XI) vom Schmp. 185 bis 186° zeigte keine Depression.

D,L-3-p-Nitrophenyl-3-amino-propanol-1 (XIV).

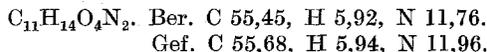
Das bei obiger Verseifung mit Salzsäure erhaltene Hydrochlorid vom Schmp. 195° ergab nach Umsatz mit verd. Ammoniak und Ausschütteln der wäbr. Lösung mit Äthylacetat D,L-3-p-Nitrophenyl-3-amino-propanol-1, das selbst nach öfterem Umlösen einen unscharfen Schmp. 120 bis 123° zeigte.

D,L-3-p-Nitrophenyl-3-dichloracetamido-propanol-1 (XV).

200 mg des Aminoalkohols vom Schmp. 120 bis 123° wurden mit 10 ml Dichloressigsäuremethylester 1 Std. am Wasserbad erhitzt. Nach dem Vertreiben des Esters im Vak. erhält man nach dem Umlösen aus Wasser D,L-3-p-Nitrophenyl-3-dichloracetamido-propanol-1 vom Schmp. 146 bis 148°.

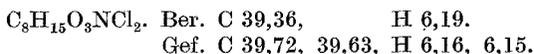


Verseifung des D,L-3-p-Nitrophenyl-3-acetamido-1-acetoxy-propans mit verd. Kalilauge. 100 mg der Diacetylverbindung vom Schmp. 185 bis 186° wurden mit 10 ml n/10 KOH in der bereits beschriebenen Weise verseift. Nach der Aufarbeitung wurde D,L-3-p-Nitrophenyl-3-acetamido-propanol-1 (IX) vom Schmp. 134° erhalten.



N-Dichloracetyl-amino-acetaldehyd-diäthylacetal (XVI).

Äquimolekulare Mengen von frisch destilliertem Aminoacetal und Dichloressigsäuremethylester wurden unter Kühlung vereinigt und 2 Tage bei Zimmertemp. stehen gelassen. Nach dem Erwärmen der Substanz am Wasserbad im Vak. verbleibt eine Verbindung, welche beim Abkühlen zu einem Kristallbrei erstarrt. Aus Äther-Petroläther umgelöst, schmilzt das Acetal bei 56°. Zur Analyse wurde im Vak. einer Ölpumpe destilliert. Die Verbindung geht bei zirka 100° Luftbadtemp. als farbloses, beim Animpfen erstarrendes Öl über.



p-Nitrophenylhydrason des N-Dichloracetyl-amino-acetaldehyds.

N-Dichloracetyl-amino-acetaldehyd-diäthylacetal ergibt beim kurzen Erwärmen mit Eisessig am Wasserbad nach dem Versetzen mit einer gesättigten

Lösung von p-Nitrophenylhydrazin in 30%iger Essigsäure einen gelben Niederschlag. Das entstandene Hydrazon schmilzt von 172 bis 175° u. Zers.

$C_{10}H_{10}O_3N_4Cl_2$. Ber. C 39,36, H 3,30.
Gef. C 39,94, 39,96, H 3,58, 3,62.

α -Dichloracetamido-p-nitro-zimtaldehyd (XVII).

4,48 g N-Dichloracetyl-amino-acetaldehyd-diäthylacetal, 2,78 g p-Nitrobenzaldehyd, 20 ml Eisessig und 5 Tropfen Piperidin wurden im Ölbad 20 Min. am Rückfluß erhitzt. In die noch warme Lösung ließ man 20 ml Wasser einfließen und dekantierte von dem sich hierbei abscheidenden Harz; nun wurden allmählich 30 ml Wasser zugesetzt und kristallisieren gelassen. Nach dem Waschen des abgeaugten Niederschlages mit Wasser und wenig Äther wird die anfänglich dunkle Substanz hell und stellt nach wiederholtem Umlösen aus Methanol-Äther schwach gelbe Kristalle vom Schmp. 175° dar. Ausbeute 1,3 g. Der α -Dichloracetamido-p-nitrozimtaldehyd ist in Äther schwer, in heißem Methanol leicht löslich. Durch Wasserdampfdestillation der Mutterlaugen kann der nicht zum Umsatz gelangte p-Nitrobenzaldehyd zurückgewonnen und für neue Kondensationen verwendet werden.

$C_{11}H_8O_4N_2Cl_2$. Ber. Cl 23,49. Gef. Cl 23,28.

p-Nitrophenylhydrazon. Das aus dem Aldehyd in üblicher Weise bereitete Hydrazon fällt nach dem Umlösen aus Alkohol in gelben Nadeln vom Schmp. 253 bis 254° u. Zers. an.

$C_{17}H_{13}O_5N_5Cl_2$. Ber. Cl 16,18. Gef. Cl 16,01.

*D,L-3-p-Nitrophenyl-2-dichloracetamido-propanol-1,
D,L-Desoxychloromycetin (XVIII).*

In eine sterilisierte Lösung von 500 ml Leitungswasser, 60 g Rohrzucker, 5,5 g Ammonsulfat und 0,85 g Diammoniumphosphat wurden unter starkem Rühren bei 26° bis 28° 10 ml frischer Ansatzhefe zugegeben und angären gelassen; in die stark gärende, auf pH 4,8 eingestellte Lösung brachte man 0,5 g α -Dichloracetamido-p-nitrozimtaldehyd. Zum Unterschied von den Lösungsbedingungen, wie sie bei der Reduktion der analogen N-Acetylverbindung beobachtet wurden, ging die N-Dichloracetylverbindung im Gär-gemisch nur äußerst schwer in Lösung. Da nach 24 Stdn. die Gärintensität wesentlich zurückging, wurden abermals 5 ml Hefebrei zugefügt; nach insgesamt 2 Tagen wurde die fermentative Hydrierung abgebrochen, von der Hefe über Kieselgurpapier abfiltriert und das klare Filtrat im Extraktor mit Äthylacetat-Äther extrahiert. Die weitere Aufarbeitung erfolgte wie beim Acetylanalogen. Das zuerst anfallende Öl kristallisierte aus Chloroform beim Stehenlassen im Eis und schmolz schließlich nach Umlösen aus Chloroform und Wasser von 152 bis 156°. Mit auf anderem Wege hergestelltem D,L-Desoxychloromycetin vom Schmp. 152 bis 156° trat keine Depression auf. Im Gemisch mit D,L-3-p-Nitrophenyl-3-dichloracetamido-propanol-1 vom Schmp. 146 bis 148° trat deutliche Schmelzpunktsdepression auf.

$C_{11}H_{12}O_4N_2Cl_2$. Ber. Cl 23,08. Gef. Cl 22,71.

Aus den Mutterlaugen konnte eine Fraktion isoliert werden, die von 131 bis 145° schmolz. Sie besaß die gleiche biologische Aktivität wie D,L-Desoxychloromycetin, stellt aber sicherlich ein Gemisch von D,L-Desoxy-

chloromycetin mit D,L-3-p-Nitrophenyl-3-dichloracetamido-propanol-1 dar.

Die Bestimmung der bakteriostatischen Wirkung des α -Dichloracetamido-p-nitrozimtaldehyds (XVII) und des D,L-Desoxychloromycetins (XVIII) im Vergleich zu D(-)-threo-Chloromycetin wurde mit dem Stamm 50 von *Shigella sonnei* durchgeführt.

Als Nährmedium wurde ein „Trypticase Soy Broth“ der Baltimore Biological Laboratory verwendet. Die Beimpfung des Nährbodens erfolgte mit $0,05 \text{ ml} = 5 \cdot 10^7$ Keime pro 5 ml Nährboden. Nach 24 Stdn. war bei 37°C unter diesen Bedingungen bei Chloromycetin eine komplette Hemmung bei 10 Gamma/ml und eine teilweise Hemmung bei 5 Gamma/ml beobachtet worden, α -Dichloracetamido-p-nitrozimtaldehyd zeigte eine teilweise Hemmung bei 1000 Gamma/ml, während D,L-Desoxychloromycetin in einer Konzentration von 1000 Gamma/ml komplette und mit 300 Gamma/ml eine teilweise Hemmung des Bakterienwachstums bewirkte.

Die Mikroanalysen wurden von Herrn Dr. G. Kainz im Mikroanalytischen Laboratorium des II. Chem. Universitätslaboratoriums ausgeführt.