

The NMR-spectrum of *N*-methylcrotsparine exhibited sharp singlets at 7.64 (3H), 6.17 (3H), 3.35 (1H) τ on account of a *N*-Me, OMe and one aromatic proton respectively. The 4 vinylic protons are responsible for the signals at 3.40–3.75 τ and 3.30–2.70 τ .

When treated with 3*N* hydrochloric acid, crotsparine is rearranged to apocrotsparine (II, $R_1 = R = H$) ($C_{17}H_{17}NO_3$). Apocrotsparine hydrochloride does not melt below 300 °C and maxima at 266, 276 and 305 nm ($\log \epsilon$, 1.02, 1.3, 0.9) in the UV-spectrum of apocrotsparine are characteristic of an aporphine oxygenated at position 3, 5 and 6^{5,8}. Similarly, *N*-methyl crotsparine furnishes apo-*N*-methyl crotsparine (II, $R_1 = Me$, $R = H$) ($C_{18}H_{19}NO_3$), (α)_D + 30 °C (*c*, 0.2 $CHCl_3$) under acidic conditions. This compound is also obtained from apocrotsparine on treatment with formaldehyde-formic acid. The hydrochloride of this aporphine melts at 284–286 °C (decomp.). The UV-spectrum of the product is identical with that of 3,5-dihydroxy-6-methoxy aporphine^{4,8} (II, $R_1 = Me$, $R = H$).

Direct comparison of the samples on thin layer chromatography established the identity of *N*-methylcrotsparine with that of glaziovine⁴. *N*-methyl crotsparine is, therefore, an enantiomer of glaziovine.

The proaporphine bases, crotonosine⁵, glaziovine⁴, procuciferine², and stepharine⁶ have positive rotation and

D-configuration. The isomerized aporphines of these bases having the same configuration are laevorotatory. *N*-methylcrotsparine is laevorotatory and the isomerized aporphine is dextrorotatory. Crotsparine should, therefore, have the L-configuration.

It is of interest that *C. sparsiflorus* Morong collected around Calcutta (Eastern India), yielded crotsparine with negative rotation whereas the same plant collected in Lucknow (North-Central, India) gave crotsparine with positive rotation⁹.

Zusammenfassung. Ein neues Proaporphin Alkaloid, Crotsparine genannt, wurde von *Croton sparsiflorus* Morong isoliert. Es wurde ihm die Formel (I, $R = R_1 = H$) angewiesen.

D. S. BHAKUNI and M. M. DHAR

Central Drug Research Institute, Lucknow (India),
26 June 1967.

⁸ T. KITAMURA, J. pharm. Soc. Japan 80, 1104 (1960).

⁹ We thank Dr. K. L. STUART for samples of Crotonosine and Base A, Dr. G. GILBERT for a sample of glaziovine and Dr. R. S. KAPIL for mass- and NMR-spectral determinations.

Flavomycoin, ein neues antifungales Polyantibiotikum

Die soeben erschienene Arbeit über die Mycoticine A und B¹ veranlasst uns, einige Ergebnisse mitzuteilen, die wir bei der Untersuchung eines Antibiotikums desselben Strukturtyps, dem Flavomycoin, erhielten.

Flavomycoin ist in bestimmten Eigenschaften, wie der UV-Absorption, der gelbgrünen Farbe, der Luft- und Lichtempfindlichkeit sowie dem antibiotischen Verhalten (Tabelle) den Antibiotika Mycoticin² und Flavofungin³ vergleichbar.

Flavomycoin wird von dem Streptomyces Stamm JA 5068⁴ gebildet, der zur Species *Streptomyces roseoflavus* ARAI, 1951 gehört, und aus dessen Mycel durch Extraktion mit Methanol gewonnen. Es kristallisiert aus wässrigem Alkohol in gelbgrünen Nadeln, die bei 161–163 °C schmelzen. Die spezifischen Drehungen wurden zu $[\alpha]_D^{25} = -45^\circ \pm 2^\circ$ (*c* = 1; Dioxan) und $[\alpha]_D^{25} = -4^\circ \pm 2^\circ$ (*c* = 4; Pyridin) bestimmt. Das IR-Spektrum (KBr-Pressling) zeigt Banden bei 750, 850, 940, 1010, 1100, 1235, 1440, 1580, 1620, 1705, 2940, 3020 und 3400 (breit) cm^{-1} . Massenspektrographisch wurde nach der Elektronenanlagerungsmethode⁵ ein Molgewicht von 721 ermittelt, woraus nach den analytischen Daten die Bruttoformel $C_{41}H_{69}O_{10} \times 2H_2O$ resultiert.

Ber.: C = 65,05%, H = 9,58%, O = 25,36%

Gef.: C = 64,49%, H = 9,35%, O (Diff.) = 26,16%

Auf Grund der genannten Daten ist Flavomycoin von den Mycoticinen und von Flavofungin zu differenzieren und demzufolge ein neuer Vertreter dieser Antibiotikagruppe.

Bei der katalytischen Hydrierung in Eisessig über Adams-Katalysator nimmt das Antibiotikum fünf Mole Wasserstoff auf.

Flavomycoin absorbiert bei Raumtemperatur im UV mit 2 Maxima bei 262 und 363 nm ($E_{1cm}^{1\%}$ 150 bzw. 860).

Vorläufige Ergebnisse eines Vergleiches der antimikrobiellen Wirksamkeiten von Flavomycoin und Flavofungin⁸ im Reihenverdünnungstest auf Agarplatten⁹

Testorganismen	Minimale Hemmkonzentration $\mu g/ml$	
	Flavomycoin	Flavofungin
<i>E. coli</i> SG 458 ^a	> 125	> 125
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633 ^a	125	62
<i>S. cerevisiae</i> ^b	16	31
<i>Hansenula anomala</i> SG 908 ^b	31	31
<i>Candida albicans</i> SG 916 ^b	31	31
<i>Candida albicans</i> SG 942 ^b	31	31
<i>Candida krusei</i> SG 937 ^b	31	31
<i>Candida tropicalis</i> SG 938 ^b	62	31
<i>Aspergillus niger</i> ^b	16	31
<i>Trichophyton mentagrophytes</i> var. <i>interdigitale</i> SG 955 ^b	16	16
<i>Microsporium gypseum</i> SG 956 ^b	16	16
<i>Microsporium canis</i> SG 959 ^b	4	8

^a auf Peptonagar; ^b auf Malzagar.

¹ H. H. WASSERMAN, J. E. VAN VERTH, D. J. McCaustland, I. J. BOROWITZ und B. KAMBER, J. Am. chem. Soc. 89, 1535 (1967).

² R. C. BURKE, J. H. SWARTZ, S. S. CHAPMAN und W. HUANG, J. invest. Derm. 23, 163 (1954).

³ J. URI und I. BÉKÉSI, Nature 181, 908 (1958). R. BOGNAR, I. FARKAS, S. MAKLEIT, M. RAKOSI, J. SOLTESZ, L. SOMOGYI und K. ZUPAN, Antibiotiki 10, 1059 (1965).

⁴ Die Stammbeschreibung erfolgt an anderer Stelle.

⁵ M. V. ARDENNE, K. STEINFELDER, R. TÜMLER und K. SCHREIBER, Experientia 19, 178 (1963); Angew. Chem. 73, 136 (1961).

Durch Aufnahme des UV-Spektrums bei -185°C erhielten wir eine Aufspaltung des breiten Maximums bei 363 nm in 3 Maxima bei 351 , 369 und 390 nm , die für die Absorption eines Polyens charakteristisch sind und formal 6 konjugierten Doppelbindungen entsprechen (Figur).

Der gleiche Effekt war erstmals bei der Dodekapeptätsäure beobachtet worden⁶. Nach Reduktion des Flavomycoins mit Lithiumaluminiumhydrid in Tetrahydrofuran-Pyridin bei -20°C zeigte das Reduktionsprodukt ein typisches Pentaen-Absorptionsspektrum mit Maxima bei 320 , 337 und 355 nm ⁷. Da andererseits bei der Reaktion mit Natriumborhydrid keine Veränderung des UV-Spektrums eintrat und weder Carboxyl- noch Estergruppierungen im Flavomycoin nachgewiesen wurden, folgt, dass der Pentaenchromophor mit der Laktone-carbonylgruppe des Grossringsystems in Konjugation

steht. Zu gleichen Schlussfolgerungen gelangten WASSERMAN et al.¹ bei der Untersuchung der um 5 bzw. 4 C-Atome ärmeren Mycoticine A und B.

Des weiteren erhielten wir bei der Messung der UV-Absorption des Flavofungins bei tiefer Temperatur sowie nach Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid analoge Ergebnisse wie bei Flavomycoin, so dass auch für Flavofungin eine Konjugation des Pentaens mit der Laktone-carbonylgruppe anzunehmen ist.

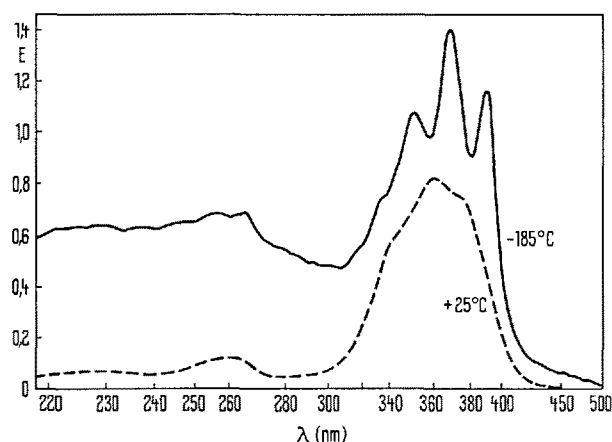
Somit wird durch die Antibiotika Mycoticin A und B, Flavofungin und Flavomycoin ein neuer Typ innerhalb der Polyenantibiotika repräsentiert, der durch die Aufnahme der UV-Spektren bei der Temperatur der flüssigen Luft leicht erkannt werden kann.

Über die weiteren Untersuchungen der Struktur des Flavomycoins sowie seine Bildung und Isolierung wird an anderer Stelle berichtet.

Summary. A new antifungal polyene antibiotic flavomycoine is described. By structural investigations it was shown that this antibiotic belongs to a new type of polyene antibiotics in which the pentaene chromophore is conjugated to the lactone carbonyl group.

R. SCHLEGEL und H. THURM

Institut für Mikrobiologie und experimentelle Therapie der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Jena (DDR), 6. Juli 1967.



UV-Absorption von Flavomycoin in Methanol/Äthanol (70:30) bei $+25^{\circ}\text{C}$ (----) und -185°C (—). Konzentration: $9,48\text{ }\mu\text{g/ml}$ Schichtdicke: 1 cm .

⁶ K. W. HAUSER, R. KUHN und G. SEITZ, Z. phys. Chemie, Abt. B, 29, 391 (1935).

⁷ W. OROSHNIK und A. D. MEBANE, Fortschr. Chem. org. Natstoffe, 21, 56 (1963).

⁸ Dozent Dr. J. URI, Pharmakologisches Universitätsinstitut Debrecen (Ungarn) danken wir für die freundliche Überlassung einer Probe Flavofungin.

⁹ Für die Durchführung der Wirksamkeitsbestimmungen sind wir Dipl.-Biol. R. FÜGNER und Dr. G. BRADLER zu Dank verpflichtet.

Gamma-hydroxybutyric Acid and Sleep

Gamma-hydroxybutyric acid (GHBA) induces sleep in a number of animals and man¹.

Although GHBA is structurally related to the central inhibitory substance, γ -aminobutyric acid (GABA), no evidence exists for the interconversion in vivo of these 2 compounds. Thus, despite the occurrence of GABA in the brain in a fairly high concentration, no endogenous GHBA has been detected². Also, administration of hypnotic dose of GHBA to mice and rats does not elevate the GABA level in the brain³. Thus, it can be concluded that GHBA-induced sleep is not a result of the accumulation of GABA in the brain.

The purpose of this communication is to report that despite the lack of elevation of the brain GABA level after GHBA administration, the latter is converted to the former without involving glutamic acid.

GHBA-1- C^{14} was incubated with rat brain homogenates and GABA, glutamine, and glutamic acid were separated by the method of BERL et al.⁴. The amino acids were counted using a Nuclear-Chicago scintillation spectrometer at an efficiency of 53%. As shown in Table I, the

specific activity of the isolated GABA was several folds higher than that of glutamic acid. Incubation of C^{14} -labelled glutamic acid or pyruvic acid under similar conditions always yielded GABA with specific activity lower than that of glutamic acid.

Moreover, incubation in the presence of 10^{-3} M semicarbazide, a glutamic acid decarboxylase inhibitor, re-

¹ H. LABORIT, Int. J. Neuropharmac. 3, 433 (1964).

² N. J. GIARMAN and R. H. ROTH, Science 145, 583 (1964). This paper refutes the claim of BESSMAN and FISHBEIN (Nature 200, 1207, 1963) that GHBA and its lactone are normal brain metabolites.

³ N. J. GIARMAN and K. F. SCHMIDT, Br. J. Pharmac. 20, 563 (1963). Although WOLLEMAN (Agressologie 4, 593, 1963) and PIETRA et al. (Nature 210, 733, 1966) reported observing a net increase in the GABA content of the brain after GHBA injection, we could not confirm these findings, regardless of when the animal was assayed after GHBA injection.

⁴ S. BERL, A. LAJTHA and H. WAELSCH, J. Neurochem. 7, 186 (1961).