

183. Stoffwechselprodukte von Actinomyceten.

10. Mitteilung¹⁾.

Die Konstitution des Kromycins, ein Abbauprodukt des Pikromycins

von R. Anliker und K. Gubler.

(4. VII. 57.)

In einer vorangehenden Arbeit²⁾ über die Konstitution des Pikromycins haben wir für dieses Stoffwechselprodukt verschiedener *Streptomyces*-Stämme die Struktur I bzw. Ia erstmals vorgeschlagen. Für das durch schwach saure Hydrolyse des Pikromycins in der Hitze leicht zugängliche Kromycin (II)³⁾ wurden damals zwei Strukturen in Erwägung gezogen, die sich lediglich in der Lage (2,3- oder 5,6-Stellung) einer der beiden Doppelbindungen unterscheiden. Wir möchten in der Folge Versuche beschreiben, die die Konstitution II für Kromycin streng beweisen.

Wie bereits erwähnt, entsteht bei der Überführung des Pikromycins (I bzw. Ia) in Kromycin eine neue Doppelbindung. Das Maximum im UV.-Spektrum erfährt dabei nur eine unwesentliche bathochrome Verschiebung von $225 \text{ m}\mu$ nach $226,5 \text{ m}\mu$, während sich die Intensität ($\log \epsilon = 3,98$ auf $\log \epsilon = 4,22$) stark erhöht. Da aber noch keine endgültigen Beweise vorliegen, ob im Kromycin der Aminozucker am C-Atom 3 oder 5 des Ringgerüstes gebunden ist, konnte die neu entstandene Doppelbindung aus naheliegenden Gründen entweder in Konjugation zur Lacton-Gruppe oder aber zum Carbonyl liegen. Im Hinblick auf eine Positionsbestimmung der Doppelbindung scheint es nahezuliegen, analoge, bekannte chromophore Systeme zum Vergleich heranzuziehen⁴⁾ und ⁵⁾. Da wir aber nicht wissen, inwieweit die sterischen Verhältnisse in einem 12-Ring die Lage und die Intensität der UV.-

¹⁾ 9. Mitt. R. Corbaz, L. Ettlinger, E. Gäumann, J. Kalvoda, W. Keller-Schierlein, F. Kradolfer, B. K. Manuhian, L. Neipp, V. Prelog, P. Reusser & H. Zähner, Helv. **40**, 1232 (1957).

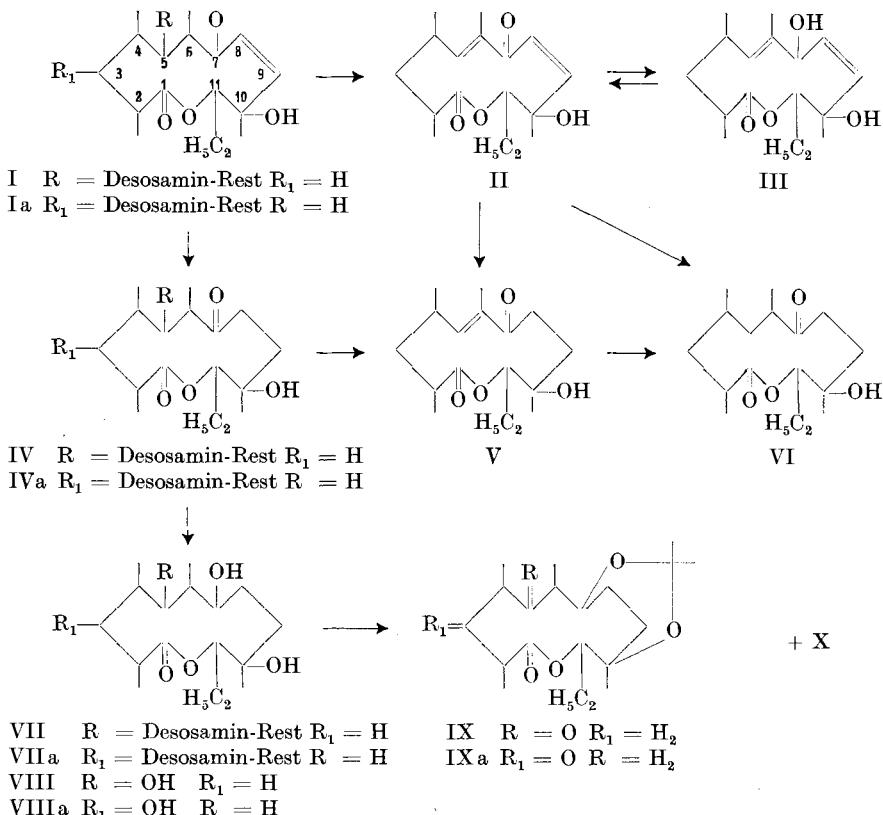
²⁾ R. Anliker & K. Gubler, Helv. **40**, 119 (1957).

³⁾ Nach unserem Verfahren gelingt es, diese Verbindung in über 60-proz. Ausbeute zu gewinnen.

⁴⁾ H. Brockmann & R. Oster, Chem. Ber. **90**, 605 (1957).

⁵⁾ Vergleiche dazu z. B. den Übergang von Dihydro-phoron in Phoron ($\lambda_{\max} 239 \text{ m}\mu$, $\log \epsilon = 4,05$ in $\lambda_{\max} 265,6 \text{ m}\mu$, $\log \epsilon = 4,36$; E. A. Braude & J. A. Coles, J. chem. Soc. **1950**, 2012); Δ^4 -Cholesten-3-on in $\Delta^{1,4}$ -Cholestadien-3-on (beide $\lambda_{\max} 234 \text{ m}\mu$, $\log \epsilon = 4,2$; H. H. Inhoffen & Huang-Minlon, Ber. deutsch. chem. Ges. **71**, 1720 (1938)); Pulegon in Piperitenon ($\lambda_{\max} 253 \text{ m}\mu$, $\log \epsilon = 3,84$ in $\lambda_{\max} 279 \text{ m}\mu$, $\log \epsilon = 3,85$, Y. R. Naves & G. Papazian, Helv. **25**, 1023 (1942)); sowie F. Bohlmann, Chem. Ber. **89**, 2198 (1956).

Absorptionsbanden von mehrfach ungesättigten – sogenannten gekreuzt konjugierten – Verbindungen beeinflussen, erscheint uns deshalb die Beweiskraft eines solchen Analogieschlusses als recht fraglich.



Kromycin (II) liess sich durch vorsichtige Reduktion mit Sodiumborhydrid in den zweifach ungesättigten, amorphen Alkohol III überführen, dessen UV.-Spektrum nur noch eine Endabsorption bei $210 \text{ m}\mu$ aufwies. Das IR.-Spektrum zeigte neben einer starken Hydroxylbande die Bande des Lactons bei 1730 cm^{-1} . Da weder das UV.- noch das IR.-Spektrum das Vorliegen einer α, β -ungesättigten Lacton-Gruppierung erkennen liessen, musste sich die fragile Doppelbindung im Kromycin (II) ebenfalls in Konjugation zur Carbonylgruppe befinden. Die Oxydation des Alkoholes III mit Mangandioxyd ergab in guter Ausbeute wieder Kromycin (II).

Eine weitere Stütze dieses Beweises bildet die gelungene partielle Hydrierung von Kromycin (II) zum bereits früher beschriebenen Dihydro-kromycin (V)²), welches sich wie Kromycin in Tetrahydro-kromycin (VI) überführen lässt. Die selektive Absättigung der 8,9-

Doppelbindung gelang mit einem Palladium-Katalysator nach *Lindlar*⁶⁾ in alkoholischer Lösung.

Pikromycin (I bzw. Ia) wie auch Dihydro-pikromycin (IV bzw. IVa) gehen bei der Anwendung von sehr milden Hydrolysebedingungen unter Verlust des Sauerstoffatoms, über welches das Desosamin am Ringgerüst gebunden ist, in Kromycin (II) bzw. Dihydro-kromycin (V) über. Dagegen konnte Desosamin im aus Dihydro-pikromycin (IV bzw. IVa) zugänglichen Dihydro-pikromycinol (VII bzw. VIIa) erst bei Behandlung in einem intensiv gerührten, siedenden Gemisch von 4-n. Schwefelsäure und Anisol abgespalten werden, was zeigt, dass offensichtlich die Carbonyl-Gruppe im Pikromycin (I bzw. Ia) und im Dihydro-pikromycin (IV bzw. IVa) eine Elimination stark begünstigt.

Aus den neutralen Anteilen der Spaltung liess sich – wenn auch in geringer Ausbeute – das Tetrahydro-pikronolid (VIII bzw. VIIIa) isolieren. Es ist dies das erste zuckerfreie Derivat des Pikromycins, in welchem der Brückensauerstoff zum Desosamin noch am Ringgerüst gebunden ist. Die Verbindung VIII bzw. VIIIa besitzt nach *Zerewitinoff* 3 aktive Wasserstoffe. Sie ist vollständig gesättigt und weist im IR.-Absorptionsspektrum neben einer intensiven Hydroxyl-Bande bei 3500 cm^{-1} eine Lacton-Bande bei 1720 cm^{-1} auf.

Erste Versuche, durch Oxydation des Tetrahydro-pikronolids (VIII bzw. VIIIa) zu einem 1,3- bzw. 1,5-Diketon zu gelangen, verliefen negativ. Dagegen führte die Oxydation in acetonischer Lösung mit schwefelsaurem Chrom(VI)-oxyd unter Verbrauch von nur einem Sauerstoff zu zwei kristallinen Verbindungen IX und X. Das unpolare Oxydationsprodukt IX vom Smp. $138-140^\circ$ wies im IR.-Absorptionsspektrum Banden bei 1740 und 1707 cm^{-1} auf, die einer Lacton-Gruppe und einem Carbonyl zuzuordnen sind. Wie auch die Verbrennungswerte zeigen, scheint sich unter Beteiligung der zwei Hydroxyle in Stellung 7 und 10 ein Acetonid der Konstitution IX bzw. IXa gebildet zu haben. Bei der Aufarbeitung des sauren Reaktionsgemisches ist sehr wahrscheinlich unter Spaltung der Acetonid-Gruppierung das entsprechende 7,10-Dihydroxy-keto-lacton X entstanden.

Infolge Übertrittes in einen neuen Wirkungskreis des einen von uns (R. A.) erfuhren die erfolgversprechenden Versuche bei diesem Stande einen vorzeitigen Unterbruch.

Wir danken der *CIBA Aktiengesellschaft* in Basel für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil⁷⁾.

Kromycinol (III). 57 mg reines Kromycin (II)²⁾, in $2,5\text{ cm}^3$ eines Gemisches von Dixan-Wasser (1:1) gelöst, wurden mit 25 mg Natriumborhydrid in $0,5\text{ cm}^3$ Wasser versetzt und 24 Std. bei 0° stehengelassen. Das Reaktionsgemisch verdünnte man mit Wasser und extrahierte mit Äther. Die mit Wasser gewaschene ätherische Schicht hinterliess nach

⁶⁾ *H. Lindlar*, *Helv.* **35**, 446 (1952).

⁷⁾ Alle Smp. wurden in einer evakuierten Kapillare bestimmt und sind korrigiert.

dem Verdampfen des Lösungsmittels 51 mg einer amorphen Verbindung, welche in Feinsprit gelöst im UV. kein charakteristisches Absorptions-Maximum mehr zeigte.

Kromycin (II) aus Kromycol (III). 48 mg amorphes Kromycol (III) wurden mit 250 mg aktivem Mangandioxyd⁸⁾ in 15 cm³ reinem, frisch bereitetem Chloroform während 24 Std. geschüttelt. Eine dem Reaktionsgemisch entnommene Probe zeigte im UV. in Feinsprit gelöst ein Maximum bei 226 m μ , $\log \epsilon = 3,954$. Nach Zugabe von weiteren 250 mg Mangandioxyd wurde über Nacht geschüttelt und anschliessend filtriert. Mit Chloroform wurde gut ausgewaschen und die Filtrate eingedampft. Der ölige Rückstand (42 mg; $\lambda_{\text{max}} 227 \text{ m}\mu$, $\log \epsilon = 4,01$) kristallisierte aus Aceton-Äther-Petroläther in Prismen (16 mg), welche bei 167–168° schmolzen und sich nach Misch-Smp., UV.- und IR.-Spektrum⁹⁾ mit Kromycin als identisch erwiesen.

Kromycin (II)²⁾. 5,213 g Pikromycin wurden in 100 cm³ kalter 1-n. Salzsäure gelöst, mit 1-n. Natronlauge unter Eiskühlung weitgehend neutralisiert, mit 0,1-n. Natronlauge auf ein pH von 6,5 eingestellt und 4 Std. unter Rückfluss gekocht. Dabei schieden sich bereits Kromyinkristalle aus der Lösung ab, welche nach dem Erkalten mit Äther extrahiert wurde. Aus dem Extrakt liessen sich 1,528 g neutrale Anteile abtrennen. Die wässrige Lösung (pH 5,1) wurde wieder auf ein pH von 6,5 eingestellt und nach Verdampfen des gelösten Äthers 4 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach Extraktion des erneut gebildeten Kromycins wurde diese Operation noch zweimal wiederholt. Die vereinigten Neutralteile (3,245 g) lieferten nach Kristallisation aus Äther-Petroläther 1,989 g Kromycin (60,5% Ausbeute) vom Smp. 169–174°. $\lambda_{\text{max}} 227 \text{ m}\mu$, $\log \epsilon = 4,19$ (in Feinsprit).



Dihydro-kromycin (V)²⁾ aus Kromycin (II). 200 mg Palladium-Katalysator nach Lindlar⁶⁾ wurden in 20 cm³ Feinsprit vorhydriert. Nach Zugabe von 200 mg (0,675 mMol) reinem Kromycin (Smp. 173–174°) in 20 cm³ Feinsprit wurde unter Wasserstoff geschüttelt.

Nach 70 Min. waren 18,1 cm³ (0,71 mMol) Wasserstoff verbraucht, worauf die Hydrierung unterbrochen wurde. Die filtrierte Reaktionslösung dampfte man ein und adsorbierte den Rückstand (200 mg) an 8 g Aluminiumoxyd (Akt. III). Mit Petroläther-Benzol (1:2) und Benzol liessen sich insgesamt 76 mg Dihydro-kromycin vom Smp. 142 bis 144° eluieren. Nach viermaligem Umkristallisieren aus Äther-Petroläther schmolz das reine Präparat bei 148–149°, zeigte in Chloroform gelöst im UV. ein Absorptionsmaximum bei 232 m μ , $\log \epsilon = 3,98$, und wies ein IR.-Spektrum auf, das mit demjenigen eines authentischen Präparates identisch ist. $[\alpha]_D^{20} = +3,06^\circ$ (c = 1,401 in Chloroform).

Dihydro-pikromycin (VII bzw. VIIa). Einer Lösung von 2,75 g rohem Dihydro-pikromycin (IV bzw. IVa) in 100 cm³ Dioxan-Wasser (8:2) setzte man bei 0° 1,2 g Natriumborhydrid in 20 cm³ Wasser zu und liess 1 Std. bei 0° und 2 Std. bei Zimmertemperatur stehen. Anschliessend wurde mit 3 Volumen Wasser verdünnt und mit Äther extrahiert. Der neutral gewaschene Extrakt hinterliess nach dem Eindampfen 2,783 g amorphes, farbloses Dihydro-pikromycin. IR.-Absorptionsspektrum (in Chloroform): Banden bei 3500 cm⁻¹ (C—OH, stark) und 1725 cm⁻¹ (Lacton). Keine Carbonylbande.

Tetrahydro-pikronolid (VIII bzw. VIIa). Eine Lösung von 2,7 g rohem Dihydro-pikromycin (VII bzw. VIIa) in 50 cm³ Anisol wurde mit 50 cm³ 4-n. Schwefelsäure unter schichtet. Anschliessend tauchte man das Reaktionsgefäß in ein Ölbad von 155° wobei das intensiv turbinierte Gemisch innerhalb von 2 Min. zu sieden begann. Nach weiteren 8 Min. wurde dieses mit Eiswasser abgekühlt und mit Äther verdünnt. Die organische Schicht wurde der Reihe nach mit Wasser, ges. Natriumhydrogen-carbonat-Lösung und mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Den neutralen Rückstand (1,271 g) adsorbierte man an 38 g Aluminiumoxyd (Akt. III). Aus den Äther-Methanol (95:5)-Frak-

⁸⁾ Herstellung nach O. Mancera, G. Rosenkranz & F. Sondheimer, J. chem. Soc. 1953, 2189.

⁹⁾ Die IR.-Absorptionsspektren wurden mit einem Perkin-Elmer-Double-Beam-Spectrograph 21 von Fr. E. Aeberli aufgenommen.

tionen liessen sich insgesamt 109 mg reines Tetrahydro-pikronolid (VIII bzw. VIIIa) gewinnen. Feine Nadeln aus Methanol-Äther-Petroläther, vom Smp. 123—124°. $[\alpha]_D^{20} = +5,4^\circ$ ($c = 1,288$ in Feinsprit). IR.-Absorptionsspektrum (in Chloroform): Banden bei 3500 cm^{-1} ($\text{C}-\text{OH}$, s. stark) und bei 1720 cm^{-1} (Lacton).

$\text{C}_{17}\text{H}_{32}\text{O}_5$	Ber. C 64,52	H 10,19	H (aktiv) 0,96%
	Gef. ,	64,44	, 10,23 , , 0,89%

Oxydation des Tetrahydro-pikronolids (VIII bzw. VIIIa). Einer Lösung von 51 mg (0,16 mMol) Tetrahydro-pikronolid (VIII bzw. VIIIa) in 8 cm^3 Aceton wurden unter Rühren bei 0° innerhalb von 40 Min. $0,81\text{ cm}^3$ Chrom(VI)-oxyd-Schwefelsäure-Lösung¹⁰⁾ (0,32 mMol aktiven Sauerstoff enthaltend) zugetropft. Die anfänglich rasch verlaufende Oxydation schien vor Zugabe des gesamten Reagens beendet zu sein. Anschliessend wurde noch 10 Min. gerührt und dann mit Äther verdünnt. Die organische Schicht hinterliess nach dem Waschen mit Wasser, ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser 49 mg neutrale Substanz. In der schwefelsauren, wässrigen Lösung wurde überschüssiges Oxydationsmittel jodometrisch gemessen. Es waren nur 0,18 mMol Sauerstoff verbraucht worden.

Der neutrale Anteil (49 mg) wurde an Aluminiumoxyd (Akt. III) adsorbiert. Die Petroläther-Benzol (9:1, 8:2 und 1:1)-Fraktionen lieferten 11 mg einer einheitlichen, kristallinen, wenig polaren Substanz, welche aus Petroläther in Nadeln kristallisierte. Smp. 138—140°. IR.-Absorptionsspektrum (in Chloroform): Banden bei 1740 cm^{-1} (Lacton) und 1707 cm^{-1} (Keton). Keine Hydroxylbande.

$\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}_5$	Ber. C 67,76	H 9,67%	Gef. C 68,11	H 9,27%
--	--------------	---------	--------------	---------

Mit den Benzol-Äther-Fraktionen liess sich eine weitere, scheinbar einheitliche Verbindung (14 mg) vom Smp. 138—139° eluieren. Die in Prismen kristallisierende Verbindung zeigte in IR.-Absorptionsspektrum Banden bei 3450 cm^{-1} ($\text{C}-\text{OH}$, s. stark), 1738 cm^{-1} (Lacton) und 1707 cm^{-1} (Keton).

$\text{C}_{17}\text{H}_{30}\text{O}_5$	Ber. C 64,94	H 9,62%	Gef. C 64,80	H 9,59%
			, , 64,95	, , 9,28%

Die Mikroanalysen wurden im Mikroanalytischen Laboratorium der Eidg. Technischen Hochschule (Leitung *W. Manser*) ausgeführt.

Zusammenfassung.

Die Konstitution des Kromycins (II), ein Abbauprodukt des Makrolids Pikromycin, konnte auf chemischem Wege bewiesen werden.

Organisch-chemisches Laboratorium
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

¹⁰⁾ 53,2 g Chrom(VI)-oxyd wurden in 20 cm^3 Wasser gelöst, mit 46 cm^3 konz. Schwefelsäure (98-proz.) versetzt und auf 200 cm^3 verdünnt.