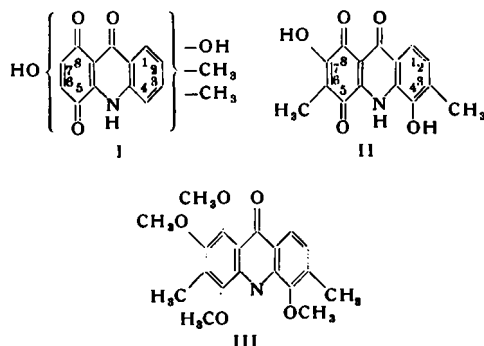


Erfahrungen auf das Absorptionsspektrum des aus Despeptido-actinomycin erhaltenen Tetramethoxy-dimethyl-acridons hat sich die Zahl der für diese Verbindung in Betracht kommenden Formeln auf vier reduzieren lassen. Zwei von ihnen tragen die Methyl-Gruppen in 3,7-Stellung und sind somit Verbindungen, bei deren Zinkstaub-Destillation das Auftreten von 3,7-Dimethylacridin zu erwarten ist. Da wir bei der Zinkstaub-Destillation von Despeptido-actinomycin eine kristallisierte Verbindung vom Fp 121–122 °C erhielten, synthetisches 3,7-Dimethyl-acridin aber bei 175 °C schmilzt, entfielen auch die beiden eben genannten Formeln, so daß für das methylierte Reduktionsprodukt und damit auch für Despeptido-actinomycin nur noch zwei Strukturen in Frage kamen. Zwischen ihnen konnte mit Hilfe der Bleiacetat-Reaktion entschieden werden.



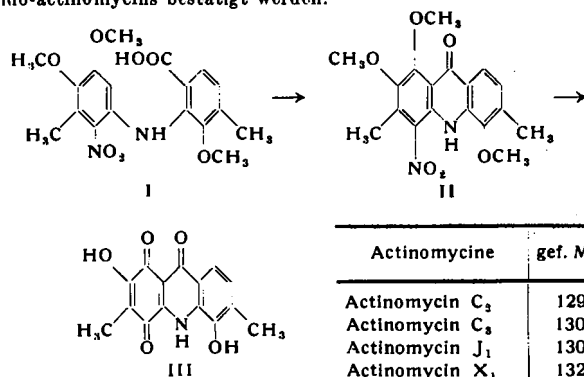
Versetzt man eine methanolische Lösung von Despeptido-actinomycin mit Blei(II)-acetat, so färbt sie sich blauviolett, und ein indigoblauer Niederschlag fällt aus. Diese Reaktion geben, wie wir an unseren Modellschubstanzen zeigen konnten, nur solche Acridon-chinone, in denen eine Oxy-Gruppe an C₂ oder C₄ steht. Damit bleibt für Despeptido-actinomycin allein Formel II und für sein methyliertes Reduktionsprodukt Formel III übrig. Die für III aus den „Verschiebungsbeiträgen“ der Methoxy- und Methyl-Gruppen berechnete Lage des langwelligsten Absorptions-maximums (403,5 mμ) stimmt innerhalb der Fehlergrenze mit der für das Reduktionsprodukt gefundenen (403 mμ) überein.

Eingeg. am 24. August 1955 [Z 236]

Die Synthese des Despeptido-actinomycins

Von Prof. Dr. H. BROCKMANN und Dr. H. MUXFELDT
Organisch-chemisches Institut der Universität Göttingen

Für Despeptido-actinomycin wurde in der vorhergehenden Mitteilung¹⁾ die Konstitutionsformel III abgeleitet. Sie konnte durch die auf folgendem Wege gelungene Synthese des Despeptido-actinomycins bestätigt werden.



Aus 2-Nitro-3-methoxy-4-methyl-benzoesäure wurde durch Reduktion 2-Amino-3-methoxy-4-methyl-benzoesäure und daraus nach Sandmeyer 2-Chlor-3-methoxy-4-methyl-benzoesäure dargestellt. Kondensation des Kaliumsalzes dieser Säure mit 6-Nitro-5-amino-2,3-dimethoxy-toluol nach Jourdan-Ullmann lieferte das in goldgelben Prismen vom Fp 212–213 °C kristallisierende Diphenylamin-carbonsäure-Derivat I. Durch Ringschluß der Carboxy-Gruppe entstand daraus 5-Nitro-4,7,8-trimethoxy-3,6-dimethyl-acridon (II) (orangefarbene Nadeln vom Fp 195–197 °C), das mit Raney-Nickel hydriert unter Auf-

nahme von 3 Mol Wasserstoff in das leicht zersetzliche 5-Amino-4,7,8-trimethoxy-3,6-dimethyl-acridon (hellgelbe, unter Zers. bei 183–188 °C schmelzende Nadeln) überging. Bei seiner Entmethylierung mit siedender Bromwasserstoffsäure fiel das kristallisierte, gelbe Hydrobromid des 5-Amino-4,7,8-trioxy-3,6-dimethyl-acridons aus, das in alkalischem Methanol mit Luftsauerstoff dehydriert wurde. Das im Reaktionsprodukt neben 4,7-Dioxy-3,6-dimethyl-acridonechinon-(5,8) (III) vorhandene Chinonimin von III wurde durch Verseifung mit Eisessig-HBr ins Chinon III übergeführt. Nach chromatographischer Reinigung kristallisierte III aus Chloroform in tiefroten Rhomben, die im Spektrum des sichtbaren sowie UV- und UR-Gebietes vollkommen mit Despeptido-actinomycin übereinstimmen. Das gelbe, kristallisierte Diacetat von III schmilzt wie das Diacetat des Despeptido-actinomycins bei 190 °C und gibt im Gemisch mit diesem keine Schmelzpunktsdepression. Damit ist die Despeptido-actinomycinformel III vollkommen gesichert.

Eingeg. am 24. August 1955 [Z 237]

Molekulargewichtsbestimmung der Actinomycine und ihrer Abbauprodukte durch Redox titration

Von Prof. Dr. H. BROCKMANN
und Dipl.-Chem. K. VOHWINKEL

Organisch-chemisches Institut der Universität Göttingen

Die Actinomycine lassen sich dank ihres chinoiden Charakters durch katalytische Hydrierung leicht zu hellgelben Leukoverbindungen reduzieren, die an der Luft wieder in das Ausgangsmaterial übergehen. Infolgedessen kann das Äquivalentgewicht und – unter der Voraussetzung, daß nur ein chinoides System vorhanden ist – auch das Mol.-Gew. der Actinomycine recht genau durch katalytische Hydrierung ermittelt werden¹⁾.

Bei Untersuchungen über die Redoxpotentiale²⁾ der Actinomycine und ihrer Abbauprodukte fanden wir, daß man an Stelle der katalytischen Hydrierung mit Vorteil auch die Redox titration zur Mol.-Gew.-Bestimmung der Actinomycine und ihrer Abbauprodukte verwenden kann. Die Gefahr, daß außer dem chinoiden System noch andere Gruppen reduziert werden, ist hier noch geringer als bei der Hydrierung. Als Reduktionsmittel verwendeten wir Titan(III)-chlorid in 50proz. Essigsäure sowie Chrom(II)-acetat in 70proz. Methanol. In beiden Fällen wurden die orangefarbenen Actinomycin-Lösungen ohne Auftreten einer andersfarbigen Zwischenstufe hellgelb. Nach Rückoxydation an der Luft zeigte ihr Papierchromatogramm unverändertes Actinomycin.

Bei Einsatz von 5–15 mg Substanz läßt sich das Äquivalent- bzw. Mol.-Gew. der Actinomycine durch Redox titration auf ± 2,5 % genau bestimmen, bei größeren Einwaagen auf ± 1 %. Da kein Grund besteht, den Actinomycinen mehr als ein chinoides System zuzuschreiben, sind die für verschiedene Actinomycine³⁾ gefundenen Reduktions-Äquivalentgewichte (Mittelwerte mehrerer Bestimmungen) in der folgenden Tabelle als Mol.-Gew. angeführt. Sie stimmen bei 5 Actinomycinen innerhalb der Fehlergrenze überein. Einen deutlich größeren Wert zeigt nur Actinomycin X_{0β}⁴⁾, das auch in chemischer Hinsicht (Bildung eines Acetates, Gehalt an Oxy-prolin) eine gewisse Sonderstellung einnimmt. Die Zahlen für Actinomycin C₂ und C₃ stimmen befriedigend mit dem für Actinomycin C durch potentiometrische Perchlorsäure-Titration ermittelten Wert 1335⁵⁾ überein. Durch katalytische Hydrierung wurde für das Mol.-Gew. von Actinomycin C früher 1250 ± 50 gefunden.

Actinomycine	gef. Mol.-Gew.	Abbauprodukte der Actinomycine	gef. Mol.-Gew.
Actinomycin C ₂	1296 ± 35	Desamino-actinomycin C**)	1308 ± 35
Actinomycin C ₃	1307 ± 35	Actinocyl-threonin-methylester**)	475 ± 13 (ber. 458,4)
Actinomycin J ₁	1305 ± 35	Actinocinlin**)	282 ± 7 (ber. 285)
Actinomycin X ₁	1320 ± 35	Despeptido-actinomycin*)	290 ± 8 (ber. 285)
Actinomycin X ₂	1307 ± 35		
Actinomycin X _{0β}	1393 ± 35		

*) TiCl₃ in 50proz. Eisessig.

**) Cr(OOCCH₃)₂ in 70proz. Methanol.

Bei der Redox titration der Desamino-actinomycine⁶⁾ mit Chrom(II)-acetat in 70proz. Methanol färbte sich die orangefarbene Lösung zunächst tiefgrün und dann hellgelb. Wie nach den che-

¹⁾ H. Brockmann u. H. Muxfeldt, diese Ztschr. 67, 617 [1955].

¹⁾ H. Brockmann, N. Grubhofer, W. Kass u. H. Kalbe, Chem. Ber. 84, 260 [1951].

²⁾ Diplomarbeit K. Vohwinkel, Göttingen 1955.

³⁾ Vgl. H. Brockmann u. H. Gröne, Chem. Ber. 87, 1036 [1954].

⁴⁾ H. Brockmann u. G. Pampus, diese Ztschr. 67, 519 [1955].

⁵⁾ H. Brockmann u. E. Meyer, Chem. Ber. 86, 1519 [1953].

⁶⁾ H. Brockmann u. B. Franck, Chem. Ber. 87, 1767 [1954].

mischen Befunden zu erwarten⁶⁾, stimmen die Mol.-Gew.-Zahlen innerhalb der Fehlergrenze mit denen der zugehörigen Actinomycine überein. Die an der Luft reoxydierte Lösung enthielt ihrem Papierchromatogramm nach unverändertes Desamino-actinomycin und verbrauchte dementsprechend bei erneuter Titration die gleiche Menge Chrom(II)-acetat wie beim ersten Mal.

Auf Grund der Chrom(II)-acetat-Titrationskurve und anderer, hier nicht zu erörternder Befunde ist das bei der Reduktion der Desamino-actinomycine auftretende grüne Zwischenprodukt ein Semichinon. Reduziert man die Desamino-actinomycine statt mit Chrom(II)-acetat mit Titan(III)-chlorid in Eisessig, so geht die Reaktion nicht über das Semichinon hinaus.

Auch zur Mol.-Gew.-Bestimmung von Despeptido-actinomycin⁷⁾ und zwei neuer Säureabbauprodukte der Actinomycine⁸⁾ hat sich die Redox titration gut bewährt.

Eingeg. am 10. September 1955 [Z 238]

5(6)-Oxy-benzimidazol, ein Abbauprodukt des Vitamin B₁₂-Faktors III

Von Dr. W. FRIEDRICH
und Prof. Dr. K. BERNHAUER

Biochemisches Forschungslaboratorium der Aschaffenburger Zellstoffwerke A. G., Stockstadt a. M.

Wir berichteten vor kurzem, daß durch saure Hydrolyse des Vitamin B₁₂-Faktors III unter anderem eine Base, „Abbauprodukt III“, gebildet wird⁹⁾.

Durch weitere chromatographische Reinigung, besonders mit den Ionenaustauschern Dowex-50 und Amberlite IR-4B, gewannen wir das Abbauprodukt III in reiner kristallisierter Form, Fp 219–220 °C (Zers., Kofler-Heizmikroskop).

C₇H₆N₂O Ber.: C 62,68 %; H 4,48 %; N 20,89 %; O 11,9 %

Gef.: C 63,34 %; H 4,46 %; N 21,03 %; O 11,67 %

Absorptionsmaxima in wäßriger Lösung:

Saures Gebiet (0,1 n HCl): 286 mμ (E_M 7200).

Neutrales Gebiet: 246 mμ (E_M 4700) und 286 mμ (E_M 6150).

Alkalisches Gebiet (0,1 n KOH): 246 mμ (E_M 4900) u. 306 mμ (E_M 7100).

Abbauprodukt III gibt mit Millon's Phenol-Reagens¹⁰⁾ einen roten Niederschlag und entfärbt in wäßriger Lösung sofort Permanganat unter praktisch völliger Zerstörung des chromophoren Systems (Verschwinden der charakteristischen Absorption im UV). In Übereinstimmung mit der dadurch wahrscheinlich gemachten phenolischen Struktur steht die Beobachtung, daß beim Übergang ins alkalische p_H-Gebiet die Absorptionsbande von 286 mμ auf 306 mμ verschoben wird. Eine ähnliche Bandenverschiebung findet unter analogen Bedingungen beim Phenol statt; sie entspricht der Proton-Abspaltung vom phenolischen Hydroxyl. Andererseits deutet der Charakter der Absorptionsbande bei 246 mμ (Verschwinden der Bande im sauren p_H-Gebiet und Lage der isosbestischen Punkte) auf eine Benzimidazol-Struktur des Abbauproduktes III hin. Alle diese Beobachtungen

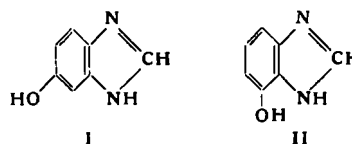
⁷⁾ H. Brockmann u. N. Grubhofer, Naturwissenschaften 37, 494 [1950]; H. Brockmann u. H. Muxfeldt, diese Ztschr. 67, 617 [1955].

⁸⁾ H. Brockmann u. H. Gröne, diese Ztschr., noch nicht erschienen.

⁹⁾ W. Friedrich u. K. Bernauer, Z. Naturforsch. 9b, 685 [1954].

¹⁰⁾ F. Feigl: „Spot Tests“, Elsevier Publ. Co., New York 1954, Vol. II, S. 134.

machten es wahrscheinlich, daß das Abbauprodukt III eine der beiden Strukturen I oder II haben dürfte:



Beide Formeln tragen sowohl der Struktur eines Phenols als auch der eines Benzimidazols Rechnung.

Die Entscheidung zwischen diesen Formeln wurde durch Synthese gefällt. Das Abbauprodukt III erwies sich als identisch mit der synthetischen Verbindung I, die von uns durch Kondensation von 3,4-Diaminophenol mit Ameisensäure dargestellt wurde. Das synthetische Produkt schmilzt bei 218–219 °C (Zers., Kofler-Heizmikroskop) und gibt mit Abbauprodukt III den Mischungs-Fp 219–220 °C. Sein Absorptionsspektrum ist identisch mit dem des Abbauproduktes III. Das gleiche gilt für sein Verhalten gegenüber Phenolreagenzien und Permanganat.

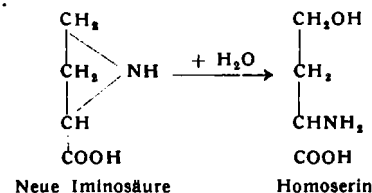
(Auf Wunsch der Autoren erst jetzt publiziert.)

Eingeg. am 24. Juni 1955 [Z 234]

Zur Struktur der Iminosäure aus *Convallaria majalis*

Von Prof. Dr. A. I. VIRTANEN
Biochemisches Institut Helsinki

In meinem Vortrag (diese Ztschr. 67, 381 [1955]) habe ich u. a. eine neue, aus *Polygonatum officinale* (und auch aus *Convallaria majalis*) von Linko und mir isolierte Aminosäure¹⁾ erwähnt. Die Bruttoformel der Verbindung war (C₄H₇O₂N)_n. Sie enthielt pro Einheit (n = 1) eine freie Carboxyl-Gruppe, eine sekundäre Amino-Gruppe (keine primäre) und keine Doppelbindung. Bei saurer Hydrolyse wurde aus der Verbindung Homoserin gebildet. Die Struktur der Verbindung mußte darum cyclisch und für n = 1 folgende sein:



Unsere Molekulargewichts-Bestimmungen nach Wendt²⁾ gaben jedoch Werte für n = 3 (in 6 Bestimmungen etwas über 300, ber. für C₄H₇O₂N = 101). Wir mußten darum annehmen, daß drei Reste –CH₂·CH₂·CH(NH–)·COOH miteinander gebunden einen 12-Ring mit drei NH-Gruppen und drei freien Carboxyl-Gruppen bildeten (vgl. den Vortrag).

Fowden hat jetzt eine Arbeit publiziert³⁾ über eine Iminosäure aus *Convallaria majalis*, welche identisch mit unserer Iminosäure ist. Seine Ergebnisse stimmen überein mit den von uns gewonnenen, außer, daß er das Molekulargewicht appr. 100 findet (nach Barger's Methode bestimmt). Er hat die Verbindung auch mit der synthetischen Azetidin-2-carboxylsäure identifiziert. Unser 3mal höheres Molekulargewicht ist darum offenbar unrichtig und die Iminosäure hat folglich die obige Struktur mit einem 4-Ring. Die Methode von Wendt gab in unseren Kontrollbestimmungen mit einigen Peptiden und Aminosäuren normale Werte, scheint aber im obigen Falle nicht zu passen.

Eingeg. am 3. September 1955 [Z 235]

¹⁾ Acta chem. scand. 9, 551 [1955].

²⁾ Ber. dtsch. chem. Ges. 75, 425 [1942].

³⁾ Nature [London] 176, 347 [1955].