

weitere Verdünnung mit Dioxan möglich, doch werden zu verdünnte Lösungen bereits vom Papier weitgehend zersetzt.

Wenn die vorauswandernde Front des Dioxans den oberen Rand des Papiers erreicht (nach ca. 30 min), wird das Papier aufgerollt und die obere Grenze des tiefroten Rhodanid-Bereiches eingezeichnet. Zur genauen Analyse muß der tiefste Punkt der Lücken mindestens 2 cm vom unteren Rand des Papiers entfernt sein. Die entstandenen Lücken werden umgezeichnet und planimetriert oder ausgeschnitten und gewogen.

Zuschriften

Hydrazin-Spaltung von Actinomycinen

Von Prof. Dr. H. BROCKMANN, Dr. G. BOHNSACK
und Dr. C. H. SÜLING

Organisch-Chemisches Institut der Universität Göttingen

Beim Abbau von Actinomycin C₂ und C₃¹⁾ mit Hydrazinhydrat²⁾ (3 h, 140 °C) erhielten wir ein Gemisch von Abbauprodukten, aus dem durch chromatographische Adsorption eine kristallisierte Verbindung C₉H₁₆O₂N₂, $[\alpha]_D^{20}$; -94° (Chloroform) vom Fp 118 °C (Kofler-Block, korrig.) abgetrennt werden konnte. Sie gab beim energischen Abbau mit konz. Salzsäure ein Hydrolysat, das im Papierchromatogramm zwei Flecken mit den R_F-Werten des Sarkosins und N-Methyl-valins zeigte. Da die kristallisierte Verbindung Ninhydrin-negativ ist, leicht sublimiert und sich in organischen Lösungsmitteln, z. B. Benzol gut löst, und da ferner ihr IR-Spektrum bis auf geringfügige Differenzen im Gebiet 6,75–7,50 μ mit dem des D,L-N-Methyl-valyl-sarkosinanhydrides übereinstimmt, halten wir es für sicher, daß ein Anhydrid aus (+)-N-Methyl-valin und Sarkosin vorliegt.

Eine eingehende Untersuchung der Hydrazin-Spaltung ergab, daß bereits unter Bedingungen, wie sie bei normalen Peptiden zur Endgruppenbestimmung angewandt werden³⁾ (12 % äthanolische Hydrazinhydrat-Lösung, 3 h, 100 °C) farblose, kristallisierte Spaltprodukte entstehen. Durch Abbau von Actinomycin I₁⁴⁾ kamen wir so u. a. zu einer kristallisierten Verbindung, die mit dem aus Actinomycin C₂ und C₃ gewonnenen optisch aktiven N-Methyl-valyl-sarkosinanhydrid identisch ist. Daneben faßten wir ein zweites, kristallisiertes Spaltstück C₁₀H₁₆O₂N₂ vom Fp 138 °C, $[\alpha]_D^{20}$; -167° (Chloroform), das bei energischer Säurehydrolyse zwei Aminosäuren mit den R_F-Werten des Prolins und Valins lieferte. Da dieses zweite Abbauprodukt ebenfalls optisch aktiv, Ninhydrin-negativ, leicht sublimierbar und in organischen Solventien gut löslich ist, muß es ein Anhydrid aus den beiden Actinomycin-Aminosäuren L-Prolin und D-Valin sein.

N-Methyl-valyl-sarkosinanhydrid, das wir aus Actinomycin C₂, C₃ und I₁ in Ausbeuten von mindestens 1,2 Mol kristallisiert gewonnen haben, kommt als solches zweifellos nicht in den Actinomyceinen vor, denn es enthält keine Gruppen, mit denen es in der Actinomycin-Molekel verankert sein könnte. Am naheliegendsten erscheint die Annahme, daß sich das Anhydrid aus zunächst entstandenem Sarkosyl-N-methyl-valin bzw. N-Methyl-valyl-sarkosin bildet, denn manche Methyl-aminosäure-dipeptide gehen ungewöhnlich leicht in Anhydride über⁴⁾. Wenn diese Vermutung richtig ist, beweist die Isolierung von mehr als 1 Mol N-Methyl-valyl-sarkosinanhydrid, daß in den 2 Mol Sarkosin und 2 Mol N-Methyl-valin enthaltenden⁵⁾ Actinomyceinen C₂, C₃ und I₁ jede der beiden Sarkosin-Molekeln mit einer Molekel N-Methyl-valin verknüpft ist.

Da Prolin-dipeptide ebenfalls leicht zu Anhydriden cyclisieren, ist zweifellos auch das aus Actinomycin I₁ gewonnene Prolyl-valinanhydrid ein Sekundärprodukt, das während der Hydrazinolyse aus einem Dipeptid entsteht. Seine Ausbeute (0,7 Mol) zeigt, daß auf jeden Fall 1 Mol des im Actinomycin I₁ vorhandenen L-Prolins mit 1 Mol D-Valin verbunden ist.

Die Ergebnisse beim Hydrazin-Abbau haben uns veranlaßt, das Verfahren in größerem Maßstab auf die in unserem Institut isolierten Actinomyceine anzuwenden. Dabei sind eine Reihe weiterer kristallisierter Abbauprodukte gefaßt worden.

Eingegangen am 17. August 1955 [Z 278]

¹⁾ H. Brockmann u. H. Gröne, Chem. Ber. 87, 1036 [1954].

²⁾ Vgl. A. Stoll, Th. Petrzilka u. B. Becker, Helv. chim. Acta 33, 57 [1950].

³⁾ K. Schlögl, F. Wessely u. E. Wawersich, Monatsh. Chem. 85, 957 [1954].

⁴⁾ P. A. Levene, H. S. Simmons u. M. H. Pfaltz, J. biol. Chem. 70, 42 [1926].

⁵⁾ H. Brockmann, G. Bohnsack u. H. Gröne, Naturwissenschaften 40, 223 [1953].

Proj. Dr. E. Waldmann, Vorstand des Institutes für Organische Chemie der T. H. Wien, bin ich für die Erlaubnis zur Ausführung dieser Arbeit in seinem Institut zu besonderem Dank verpflichtet. Ferner danke ich Dr. H. Berbalk für wertvolle Hinweise und anregende Diskussionen.

Eingegangen am 3. Oktober 1955 [A 700]

Neue farbige Abbauprodukte der Actinomyceine

Von Prof. Dr. H. BROCKMANN und Dr. H. GRÖNE

Organisch-Chemisches Institut der Universität Göttingen

Durch energische Säurehydrolyse erhielten wir aus Actinomycin C (Gemisch aus Actinomycin C₁, C₂ und C₃¹⁾) eine in karmoisinroten Plättchen oder Nadeln kristallisierende, Aminosäure-freie Verbindung C₁₃H₁₁O₄N (Zers. oberhalb 260 °C), die wir Actinocinin genannt haben. Sie ist isomer mit dem beim Baryt-Abbau der Actinomyceine entstehenden Despeptido-actinomycin²⁾, unterscheidet sich von diesem aber spektroskopisch und chemisch in charakteristischer Weise.

Actinocinin enthält zwei C-Methyl- und zwei durch potentiometrische Titration in 50proz. Dimethyl-formamid erfaßbare saure Gruppen. Eine davon ist ihrem pK-Wert nach eine Carboxy-Gruppe. Das N-Atom unseres Abbauproduktes ist so schwach basisch, daß eine potentiometrische Titration in Eisessig mit Perchlorsäure nicht möglich war.

Mit Methyljodid-Silberoxyd ließ sich Actinocinin in ein gelbes, kristallisiertes Dimethoxy-Derivat (Fp 210–211 °C) überführen, das in wäßrigem Alkali unlöslich ist, von konz. Mineralsäuren aber unter Farbvertiefung aufgenommen wird. Mit Benzoylchlorid-Pyridin gab Actinocinin ein kristallisiertes, rotes Dibenzoyl-Derivat (Fp 137–138 °C). Seinem IR-Spektrum nach enthält dieses Derivat eine Säureanhydrid-Gruppierung, die dem Actinocinin fehlt. Offenbar bildet die Carboxy-Gruppe des Actinocinins mit Benzoylchlorid ein gemischtes Anhydrid. Der zweite Benzoyl-Rest ist zweifellos an eine Oxy-Gruppe gebunden.

Von den beiden restlichen Sauerstoffatomen des Actinocinins gehört mindestens eins einer chinoiden Carbonyl Gruppe an, die sich durch eine Bande bei 6,16 μ zu erkennen gibt. Über die Funktion des fünften Sauerstoffatoms lassen sich noch keine Aussagen machen.

Actinocinin bildet mit o-Phenylendiamin ein rotbraunes Kondensationsprodukt, eine Reaktion, die wir auf das Vorliegen einer zum chinoiden Carbonyl benachbarten Oxy-Gruppe zurückführen. Da solche Oxy-Gruppen ausgeprägte Acidität zeigen, ist somit auch die Natur der zweiten sauren Gruppe geklärt.

Neben Actinocinin erhielten wir ein zweites, kristallisiertes, Aminosäure-freies, rotes Säureabbauprodukt, das dem Actinocinin spektroskopisch sehr ähnlich ist, wie dieses zwei C-Methyl- und zwei saure Gruppen enthält und mit Zinn(II)-chlorid ein blaugrünes Reduktionsprodukt liefert. Im Gegensatz zum Actinocinin ist es Chlor-haltig und gibt beim Erwärmen mit wäßrigem Alkali eine grüne Lösung.

Bei der Säurehydrolyse gehen die Actinomyceine zunächst in Desamino-actinomyceine³⁾ über. Dabei tauscht der Farbstoffteil der Actinomycin-Molekel, ohne daß Aminosäuren abgespalten werden, eine Amino-Gruppe gegen eine Oxy-Gruppe aus und erlangt damit die Fähigkeit, mit Zinn(II)-chlorid ein tiefgrünes, semichinoides Reduktionsprodukt³⁾ zu bilden. Geht die Säurehydrolyse über die Stufe des Desamino-actinomyceins hinaus, so entstehen unter Freisetzung von Aminosäuren, Chromopeptide mit unterschiedlichem Peptid-Rest (Desamino-actinocyl-peptide), eine Reaktionsfolge, die schließlich, wenn alle Aminosäuren abgelöst sind, zum Actinocinin führt. Dabei treten am Farbstoffteil der Desamino-actinomyceine bzw. der Desamino-actinocyl-peptide offenbar keine wesentlichen Veränderungen mehr ein, denn Actinocinin ist spektroskopisch den Desamino-actinomyceinen sehr ähnlich und gibt ebenso wie diese mit Zinn(II)-chlorid ein tiefgrünes, semichinoides Reduktionsprodukt (Absorptionsspektrum sehr ähnlich wie das des grünen Semichinons der Desamino-actinomyceine).

¹⁾ H. Brockmann u. H. Gröne, Chem. Ber. 87, 1036 [1954].

²⁾ H. Brockmann u. N. Grubhofer, Naturwissenschaften 37, 494 [1950]; Chem. Ber. 86, 1407 [1953]; H. Brockmann u. H. Muxfeldt, Naturwissenschaften 41, 500 [1954]; diese Ztschr. 67, 617 [1955].

³⁾ H. Brockmann u. B. Franck, Chem. Ber. 87, 1767 [1954].