

Hydrierende Acetylierung von Actinomycinen

Von Prof. Dr. H. BROCKMANN und Dr. B. FRANCK
Organisch-Chemisches Institut der Universität Göttingen

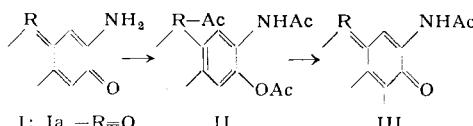
Die reduzierende Acetylierung der Actinomycine mit Zinkstaub-Acetanhydrid (unter Zusatz von Pyridin bzw. Perchlorsäure) liefert hellgelbe, kristallisierte Verbindungen, über deren Acetyl-Gehalt widersprechende Angaben vorliegen^{1, 2, 3}. Nachdem sichergestellt ist, daß sich die Actinomycine I₁, C₂ und C₃⁴) mit Acetanhydrid unter Zusatz von Pyridin bzw. Natrimumacetat nicht acetylieren lassen⁵), haben wir die reduzierende Acetylierung der Actinomycine erneut untersucht. Dabei wurde statt Zinkstaub mit Platin aktivierter Wasserstoff verwendet, von dem die Actinomycine unter Bildung einer quantitativ zum Ausgangsmaterial dehydrierbaren Dihydro-Verbindung 1 Mol²) aufnehmen.

Bei dieser hydrierenden Acetylierung (Hydrierung in Acetanhydrid, Entfernung des Katalysators und Acetylierung mit Acetanhydrid-Pyridin unter Wasserstoff) entsteht aus Actinomycin C₃ eine hellgelbe, gegen *Staphylococcus aureus* unwirksame Verbindung ($[\alpha]_D^{20} = -26^\circ$, $c = 0,25$ in Benzol,) die auf die Actinomycin C₃-Formel C₆₄H₉₀O₁₆N₁₂⁶) bezogen drei Acetyl-Reste enthält. Zwei davon werden bereits bei Raumtemperatur durch Methanol verseift, wobei unter Rückoxydation der zunächst gebildeten Dihydro-Verbindung ein rotes, kristallines, antibiotisch unwirksames Mono-acetat vom Fp 249 °C ($[\alpha]_D^{20} = -14^\circ$, $c = 0,25$ in Methanol) entsteht, das ebenso wie Actinomycin C₃ mit Zinn(II)-chlorid und Titan(III)-chlorid keine Farbreaktion gibt. Bei kurzem Erwärmen mit 10 proz. Salzsäure auf 60 °C wird es zu Actinomycin C₃ verseift, ein Beweis, daß bei der hydrierenden Acetylierung des Actinomycins keine tiefergreifende Veränderung eintritt.

Noch einfacher läßt sich das Mono-acetat gewinnen, wenn man Actinomycin C₃ in Acetanhydrid bis zur Aufnahme von 1 Mol Wasserstoff hydriert und dann die Reaktionslösung, ohne sie mit Pyridin zu behandeln, direkt an der Luft rückoxydiert.

Die Befunde zeigen: 1.) Im Chromophor des Actinomycins C₃ liegt kein normaler Chinon-Ring (Ia) vor; vielmehr deutet die ungewöhnlich leichte Abspaltung von zwei Acetyl-Gruppen aus dem Triacetat darauf hin, daß —R in Formel I kein Sauerstoff ist. 2.) Im Actinomycin C₃ ist eine Gruppe vorhanden, die erst nach Übergang des chinoiden Ringes in einen benzoiden acetylierbar wird. Daß diese Gruppe nur die bereits früher im Chromophor der Actinomycine nachgewiesene Amino-Gruppe⁵) sein kann, ergibt sich aus folgendem: 1.) Actinomycin-C₃-monoacetat zeigt im Gegensatz zum Actinomycin C₃ mit konz. Salzsäure keine Halochromie. 2.) Das Monoacetat läßt sich in Eisessig mit Perchlorsäure nicht wie die Actinomycine als einsäurige Base⁷) titrieren. 3.) Im IR-Spektrum des Monoacetates fehlt die bei 6,30 μ liegende, für primäre Amino-Gruppen charakteristische NH-Deformationsbande der Actinomycine⁸). 4.) Die Absorptionsspektren des Actinomycin C₃-monoacetates und Desamino-actinomycin C₃-mono-acetates⁵) sind identisch.

ist die Amino-Gruppe dem chinoiden Sauerstoffatom des Chromophors benachbart (I), (wodurch sie den Charakter einer Säure-amino-Gruppe annimmt), so wird verständlich, daß sie sich erst nach Übergang des chinoiden Ringes in einen benzoiden acetylieren läßt und bei milder Säureeinwirkung unter Bildung von Desamino-actinomycinen⁴) gegen eine in 70 proz. Methanol titierbare Oxy-Gruppe ausgetauscht wird⁸). Das Triacetat wäre dann nach II, das Monoacetat nach III zu formulieren.



Wenn sich die Amino-Gruppe des Actinomycins C₃ wie die eines Säureamids verhält, sollte man erwarten, daß die NH-Gruppe von III schwach sauer ist und sich dementsprechend wie die NH-Gruppe von Diacylamiden z. B. Phthalimid acylieren läßt. Tatsächlich zeigt unser Monoacetat schwach sauren Charakter; es läßt sich im Gegensatz zu Actinomycin C₃ mit 2 n NaOH aus Äther ausschütteln und bildet mit Pyridin-Acetanhydrid ein rotes,

¹⁾ S. A. Waksman u. M. Tishler, J. biol. Chemistry 142, 519 [1942].
²⁾ H. Brockmann, N. Grubhofer, W. Kass u. H. Kalbe, Chem. Ber. 84, 260 [1951].

³⁾ A. W. Johnson, A. R. Todd u. L. C. Vining, J. chem. Soc. [London] 1952, 2672.

⁴⁾ H. Brockmann u. H. Gröne, Chem. Ber. 87, 1036 [1954].

⁵⁾ H. Brockmann u. B. Franck, Chem. Ber. 87, 1767 [1954]; B. Franck, unveröffentl.

⁶⁾ H. Brockmann u. B. Franck, diese Ztschr. 68, 70 [1956].

⁷⁾ H. Brockmann u. E. Meyer, Chem. Ber. 86, 1514 [1953].

⁸⁾ Vgl. auch A. Butenandt, U. Schiedt u. E. Bicker, Liebigs Ann. Chem. 588, 108 [1954].

kristallisiertes Diacetat vom Fp 237 °C ($[\alpha]_D^{20} = -123^\circ$, $c = 0,25$ in Methanol), das gegen *St. aureus* in Verdünnungen oberhalb 1:50000 unwirksam ist.

Umsatz des Actinomycin C₃-monoacetates mit Methyljodid-Silberoxyd lieferte eine in derben, roten Prismen vom Fp 249 °C ($[\alpha]_D^{20} = +30^\circ$, $c = 0,25$ in Methanol) kristallisierte Verbindung, die das Wachstum von *St. aureus* bis zur Verdünnung 1:10000 hemmte. Ihre Analysenzahlen passen auf ein N-Methyl-N-acetylactinomycin C₃.

Bei der hydrierenden Acetylierung von Desamino-actinomycin C₃-monoacetat⁵) entstand ein hellgelbes, antibiotisch unwirksames Triacetat, das durch 0,1 n Ammoniak zu Desamino-actinomycin C₃ verseift wurde.

Eingegangen am 12. Dezember 1955 [Z 282]

Aufspaltung der Actinomycine zu Actinomycin-säuren

Von Prof. Dr. H. BROCKMANN und Dr. B. FRANCK
Organisch-Chemisches Institut der Universität Göttingen

Wie kürzlich gezeigt¹⁾, werden die Actinomycine durch 0,1 n-methanolisches Alkali bei 40 °C unter Freisetzung saurer Gruppen verändert. Um Einblick in diese Reaktion zu gewinnen, haben wir Proben von 100 mg Actinomycin C₃²) 0,5, 2, 4, 6, 11 und 21 h mit 0,1 n methanolischem Alkali (10 % Wasser enthaltend) bei 40 °C hydrolysiert und die verbrauchte Alkalimenge durch potentiometrische Titration in 70 proz. Methanol ermittelt. Nach jeder Titration wurde die angesäuerte Reaktionslösung mit Chloroform extrahiert und der Rückstand des Chloroform-Auszuges nach Ermittlung der spezif. Drehung einer quantitativen Ring-Papier-chromatographie (n-Butanol-n-Dibutyläther (3:2)/10 proz. wäbr. Natrium-m-kresotinat-Lösung) unterworfen. Dabei fanden wir, daß der Alkaliverbrauch innerhalb der ersten 4 h schnell auf 2 Äquival. anstieg, dann sehr träge wurde, und nach 21 h 2,7 Äquival. erreichte ($[\alpha]_D^{20}$) des Reaktionsproduktes: -69° , $c = 0,25$, in Methanol.

Nach 4 h Hydrolyse fand sich im Papierchromatogramm kein Actinomycin C₃ mehr und ebensowenig ließen sich im Hydrolysat Aminosäuren oder Ammoniak nachweisen. Das gelbe Reaktionsprodukt ($[\alpha]_D^{20} = -103^\circ$, $c = 0,25$, in Methanol) bildete im Ring-chromatogramm (n-Butanol-n-Dibutyläther (3:2)/10 proz. wäbr. Natrium-m-kresotinat-Lösung) zwei dicht beieinander liegende Zonen (R_f -Werte kleiner als die des Actinomycins C₃) und eine langsamer wandernde, die alle die gleiche Farbe zeigten wie Actinomycin-Zonen. Bei präparativen Versuchen an Cellulose-Säulen (n-Butanol-n-Dibutyläther 4:1/Boratpuffer vom p_{H} 8,2) ließen sich die beiden schnell laufenden Spaltprodukte zwar nicht von einander, wohl aber von dem langsamer wandernden abtrennen, dessen Menge etwa 80 % des Ausgangsmaterials betrug. Dieses Hauptprodukt war antibiotisch unwirksam und bildete im Ring-chromatogramm mit drei verschiedenen Phasenpaaren eine einheitliche Zone. Es enthält, wie seine potentiometrische Titration in 70 proz. Methanol zeigte, zwei saure Gruppen, deren p_{K_a} -Werte denen von Carboxy-Gruppen entsprechen und die sich mit Methyljodid-Silberoxyd unter Bildung eines gelben Dimethylesters methylieren lassen. Dem Natriumsalz der Säure fehlt die für Actinomycine charakteristische Bande bei 5,7 μ ¹) (Ester- bzw. Lacton-carbonyl-Bande). Wir bezeichnen dieses Spaltprodukt als Actinomycin-C₃-säure. Ebenso wie die Actinomycine enthält Actinomycin-C₃-säure laut potentiometrischer Titration (Perchlorsäure-Eisessig) nur eine schwach basische Gruppe, zeigt mit konz. Salzsäure Halochromie, gibt mit Zinn(II)-chlorid keine Grünfärbung und stimmt in der Lage seiner Absorptionsmaxima mit Actinomycin C₃ überein. Während Actinomycin gegen Perjodsäure in Eisessig bei 30 °C beständig ist, entsteht aus Actinomycin-C₃-säure unter diesen Bedingungen ein gelbes Oxydationsprodukt, in dessen Totalhydrolysat kein Threonin nachweisbar ist.

Aus diesen Befunden ergibt sich: 1.) Bei milder Alkalieinwirkung bleibt der Chromophor der Actinomycine offenbar intakt. 2.) Der Alkaliverbrauch beruht nicht, wie früher angenommen¹), auf Abspaltung esterartig gebundener Säurereste. 3.) Bei der Alkalihydrolyse entstehen keine Amino-Gruppen, d. h. die beiden freiwerdenden Carboxyle sind im Actinomycin mit Oxy-Gruppen verknüpft. 4.) Von diesen Verknüpfungen sind entgegen unserer früheren Vermutung¹) nicht mehr als zwei im Actinomycin C₃ vorhanden. Daß es sich um Lactongruppen handelt, hat die methylierende Acetylierung³) der Actinomycinsäure gezeigt, denn

¹⁾ H. Brockmann u. B. Franck, Chem. Ber. 87, 1767 [1954].

²⁾ H. Brockmann u. H. Gröne, ebenda 87, 1036 [1954].

³⁾ W. Graßmann, H. Hörmann u. H. Endres, Chem. Ber. 86, 1477 [1953].