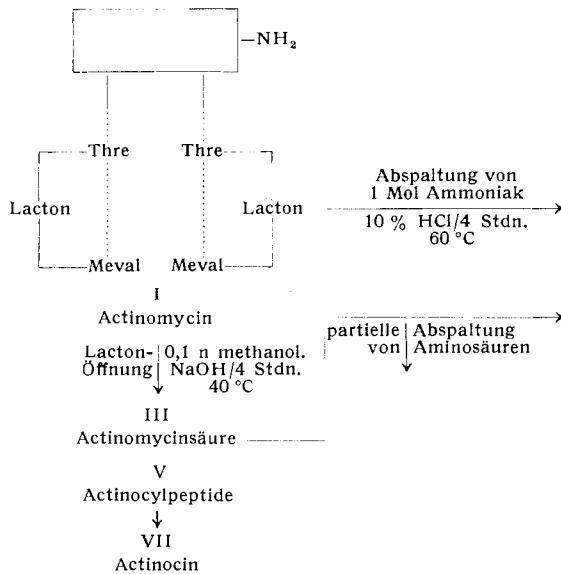


dabei erhielten wir eine in gelben Blättchen kristallisierende Verbindung, deren Analysenzahlen gut auf die Formel $C_{64}H_{90}O_{18}N_2$ ($OCH_3)_2(CO \cdot CH_3)_2$ passen. Der Übergang von Actinomycin C₃ in Actinomycin-C₃-säure besteht demnach in einer Aufspaltung von zwei Lacton-Ringen. Die dabei frei werdenden Oxy-Gruppen gehören zweifellos den beiden Threonin-Molekülen⁴⁾ des Actinomycins C₃ an.

Setzt man die Actinomycin-C₃-säure nach Turner und Schmerzler⁵⁾ mit Acetanhydrid-Pyridin um, so fehlt im Hydrolysat des Reaktionsproduktes N-Methyl-valin. Die beiden Carboxy-Gruppen der Actinomycin-C₃-Säure gehören also den beiden im Actinomycin C₃ nachgewiesenen⁴⁾ N-Methyl-valin-Molekülen an, die demnach das Ende von zwei am Chromophor hängenden Peptidketten bilden. Da beim Hydrazinabbau des Actinomycins C₃ mehr als 1 Mol N-Methyl-valyl-sarkosin-anhydrid entsteht⁶⁾, muß die dem N-Methyl-valin benachbarte Aminosäure in beiden Peptidketten Sarkosin sein. Auf Grund unserer Befunde läßt sich für Actinomycin C₃ die Teilformel I aufstellen.



Das an der Cellulose-Säule von Actinomycin-C₃-säure leicht abtrennbare Gemisch der beiden oben erwähnten Nebenprodukte enthält, bezogen auf das Mol.-Gew. 1300 eine Methoxy-Gruppe und zeigt nach Umsetzung mit 3-Oxy-1,8-dimethyl-phenoxyazon-(2)-Acetanhydrid-Pyridin⁵⁾ und anschließender Hydrolyse im Papierchromatogramm noch N-Methylvalin. Durch weitere Hydrolyse mit 0,1 n Alkali gehen die beiden Nebenprodukte in Actinomycin-C₃-säure über. Nach unseren bisherigen Ergebnissen sind die beiden im Ringchromatogramm trennbaren Nebenprodukte Actinomycin-C₃-säure-halbestärke, von denen nach I zwei zu erwarten sind. Ihre Entstehung ist nicht überraschend, da bei Einwirkung von alkalischem Alkali auf Lactone⁷⁾ und Ester⁸⁾ zunächst schnell Umesterung der Carboxy-Gruppe stattfindet und erst anschließend in einer langsamer verlaufenden Reaktion die Ester-Gruppe verseift wird.

Die bisherigen Ergebnisse unseres Arbeitskreises bei saurer und alkalischer Hydrolyse der Actinomycine sind in dem vorstehenden Schema wiedergegeben.

Eingegangen am 12. Dezember 1955 [Z 283]

Konstitution und Synthese des Actinomycin-Chromophors

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

Bei energetischer Säurhydrolyse des Actinomycins C wurden als kristallisierte Abbauprodukte Desamino-actinocyl-threonin^{9,10}, Actinocin^{9,10}, 3-Oxy-1,8-dimethyl-phenoxyazon-(2)¹¹ und 2,5-Dioxy-toluchinon¹¹) gefaßt. Actinocin ist, wie durch Synthese

⁴⁾ H. Brockmann u. G. Bohnsack, Naturwissenschaften 40, 223 [1953].

⁵⁾ R. A. Turner u. G. Schmerzler, J. Amer. chem. Soc. 76, 950 [1954].

⁶⁾ G. Bohnsack, Dissertation Göttingen 1955; H. Brockmann, G. Bohnsack u. C. Säling, diese Ztschr. 68, 66 [1956].

⁷⁾ T. L. Gresham, J. E. Jansen, F. W. Shaver, J. T. Gregory u. W. L. Bear, J. Amer. chem. Soc. 70, 1004 [1948].

⁸⁾ M. Reiner u. H. R. Downes, J. Amer. chem. Soc. 43, 945 [1921]; E. Fischer, Ber. dtsch. chem. Ges. 53, 1634 [1920].

⁹⁾ H. Gröne, Dissertation, Göttingen 1954.

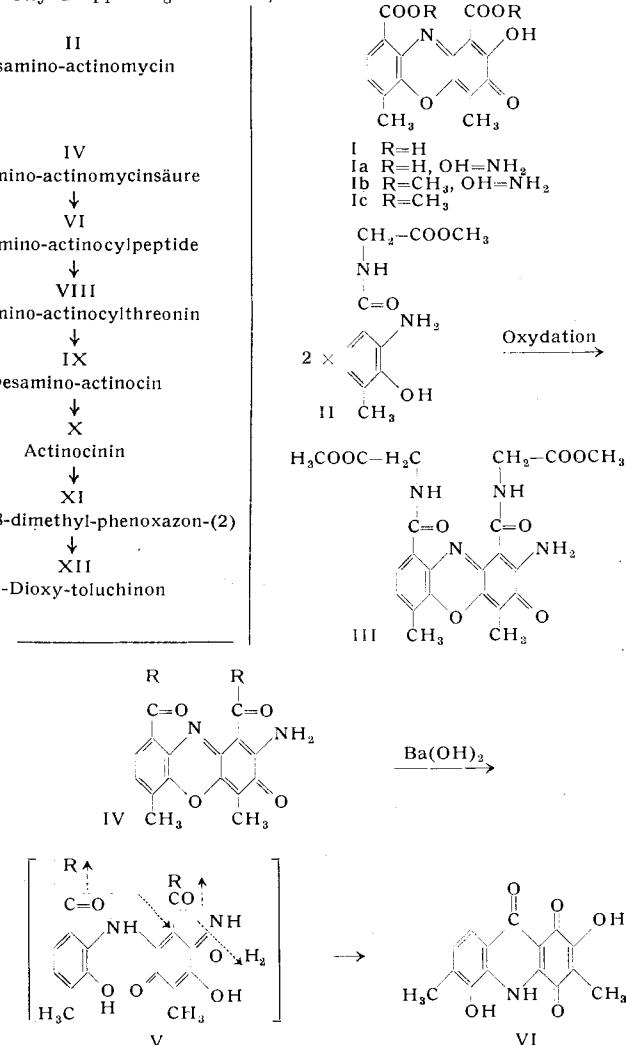
¹⁰⁾ H. Brockmann u. H. Gröne, diese Ztschr. 68, 66 [1956].

¹¹⁾ H. Brockmann u. H. Muxfeldt, diese Ztschr. 68, 67 [1956].

bewiesen¹²⁾, 3-Oxy-1,8-dimethyl-phenoxyazon-(2)-carbonsäure-(5) und Desamino-actinocyl-threonin besteht offenbar aus 3-Oxy-1,8-dimethyl-phenoxyazon-(2)-dicarbonsäure-(4,5) (I), an deren einer Carboxy-Gruppe Säureamid-artig gebunden eine Threonin-Moleköl hängt.

Die Absorptionskurven von Desamino-actinocyl-threonin⁹⁾ und Actinocin⁹⁾ sind denen der Desamino-actinomycine¹³⁾ ähnlich, und ähnlich ist auch bei allen diesen Verbindungen die charakteristische Änderung des Absorptionspektrums, die eintritt, wenn die Oxy-Gruppe ihres chinoiden Ringes acetyliert wird. Gemeinsam ist ihnen ferner die intensive, grüne Farbreaktion mit Zinn(II)-chlorid^{9, 13)}. Nichts spricht daher gegen die Annahme, daß der Chromophor der Desamino-actinomycine die im Desamino-actinocyl-threonin enthaltene, von uns Desamino-actinocin genannte 3-Oxy-1,8-dimethyl-phenoxyazon-(2)-dicarbonsäure-(4,5) (I) ist, deren Carboxy-Gruppen die Säureamid-artige Verknüpfung mit dem Peptid-Teil der Desamino-actinomycine ermöglichen.

Wenn I der Chromophor der Desamino-actinomycine ist, müßte die 3-Amino-1,8-dimethyl-phenoxyazon-(2)-dicarbonsäure-(4,5) (Ia) – im folgenden Actinocin genannt – der Chromophor der Actinomycine sein, denn beim Übergang der Actinomycine in Desamino-actinomycine wird lediglich eine im chinoiden Ring des Actinomycin-chromophors stehende Amino-Gruppe gegen eine Oxy-Gruppe ausgetauscht¹³⁾.



Um diese Annahme zu bestätigen, haben wir zunächst aus 2-Nitro-3-oxo-4-methyl-benzoësäure-methylester durch Reduktion mit Natriumdithionit die entsprechende Amino-Verbindung hergestellt und sie durch oxydative Kondensation in den in orangefarbenen Nadeln (Zers. oberhalb 200 °C) kristallisierenden 3-Amino-1,8-dimethyl-phenoxyazon-(2)-dicarbonsäure-(4,5)-dimethylester (Ib) übergeführt. Seine Absorptionskurve in Methanol ist der der Actinomycine ähnlich, doch fehlt der langwelligen Bande die für Actinomycine charakteristische Schulter. Durch Kochen mit 50 proz. Essigsäure läßt sich die Amino-Gruppe von Ib

¹²⁾ H. Brockmann u. H. Muxfeldt, diese Ztschr. 68, 67 [1956].

¹³⁾ H. Brockmann u. B. Franck, Chem. Ber. 87, 1767 [1954].

wie bei den Actinomycinen durch eine Oxy-Gruppe austauschen. Der so erhaltene 3-Oxy-1,8-dimethyl-phenoxazon-(2)-dicarbonäure-(4,5)-dimethylester (Ic) kristallisiert in roten Prismen (Zers. oberhalb 200 °C). Die Extinktion seines in Methanol bei 434 μ liegenden Maximums ist kleiner als die der Amino-Verbindung (Ib). Einen analogen Unterschied findet man zwischen dem langwelligsten Absorptionsmaximum der Desamino-actinomycine und dem der Actinomycine.

Um zu sehen, ob sich das Absorptionsspektrum von Ia verändert, wenn man die beiden Ester-methoxy-Gruppen durch Säure-amid-artig gebundene Aminosäure-Reste ersetzt, haben wir den Actinoeyl-bis-glycinmethylester III synthetisiert. Ausgangsmaterial war 2-Nitro-3-benzoyloxy-4-methylbenzoësäure, deren Chlorid mit Glycin-methylester umgesetzt den 2-Nitro-3-benzoyloxy-4-methyl-benzoyl-glycinmethylester, farblose Nadeln vom Fp 126 °C, lieferte. Der daraus durch katalytische Hydrierung mit Raney-Nickel erhaltenen 2-Amino-3-oxy-4-methyl-benzoyl-glycinmethylester (II) ließ sich durch Luftoxydation in Ammoniumcarbonat-Lösung (pH 9) in Ausbeuten bis zu 90 % d.Th. in den in orangefarbenen Nadeln vom Fp 293–296 °C (Zers.) kristallisierenden Actinoeyl-bis-glycinmethylester (III) überführen, der mit konz. Salzsäure dieselbe Halochromie zeigt wie die Actinomycine. Seine Absorptionskurve (Bild 1) ist bis auf gewisse Unterschiede in der Extinktion der Maxima den Actinomycin-Kurven gleich. Damit scheint uns gesichert, daß Actinoein (Ia) der Chromophor der C-Actinomycine ist. Die kleinere Extinktion der Actinomycine ist offenbar auf eine gewisse Verzerrung der Chromophor-Moleköl durch die sperrigen Peptid-Reste zurückzuführen.

Beim Abbau der Actinomycine mit Bariumhydroxyd verwandelt sich ihr Chromophor unter Abspaltung der Aminosäuren in Despeptidoactinomycin¹⁴), dessen Konstitutionsaufklärung¹⁵) und Synthese¹⁶) wir kürzlich beschrieben haben. Bei dieser merkwürdigen Reaktion, bei der die Amino-Gruppe des Chromophors eine noch ungeklärte Rolle spielt (Desamino-actinomycine geben kein

Despeptidoactinomycin), tritt offenbar am Hetero-Sauerstoff eine hydrolytische Ringöffnung ein, worauf in einer noch unbekannten Reaktionsfolge die benzoide Carboxy-Gruppe etwa im Sinne der Formel V mit dem chinoiden Ring kondensiert und die Imino-Gruppe hydrolytisch gegen eine Oxy-Gruppe ausgetauscht wird.

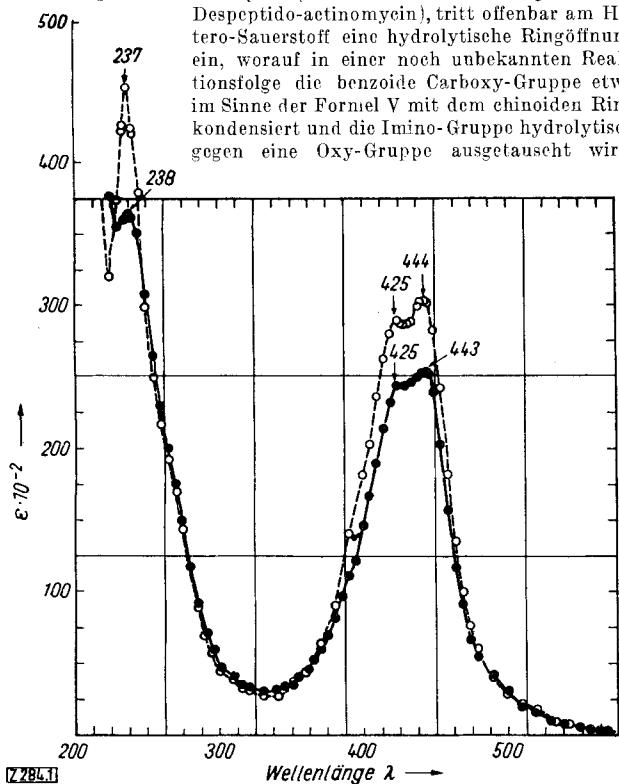


Bild 1
Absorptionskurven von Actinocyl-bis-glycinmethylester (III)
..... und Actinomycin C ●●● in Methanol

Da die „Hauptactinomycine“ C₂, C₃, X₂ und I₁¹⁷) beim Abbau mit Bariumhydroxyd alle das gleiche Despeptido-actinomycin liefern, wurde auf gleiche Konstitution ihres Chromophors geschlossen¹⁸). Diese Folgerung wird durch die Erkenntnis, daß

¹⁴) H. Brockmann u. N. Grubhofer, Naturwissenschaften 37, 494 [1950]; H. Brockmann u. N. Grubhofer, Chem. Ber. 86, 1407 [1953].

¹⁵) H. Brockmann u. H. Muxfeldt, diese Ztschr. 67, 617 [1955].

¹⁶) H. Brockmann u. H. Muxfeldt, diese Ztschr. 67, 618 [1955].

¹⁷) H. Brockmann u. H. Gröne, Chem. Ber. 87, 1036 [1954].

¹⁸) H. Brockmann u. K. Vohwinkel, Naturwissenschaften 41, 257 [1954].

Despeptido-actinomycin ein Sekundärprodukt der Formel VI ist, nicht beeinträchtigt. Die Frage, ob alle fünfzehn in unserem Institut bisher isolierten Actinomycine den gleichen Chromophor enthalten, wird zur Zeit geprüft.

Eingegangen am 13. Dezember 1955 [Z 284]

Bilanz der Actinomycin C₃-Abbauprodukte

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

Vor kurzem haben wir eine vorläufige Bilanz der bis dahin in unserem Institut gefundenen Abbauprodukte des Actinomycins C₃ aufgestellt¹⁾. Nachdem nunmehr die Chromophore des Actinomycins C₃ und Desamino-actinomycins C₃²) (Actinoein bzw.-Desamino-actinoein genannt) in ihrer Konstitution bekannt³⁾ und synthetisch gewonnen sind⁴⁾, und nachdem sich herausgestellt hat, daß 1.) Actinomycin C₃ zwei Lacton-Ringe enthält⁴⁾ (im IR-Spektrum erkennbar an der Bande bei 5,7 μ) und 2.) der „Acetyl-Gehalt“ der Actinomycine dadurch vorgetäuscht wird, daß unter den Bedingungen der Acetyl-Bestimmung (aus dem Threonin des Actinomycins C₃) Propionsäure entsteht⁵⁾, muß die frühere Bilanz, wie die folgende Zusammenstellung zeigt, in zwei Punkten geändert werden. An Stelle des Despeptido-actinomycins, das ein Umwandlungsprodukt des Chromophors ist⁶⁾, tritt Desamino-actinoein C₁₆H₁₁O₇N, während die „Essigsäure“ entfällt.

2 Mol. Threonin	C ₈ H ₁₈ O ₆ N ₂
2 Mol. Sarkosin	C ₆ H ₁₄ O ₄ N ₂
2 Mol. Prolin	C ₁₀ H ₁₈ O ₄ N ₂
2 Mol. N-Methylvalin	C ₁₂ H ₂₆ O ₄ N ₂
2 Mol. Allo-isoleucin	C ₁₂ H ₂₆ O ₄ N ₂
1 Mol. Ammoniak	H ₃ N
1 Mol. Desamino-actinoein	C ₁₆ H ₁₁ O ₇ N
— 13 Mol. Wasser	C ₆₄ H ₁₁₆ O ₂₉ N ₁₂
Actinomycin C ₃	C ₆₄ H ₉₀ O ₁₆ N ₁₂ (1283,5)

Nimmt man an, daß jede der beiden Carboxy-Gruppen des Desamino-actinoins eine Peptidkette trägt, deren endständige Carboxy-Gruppe mit der Oxy-Gruppe einer Threonin-Moleköl einen Lacton-Ring bildet, so muß man von der Baustein-Summe C₆₄H₁₁₆O₂₉N₁₂ 12 Mol H₂O für die Verknüpfung der Aminosäuren untereinander und mit dem Chromophor und 1 Mol H₂O für die Verknüpfung des Ammoniaks mit dem Desamino-actinoein abziehen. Dem Actinomycin C₃ käme dann die Bruttoformel C₆₄H₉₀O₁₆N₁₂ (1283,5) zu, mit der die Analysenzahlen und die Mol.-Gew.-Werte⁷⁾ aufs beste übereinstimmen.

Durch milde Säureeinwirkung gehen die Actinomycine unter Abspaltung von Ammoniak in die Desamino-actinomycine über¹⁾, eine Reaktion, bei der lediglich die Amino-Gruppe des Chromophors gegen eine Oxy-Gruppe ausgetauscht wird. Demnach müßte der neuen Actinomycin-C₃-Formel entsprechend dem Desamino-actinomycin C₃ die Formel C₆₄H₈₈O₁₇N₁₁ zukommen. Da unsere früheren Analysenzahlen auf diese Formel schlecht passen, haben wir besonders gereinigte Präparate erneut analysiert und dabei Werte erhalten, die mit der C₆₄-Formel gut im Einklang stehen. (C₆₄H₈₈O₁₇N₁₁) Ber.: C = 59,84; H = 6,99; N = 11,99; O = 21,18. Gef.: C = 59,65; H = 7,02; N = 11,65; O = 21,86.

Eingegangen am 26. November 1955 [Z 281]

Zur Konstitution der Actinomycine

Von Prof. Dr. H. BROCKMANN, Dr. G. BOHNSACK,
Dr. B. FRANCK, Dr. H. GRÖNE, Dr. H. MUXFELDT
und Dr. C. SÜLING

Organisch-Chemisches Institut der Universität Göttingen

Auf Grund früherer Befunde⁸⁾ und der in den vorstehenden Mitteilungen angeführten Ergebnisse unseres Arbeitskreises läßt sich für Actinomycin C₃⁹⁾, für das die Bruttoformel C₆₄H₉₀O₁₆N₁₂ ermittelt wurde¹⁰⁾, die vorläufige Strukturformel I aufstellen. In

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

²) H. Brockmann u. H. Gröne, diese Ztschr. 68, 66 [1956].

³) H. Brockmann u. H. Muxfeldt, diese Ztschr. 68, 69 [1956].

⁴) H. Brockmann u. B. Franck, diese Ztschr. 68, 68 [1956].

⁵) H. Brockmann u. B. Franck, Naturwissenschaften 42, 180 [1955].

⁶) H. Brockmann u. H. Muxfeldt, diese Ztschr. 67, 617 [1955]; 67, 618 [1955].

⁷) H. Brockmann u. K. Vohwinkel, diese Ztschr. 67, 619 [1955].

⁸) H. Brockmann, N. Grubhofer, H. Kalbe u. W. Kass, Chem. Ber. 84, 260 [1951]; H. Brockmann, diese Ztschr. 66, 1, [1954].

⁹) H. Brockmann u. H. Gröne, Chem. Ber. 87, 1036 [1954].

¹⁰) H. Brockmann u. B. Franck, diese Ztschr. 68, 70 [1956].