

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-benzyloxy-4-methylbenzoësäure, deren Chlorid mit Glycin-methylester umgesetzt den 2-Nitro-3-benzyloxy-4-methyl-benzoyl-glycinmethylester, farblose Nadeln vom Fp 126 °C, lieferte. Der daraus durch katalytische Hydrierung mit Raney-Nickel erhaltene 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

Despeptido-actinomycin), 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.

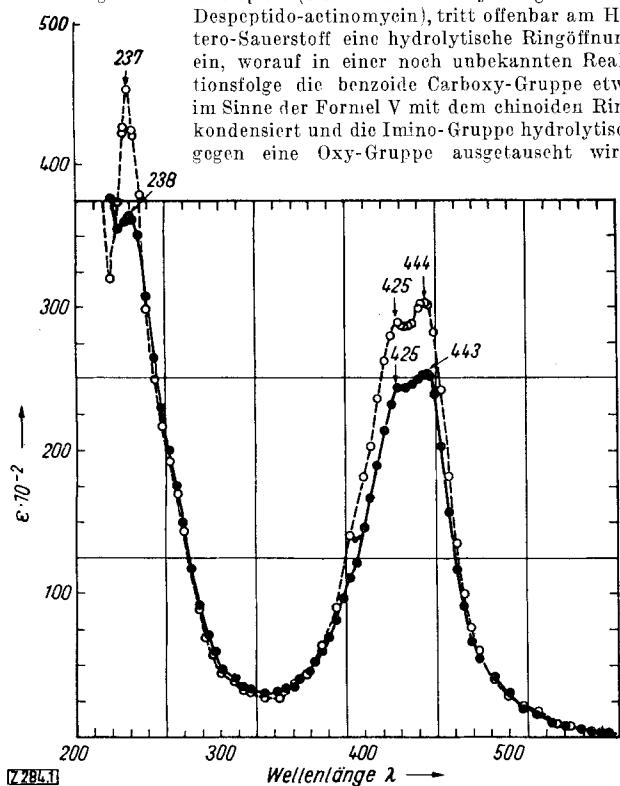


Bild 1
Absorptionskurven von Actinocyl-bis-glycinmethylester (III)
..... und Actinomycin C ●●● in Methanol

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
—	—	C ₆₄ H ₁₁₆ O ₂₉ N ₁₂
—	—	— H ₂₆ O ₁₃ —
—	—	C ₆₄ H ₉₀ O ₁₆ N ₁₂ (1283,5)

Nimmt man an, daß jede der beiden Carboxy-Gruppen des Desamino-actinocins 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 C₆₁H₈₉O₁₇N₁₁ 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].

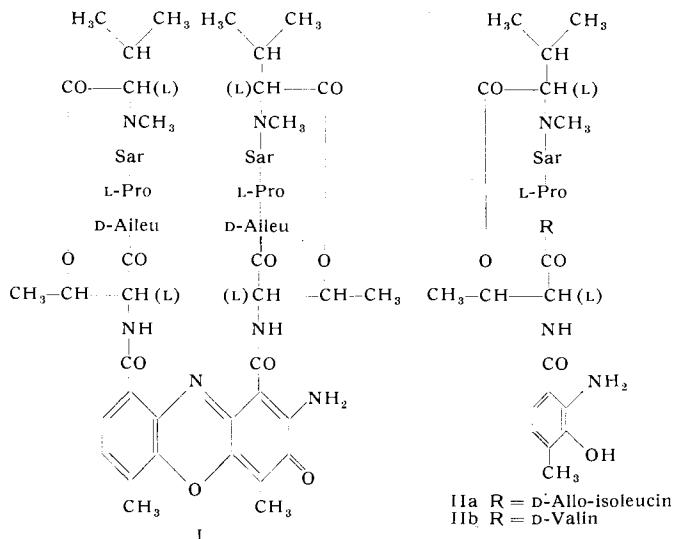
⁷) H. Brockmann u. K. Vohwinkel, diese Ztschr. 67, 619 [1955].

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].

ihre ist die Konstitution des Chromophors und seine Säureamidartige Verknüpfung mit zwei Peptid-lactonen bewiesen durch: 1.) Den Abbau der Actinomycine zu Desamino-actinomycinen¹¹), Desamino-actinoyl-threonin¹²), Actinoecin^{12, 13}), 3-Oxy-1,8-dimethyl-phenoxazon-(2)¹³ und 2,5-Dioxy-toluchinon¹³). 2.) Die Ergebnisse der hydrirenden Acetylierung¹⁴) und 3.) die Übereinstimmung des Absorptionsspektrums von 3-Amino-1,8-dimethyl-phenoxazon-(2)-dicarbonyl-(4,5)-bis-glycinmethylester mit dem der Actinomycine¹⁵).



Für den Peptidteil des Actinomycins C₃ ist folgendes gesichert: 1.) Zahl und Art der Aminosäuren^{8, 16}). 2.) Vorliegen von zwei Lacton-Ringen, bei deren Öffnung die Actinomycine in Actinomycinsäuren übergehen¹⁷). 3.) Stellung der beiden D-N-Methylvalin¹⁷) und Sarkosin-Molekülen¹⁸), sowie der einen Threonin-Molekeln¹²). 4.) Verknüpfung von L-Prolin mit D-Allo-isoleucin¹⁹) in mindestens einer Peptid-Kette. Nicht bewiesen ist die Stellung der zweiten L-Threoninmolekeln sowie die Reihenfolge von L-Prolin und D-Alloisoleucin innerhalb der beiden Ketten.

Die in I angenommene gleiche Struktur der beiden Peptidketten erscheint aber plausibel, wenn man annimmt, daß sich *in vivo* das Ringsystem des Actinomycin-chromophors in gleicher Weise bildet wie bei der 3-Amino-phenoxazon-Synthese *in vitro* (z. B. Synthese des Actinoyl-bis-glycin-methylesters¹⁵)). Actinomycin C₃ würde dann durch oxidative Kondensation von zwei Molekülen des 3-Oxy-4-methylanthranilsäure-Derivates II entstehen. Verschiedene Beobachtungen deuten darauf hin, daß Vorprodukte einer solchen Synthese in Mycel und Kulturlösung von Actinomycin bildenden *Streptomyces*-Stämmen vorkommen²⁰). Daß aus o-Aminophenol-Derivaten *in vivo* Phenoxazon-Derivate entstehen können, zeigt der kürzlich von A. Butenandt und G. Neubert²¹) aufgeklärte Verlauf der Biosynthese von Xanthommatin.

Mit Hilfe der in unserem Institut entwickelten Trennungsmethoden⁹) sind bisher fünfzehn verschiedene Actinomycine isoliert worden. Die Gruppe dieser „Chromopeptide“ weist demnach eine erheblich größere Zahl von Vertretern auf, als irgend eine andere Gruppe von Polypeptid-Antibiotika. Das ist bei dem von uns angenommenen Syntheseweg nicht überraschend, denn

- ¹¹) H. Brockmann u. B. Franck, Chem. Ber. 87, 1767 [1954].
- ¹²) H. Brockmann u. H. Gröne, diese Ztschr. 68, 66 [1956].
- ¹³) H. Brockmann u. H. Muxfeldt, diese Ztschr. 68, 67 [1956].
- ¹⁴) H. Brockmann u. B. Franck, diese Ztschr. 68, 68 [1956].
- ¹⁵) H. Brockmann u. H. Muxfeldt, diese Ztschr. 68, 69 [1956].
- ¹⁶) H. Brockmann u. G. Bohnsack, Naturwissenschaften 40, 223 [1953]; H. Brockmann, H. Gröne u. J. Timm, Naturwissenschaften 42, 125 [1955]; Diplomarbeit H. Vorbrüggen, Göttingen 1955; Diplomarbeit G. Gebhardt, Göttingen 1955.
- ¹⁷) H. Brockmann u. B. Franck, diese Ztschr. 68, 68 [1956].
- ¹⁸) H. Brockmann, G. Bohnsack u. C. Süling, diese Ztschr. 68, 66 [1956].
- ¹⁹) Dissertation G. Bohnsack, Göttingen 1955.
- ²⁰) G. Pampus, unveröffentl.
- ²¹) A. Butenandt u. G. Neubert, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 301, 109 [1955].

bei ihm wird die Variationsmöglichkeit durch die Kondensation von zwei Peptid-haltigen Bauelementen potenziert. Nimmt man z. B. an, daß die *Streptomyces*-Zelle neben einer Vorverbindung II eine zweite oder dritte mit nur unwesentlich abgeändertem Peptid-Teil aufbaut, so können, je nachdem wie diese Bauelemente bei der oxydativen Kondensation kombiniert werden, vier bzw. neun verschiedene Actinomycine entstehen.

Actinomycin C₁, C₂, C_{2a}²²) und C₃ enthalten die Aminosäuren N-Methyl-L-valin, Sarkosin, L-Prolin und L-Threonin paarweise und unterscheiden sich durch ihren Gehalt an D-Valin und D-Allo-isoleucin. Actinomycin C₁ enthält 2 Mol Valin, Actinomycin C₂ 2 Mol Allo-isoleucin und Actinomycin C_{2a} bzw. C₃ je 1 Mol Valin und 1 Mol Allo-isoleucin. Nach dem oben Gesagten, wären zum Aufbau dieser vier Actinomycine nur zwei Vorverbindungen vom Typ II erforderlich, eine (IIa) mit der Peptid-Kette des Actinomycins C₃ und eine (IIb), in der diese Kette an Stelle von Allo-isoleucin Valin enthält.

Eingegangen am 13. Dezember 1955 [Z 285]

Azobenzol-Keten-Addukt

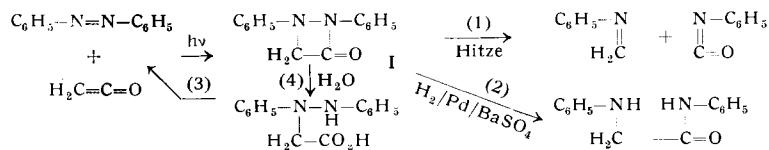
Von Prof. Dr. G. O. SCHENCK
und cand. chem. N. ENGELHARD

Organisch-Chemisches Institut der Universität Göttingen

Diphenylketen liefert mit trans-Azobenzol bei 150 °C ein 1:1-Addukt¹), das bereits bei Zimmertemperatur mit eis-Azobenzol²) oder durch Zusammenbelichten³) der Komponenten entsteht. Reaktionsfreudiger als Azobenzol ist der Phenyl-azo-carbonsäure-äthylester, der Diphenylketen ohne Belichten bereits bei Zimmertemperatur addiert³).

Da analoge Addukte anderer Ketene, insbes. des Grundkörpers, fehlen, versuchten wir im Rahmen der photochemischen Untersuchungen des Erstgenannten die Addition von Keten an Phenyl-azo-carbonester, die jedoch weder thermisch noch durch Belichten gelingt. Überraschenderweise entstand aber aus eis-Azobenzol und Keten in Hexan bei 15 °C glatt das Addukt I (bei raschem Erhitzen Fp 115 °C), das bereits in siedendem Aceton rasch nach (1) in Phenylisoeyanat und sofort polymerisierendes Formanilin gespalten wird. I ist einfach darzustellen durch Belichten von Azobenzol in Hexan, Aceton usw. unter Einleiten von Keten. Auch andere Azo-Verbindungen, die eis-Formen ausbilden können, liefern so Keten-Addukte, die als Derivate des wenig untersuchten viergliedrigen Ringsystems des Dimethylen-dimins einiges Interesse verdienen und von uns, auch im Hinblick auf das Problem der hypothetischen 4-Ring-Peroxyde, näher untersucht werden.

Das Azobenzol-Keten-Addukt ist nach dem IR-Spektrum ein β -Lactam, dessen Konstitution I sich aus der Hydrierung nach (2) ergibt, die zum Anilino-essigsäure-anilid⁴) führt. Mit kaltem Soda-/Permanganat wird (3) der Keten-Teil von I aboxydiert und Azobenzol zurückgebildet. Mit kalter verd. NaOH wird die Amidbindung rasch nach (4) hydrolysiert. Die so erhältliche Diphenylhydrazino-essigsäure, die beim Fp 111 °C decarboxyliert, liefert mit Acetanhydrid gekocht die bei 168–170 °C (Zers.) schmelzende N-Acetyl-Verbindung.



Infolge Spaltung (1) entsteht aus I beim Erwärmen mit wasserhaltigen Lösungsmitteln Diphenylharnstoff; besonders glatt geschieht dies mit Anilin.

Erwärmt man aber z. B. das aus m,n'-Azotoluol und Keten durch Belichten erhaltenen Addukt (Fp 90 °C) mit Anilin, so erhält man ebenfalls Diphenylharnstoff, der aus zunächst gebildetem Phenyl-m-tolyl-harnstoff mit Anilin entsteht.

Eingegangen am 15. Dezember 1955 [Z 276]

²²) B. Franck, unveröffentl.

¹⁾ Staudinger: „Die Ketene“; Ferd. Enke Verlag, Stuttgart, S. 91 [1912].

²⁾ A. H. Cook u. D. G. Jones, J. chem. Soc., London 1941, 184.

³⁾ Chr. K. Ingold u. St. D. Weaver, ebenda 127, 378 [1925].

⁴⁾ O. Hinsberg, Ber. dtsc. chem. Ges. 21, 112 [1888].