

Franck<sup>15)</sup> entwickelten Apparatur mit 220 mg 10-proz. Palladium-Bariumsulfat. Als nach wenigen Minuten die Reaktion unter Aufnahme von 1 Mol. Wasserstoff beendet war, wurde in der Apparatur unter Wasserstoff vom Katalysator abfiltriert, wobei das Filtrat in 2 ccm Acetanhydrid (3 Tropfen Perchlorsäure enthaltend) einfloß. Nach 5 Min. verdünnte man das Reaktionsgemisch mit  $\frac{1}{3}$  seines Vol. Eisessig, goß auf Eis und versetzte nach 20 Min. mit 100 ccm Wasser. Die bei 4° ausgefallene kristalline, grünstichige Fällung (34 mg) zeigte starke blaue Fluoreszenz und bildete nach Umkristallisieren aus Aceton-Petroläther farblose Nadeln vom Schmp. 248–249° (Berl.-Block). Die Verbindung stimmt im Schmp. und UV-Spektrum mit dem mit Zinn(II)-chlorid dargestellten Pentaacetat<sup>11)</sup> überein.

**Dihydro-desoxy-despeptido-actinomycin-tetraacetat:** Zu einer unter Rückfluß kochenden Lösung von 110 mg Despeptido-actinomycin in 12 ccm Acetanhydrid und 0.3 ccm Eisessig gab man innerhalb von 30 Min. 1 g Zinkstaub und hielt anschließend noch 5 Stdn. am Sieden. Dann verdünnte man die hellgelbe, stark blau fluoreszierende Lösung mit 10 ccm Eisessig, goß auf 10 g Eis und versetzte nach 30 Min. mit 500 ccm Wasser. Der nach einiger Zeit abgesaugte, grünstichig-gelbe Niederschlag schied sich aus Benzol wiederum amorph ab (80 mg). 30 mg dieses Produktes löste man in 2 ccm Acetanhydrid (eine Spur Perchlorsäure enthaltend), verdünnte nach 30 Min. mit 2 ccm Eisessig und goß auf Eis. Das ausgefallene Reaktionsprodukt (25 mg) wurde zweimal aus Benzol umkristallisiert. Farblose Kriställchen vom Schmp. 234–235°.

$C_{23}H_{21}O_8N$  (439.4) Ber. C 62.86 H 4.82 4  $CH_3CO$  39.15

Gef.\*) C 63.3 H 5.50  $CH_3CO$  38.2

\*) 2 Stdn. bei 80° i. Hochvak. getrocknet.

**Abbau der Actinomycine zu Despeptido-actinomycin:** Die Actinomycine  $I_1$ ,  $C_2$ ,  $C_3$  und  $X_2$  wurden durch Verteilungschromatographie an Cellulose-Säulen<sup>2)</sup> aus den Actinomycinen  $I$ ,  $C$  bzw.  $X$  abgetrennt und in Mengen von 150–200 mg nach einem verbesserten und in der nächsten Mitteilung<sup>11)</sup> beschriebenen Verfahren zu Despeptido-actinomycin abgebaut. Nach chromatographischer Reinigung an Kieselgel wurde ein Teil jedes Präparates mit Acetanhydrid-Perchlorsäure in das Diacetat übergeführt. Alle Diacetate schmolzen bei 190–191° und gaben, miteinander gemischt, keine Schmp.-Erniedrigung. Die IR-Spektren wurden in Kaliumbromid mit dem Perkin-Elmer-Gerät (Modell 21) aufgenommen und stimmten völlig überein.

## 200. Hans Brockmann und Hans Muxfeldt: Die Konstitution des Despeptido-actinomycins, Actinomycine XVI. Mitteil.<sup>1)</sup>; Antibiotica aus Actinomyceten, XXXV. Mitteil.<sup>1)</sup>

[Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen]

(Eingegangen am 15. Februar 1956)

Das bei der Bariumhydroxyd-Hydrolyse der Actinomycine entstehende rote, kristallisierte Despeptido-actinomycin  $C_{15}H_{11}O_5N$  ist ein aus dem Chromophor der Actinomycine gebildetes Acridonchinon-Derivat, dessen Konstitutionsaufklärung beschrieben wird.

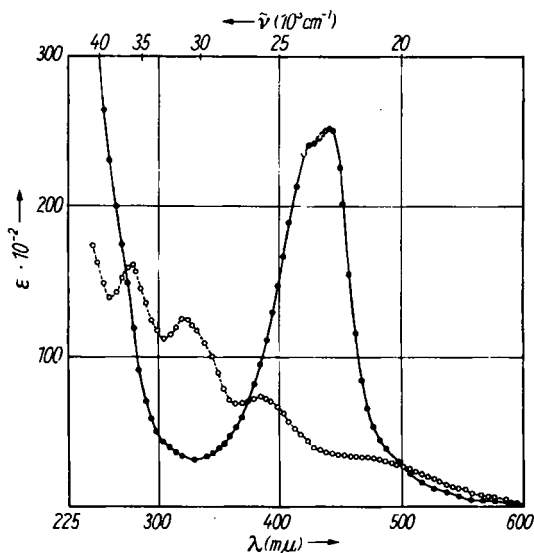
Beim hydrolytischen Abbau der Actinomycine  $I_1$ ,  $C_2$ ,  $C_3$  und  $X_2$  mit Bariumhydroxyd verwandelt sich der Chromophor dieser Chromopeptide unter Abspaltung des Peptidteils in das rote, kristallisierte Despeptido-actinomycin  $C_{15}H_{11}O_5N$ <sup>2)</sup>. Identisch mit diesem erstmalig<sup>3)</sup> beim Bariumhydroxyd-Abbau

<sup>15)</sup> B. Franck, unveröffentlicht.

<sup>1)</sup> XV. bzw. XXXIV. Mitteil.: H. Brockmann u. K. Vohwinkel, Chem. Ber. 89, 1373 [1956]. <sup>2)</sup> H. Brockmann u. K. Vohwinkel, Naturwissenschaften 41, 257 [1954].

<sup>3)</sup> H. Brockmann u. N. Grubhofer, Naturwissenschaften 37, 494 [1950]; Chem. Ber. 86, 1407 [1953].

von Actinomycin C aufgefundenen Spaltstück ist ein später von A. R. Todd und Mitarbb.<sup>4)</sup> auf gleichem Wege aus Actinomycin B<sup>5)</sup> erhaltenes, Actinomycinol B genanntes, rotes Abbauprodukt.



Abbild. 1. Absorptionskurven von Actinomycin C ●—●—● (Methanol) und Deseptido-actinomycin ○—○—○ (Chloroform-Methanol 10:1)

Deseptido-actinomycin unterscheidet sich im Absorptionsspektrum (Abbild. 1) und in seinen Farbreaktionen charakteristisch von den Actinomycinen, was von Anfang an vermuten ließ, daß seine Entstehung an eine Umlagerung des Chromophors geknüpft ist. Die Konstitutionsaufklärung des Actinomycin-Chromophors<sup>6)</sup> hat diese Vermutung bestätigt. Obgleich Deseptido-actinomycin dadurch den Rang eines Sekundärproduktes erhält, hat seine eingehende Untersuchung einen interessanten Beitrag zur Chemie der Actinomycine geliefert und so indirekt auch deren Konstitutionsaufklärung<sup>7)</sup> gefördert.

Bevor wir im folgenden die ausführlichen Belege für die bereits in einer vorläufigen Mitteilung<sup>8)</sup> veröffentlichte Konstitutionsformel des Deseptido-actinomycins bringen, soll kurz eine Verbesserung seiner Darstellung erwähnt werden. Bislang wurde das Ausgangsmaterial 12 Stdn. mit konz. wäßrigem Bariumhydroxyd erhitzt, wobei aus 1 g Actinomycin bestenfalls 20–25 mg Deseptido-actinomycin zu erhalten waren. Diese Ausbeute läßt sich, wie eine systematische Untersuchung der Bariumhydroxyd-Hydrolyse gezeigt hat, auf

<sup>4)</sup> A. W. Johnson, A. R. Todd u. L. C. Vining, J. chem. Soc. [London] 1952, 2672.

<sup>5)</sup> Identisch mit Actinomycin X. Vergl. H. Brockmann u. H. Gröne, Chem. Ber. 87, 1036 [1954]. <sup>6)</sup> H. Brockmann u. H. Muxfeldt, Angew. Chem. 68, 69 [1956].

<sup>7)</sup> H. Brockmann, G. Bohnsack, B. Franck, H. Gröne, H. Muxfeldt u. C. Süling, Angew. Chem. 68, 70 [1956].

<sup>8)</sup> H. Brockmann u. H. Muxfeldt, Angew. Chem. 67, 617 [1955].

das Vierfache (etwa 36 % d. Th.) erhöhen, wenn man in eine 4-proz. äthanolische Actinomycinlösung das gleiche Vol. siedender 6-proz. Bariumhydroxylösung eingießt und nur 15 Min. am Sieden hält. Mit dem so erhaltenen Despeptido-actinomycin, das nach chromatographischer Adsorption einen bisher unerreichten Reinheitsgrad aufweist, hat sich nunmehr auch die Bruttoformel unseres Abbauproduktes endgültig festlegen lassen. Während die Analysenzahlen der ersten Despeptido-actinomycin-Präparate gut auf die Formel  $C_{16}H_{13}O_5N$  paßten<sup>3)</sup>, die auch von den englischen Autoren<sup>4)</sup> für ihr Actinomycinol B angenommen wurde, sprach die Zusammensetzung später gewonnener Proben für  $C_{15}H_{11}O_5N^9)$ . Diese Formel wird durch die Analysenzahlen unserer neuen Präparate endgültig bestätigt.

Wie sich aus unseren Hydrolyseversuchen ergibt, wird der Peptidteil der Actinomycinmolekel durch Bariumhydroxyd bereits unter sehr milden Bedingungen vom Chromophor abgelöst. Daß trotzdem die Ausbeute des gegen Alkali sehr beständigen Despeptido-actinomycins nicht über 36 % d. Th. zu bringen ist, zeigt unabhängig von dem oben gesagten, daß Despeptido-actinomycin nicht im Actinomycin-Chromophor vorgebildet ist, sondern offenbar bei einer als Nebenreaktion ablaufenden Umlagerung des Chromophors entsteht.

#### Die funktionellen Gruppen des Despeptido-actinomycins

Das zwei *C*-Methylgruppen enthaltende Despeptido-actinomycin bildet ein rotes Perchlorat<sup>1)</sup>, löst sich in wäßrigem Natriumhydrogencarbonat und hat somit sowohl basischen wie sauren Charakter. Sein Stickstoffatom liegt sicher nicht als Aminogruppe vor<sup>9)</sup>.

Acetylierung in saurem Milieu liefert ein kristallisiertes gelbes Despeptido-actinomycin-diacetat<sup>2)</sup>, das schon beim Kochen mit Methanol zu einem roten Monoacetat verseift wird und ebenso wie Despeptido-actinomycin ein Monoperchlorat bildet<sup>1)</sup>. Acetylierung in Pyridin gibt ein hellgelbes Despeptido-actinomycin-triacetat<sup>1)</sup>, hydrierende Acetylierung ein farbloses Dihydro-despeptido-actinomycin-pentaacetat<sup>1)</sup> und reduzierende Acetylierung durch längeres Kochen mit Zinkstaub-Eisessig-Acetanhydrid ein gelbes Dihydro-desoxy-despeptido-actinomycin-tetraacetat<sup>1)</sup>.

Von den fünf Sauerstoffatomen des Despeptido-actinomycins liegen somit zwei als Hydroxy- und zwei als Chinon-carbonylgruppen vor. Danach kann eine Carboxygruppe nicht vorhanden sein, eine Folgerung, die durch das IR-Spektrum<sup>1)</sup> bestätigt wird. Für die Löslichkeit des Despeptido-actinomycins in wäßrigem Natriumhydrogencarbonat muß demnach eine stark saure Hydroxygruppe verantwortlich sein. Das fünfte Sauerstoffatom wurde bisher einer in einem Ring stehenden CO-NH-Gruppe zugeordnet<sup>9)</sup>. Diese Ergebnisse, zusammen mit der wasserstoffarmen Bruttoformel  $C_{15}H_{11}O_5N$  und gewissen spektroskopischen Beobachtungen, schienen zunächst für eine Az-anthrachinonformel (I) zu sprechen<sup>9)</sup>.

Die vorstehenden Befunde haben wir durch Darstellung neuer Despeptido-actinomycin-Derivate ergänzt und erweitert. Dabei ergab sich, daß bei der reduzierenden Acetylierung statt Zinkstaub mit Vorteil auch Zinn(II)-chlorid verwendet werden kann. In Gegenwart von Perchlorsäure erhielten wir so ein farbloses, kristallisiertes Dihydro-despeptido-actinomycin-penta-

<sup>9)</sup> H. Brockmann u. G. Budde, *Naturwissenschaften* 40, 529 [1953].

acetat vom Schmp. 249–251°, das später auch durch hydrierende Acetylierung gewonnen werden konnte<sup>1</sup>). Bei sehr kurzer Einwirkung von Zinn(II)-chlorid und Acetanhydrid faßten wir ein gelbes, kristallisiertes Dihydro-despeptido-actinomycin-tetraacetat vom Schmp. 272–275°.

Als wir Despeptido-actinomycin in Eisessig mit Zinn(II)-chlorid erhitzten, entstand ein in goldgelben Nadeln kristallisierendes Dihydro-despeptido-actinomycin, das durch Luft in saurer und neutraler Lösung langsam, in alkalischer schnell zum Ausgangsmaterial reoxydiert wird. Die gleiche Dihydroverbindung bildete sich bei Reduktion mit Jodwasserstoff oder Natriumdithionit.

Wirkt Zinn(II)-chlorid in Chloroform auf Despeptido-actinomycin ein, so bildet sich unter Rotfärbung der Lösung ein Zinnkomplexsalz des Dihydro-despeptido-actinomycins.

Sehr eingehend wurde die Methylierung des Despeptido-actinomycins untersucht; einmal um dadurch Näheres über das in seiner Funktion noch nicht geklärte fünfte Sauerstoffatom zu erfahren, zum anderen, weil wir zunächst der Ansicht waren, daß für die Konstitutionsaufklärung ein stufenweiser oxydativer Abbau unumgänglich und dafür ein Methyläther am besten geeignet sei.

Methylierungsversuche mit Dimethylsulfat-Alkali verliefen unbefriedigend, weil dabei Gemische verschiedener Methylierungsprodukte entstanden. Sehr gut bewährte sich dagegen Methyljodid-Silberoxyd, mit dem wir in guter Ausbeute einen in orangeroten Nadeln kristallisierenden, in wäßrigem Alkali unlöslichen Despeptido-actinomycin-trimethyläther vom Schmp. 168° erhielten.  $2n\text{Na}_2\text{CO}_3$  verseifte ihn leicht zu einem roten, kristallisierten Monomethyläther, der bei 70° in eine gelbe, bei 215–216° schmelzende Modifikation überging. Weder der Trimethyläther noch der Monomethyläther gaben in Methanol die für Despeptido-actinomycin charakteristische blauviolette Farbreaktion<sup>8</sup>) mit Bleiacetat.

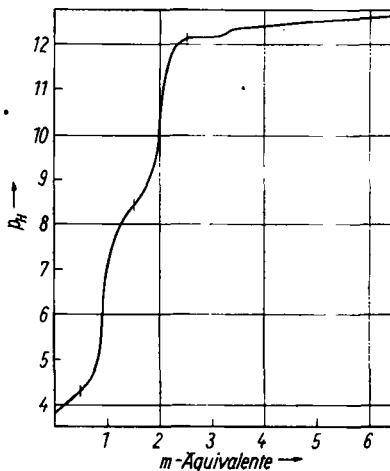
Reduzierende Methylierung von Despeptido-actinomycin in Aceton mit Natriumdithionit und Dimethylsulfat-Kaliumcarbonat führte zu einem Produkt, aus dem durch chromatographische Adsorption an Aluminiumoxyd ein kristallisierter Dihydro-despeptido-actinomycin-tetramethyläther vom Schmp. 184° und ein ebenfalls kristallisierter Trimethyläther vom Schmp. 192° abgetrennt werden konnten. Beide sind blaßgelb und lassen sich aus Chloroform nicht mit  $2n\text{NaOH}$  ausschütteln. Wie zu erwarten, wird der Trimethyläther an Aluminiumoxyd erheblich fester adsorbiert als der Tetramethyläther.

Zusammenfassend ergibt sich also: Das in seiner Funktion noch nicht geklärte Sauerstoffatom reagiert bei der Umsetzung mit Methyljodid-Silberoxyd als Hydroxygruppe, während es bei der reduzierenden Methylierung nicht erfaßt wird.

#### Stellung und Substituenten des chinoiden Ringes

Ausgangspunkt für die Aufklärung des chinoiden Ringes und damit für die Widerlegung von Formel I war die Feststellung, daß sich Despeptido-

actinomycin trotz fehlender Carboxygruppe in wäßrigem Natriumhydrogencarbonat löst und demnach mindestens eine stark saure Hydroxygruppe enthält. Um ein Maß für deren Acidität zu erhalten, hat K. Vohwinkel<sup>10)</sup> Despeptido-actinomycin potentiometrisch in 50-proz. Dimethylformamid mit 0.1 *n* NaOH titriert. Die dabei erhaltene Kurve (Abbild. 2) zeigt zwei Wendepunkte, die zwei sauren Gruppen mit den relativen  $p_K$ -Werten 4.8 und 8.2 entsprechen. Ein kaum erkennbarer dritter Wendepunkt läßt auf eine weitere, schwach saure Gruppe (relativer  $p_K$ -Wert etwa 12.1) schließen. Für Benzoesäure ergab sich unter gleichen Bedingungen der relative  $p_K$ -Wert 5.8. Danach ist also von den Hydroxygruppen des Despeptido-actinomycins eine stärker sauer als Benzoesäure. Eine derartige Acidität erreichen Hydroxygruppen nur, wenn sie einer Chinoncarbonylgruppe benachbart sind; so wurde für 2-Hydroxy-naphthochinon-(1.4) (II) in 50-proz. Dimethylformamid der relative  $p_K$ -Wert 4.65 gefunden<sup>10)</sup>, der dem für Despeptido-actinomycin ermittelten Wert 4.8 sehr nahe kommt.



Abbild. 2. Potentiometrische Titration von Despeptido-actinomycin in 50-proz. Dimethylformamid mit 0.1 *n* NaOH

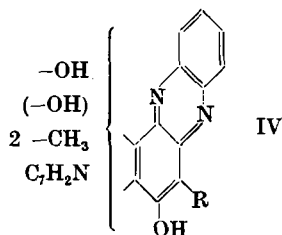
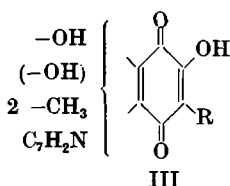
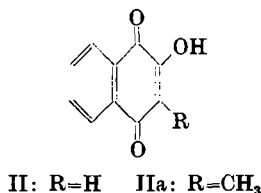
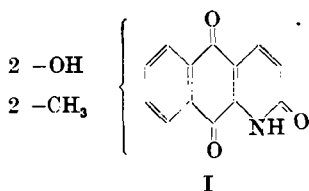
Aus den  $p_K$ -Messungen geht somit eindeutig hervor, daß der chinoide Ring des Despeptido-actinomycins eine Hydroxygruppe trägt. Dann aber kann er nicht wie in I von zwei Ringen flankiert sein, sondern muß, wie in Teilformel III, „außen“ stehen. Dementsprechend war zu erwarten, daß Despeptido-actinomycin wie andere 2-Hydroxy-chinone mit *o*-Phenylendiamin zu einem Phenazinderivat kondensiert. Wie wir fanden, ist das in der Tat der Fall. Das in guter Ausbeute erhaltene Kondensationsprodukt  $C_{21}H_{15}O_3N_3$  kristallisiert in beigefarbenen Nadeln, die sich oberhalb von 240° zersetzen.

Wenn Despeptido-actinomycin mit *o*-Phenylendiamin so reagiert wie ein 2-Hydroxy-chinon, verliert es dabei eine Hydroxygruppe und ein Chinon-Sauerstoffatom, während aus seiner zweiten Chinon-carbonylgruppe eine Hydroxygruppe wird. Da auf diese Weise für die verschwindende Hydroxygruppe eine neue entsteht, sollte das Kondensationsprodukt ebenso wie Despeptido-actinomycin bei Acetylierung in alkalischem Milieu ein Triacetat bilden. Diese Erwartung hat sich auch bestätigt. Mit Pyridin-Acetanhydrid erhielten wir ein gelbes, kristallisiertes Triacetat  $C_{27}H_{21}O_6N_3$  vom Schmp. 258°. Damit war für das Kondensationsprodukt die Teilformel IV und für Despeptido-actinomycin die Teilformel III gesichert.

Die Frage, ob der chinoide Ring neben der Hydroxygruppe noch einen zweiten Substituenten enthält, läßt sich an Hand von Analogiebeispielen be-

<sup>10)</sup> Diplomarbeit Göttingen 1955.

antworten. 2-Hydroxy-naphthochinon-(1.4) (II) und 3-Hydroxy-phenanthren-chinon-(1.4) sind gegen Alkali sehr empfindlich und können mit Methanol-Salzsäure veräthert werden. Enthält ihr chinoider Ring dagegen außer der Hydroxygruppe noch eine Methylgruppe (IIa), so sind sie gegen Alkali recht beständig, während die Methylierung mit Methanol-Salzsäure nicht mehr gelingt<sup>11)</sup>. Die gleiche Indifferenz gegen Methanol-Salzsäure und eine ungewöhnliche Resistenz gegenüber Alkali fanden wir beim Despeptido-actinomycin; ein Verhalten, das den eben genannten Beispielen nach nur dann verständlich ist, wenn in Formel III eine der beiden vor der Klammer stehenden Methylgruppen als R im chinoiden Ring steht.



Ein weiteres Argument für diese Anordnung hat die Hypojodit-Oxydation des Despeptido-actinomycins geliefert, bei der nahezu 1 Mol. Jodoform entstand. Daß dieses nicht einer  $\text{CH}_3\text{CO}$ -Gruppe entstammt, ergibt sich aus dem IR-Spektrum des Despeptido-actinomycins, dem die für diese Gruppe charakteristische CO-Bande fehlt. Und schließlich geht auch aus den unten angeführten Redoxpotentialen des Despeptido-actinomycins sowie einiger Modellsubstanzen hervor, daß eine der beiden C-Methylgruppen im chinoiden Ring steht.

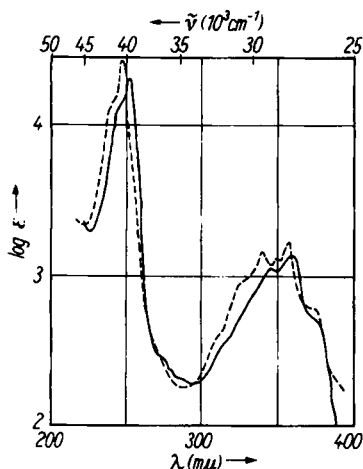
### Das Grundgerüst des Despeptido-actinomycins

Frühere Versuche<sup>9)</sup>, durch Zinkstaubdestillation Aufklärung über das Grundgerüst des Despeptido-actinomycins zu erhalten, hatten so geringe Ausbeuten an öligem Destillat geliefert, daß an dessen eingehende Untersuchung nicht zu denken war. Charakterisiert wurde es lediglich durch seine Absorptionskurve, die eine gewisse Ähnlichkeit mit der Kurve eines aus Azachinizarin gewonnenen Zinkstaubdestillates hatte. Trotz dieses wenig ermutigenden Ergebnisses haben wir die Zinkstaub-Reduktion erneut untersucht, und zwar zunächst in Form der Zinkstaubschmelze<sup>12)</sup>. Aber auch dabei entstanden nur so geringe Mengen eines zudem noch öligen Reduktionsproduktes, daß dessen weitere Reinigung unmöglich war.

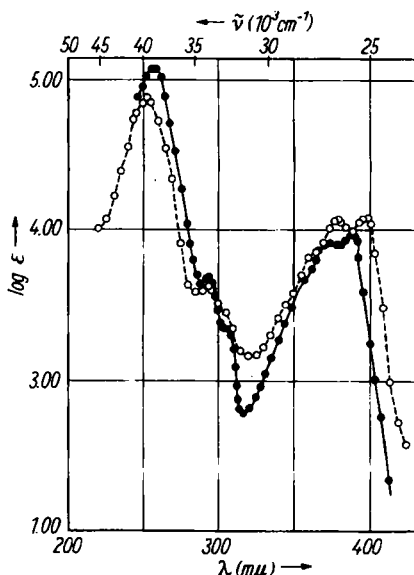
<sup>11)</sup> L. F. Fieser u. J. T. Dunn, J. Amer. chem. Soc. **59**, 1024 [1937].

<sup>12)</sup> E. Clar, Ber. dtsh. chem. Ges. **72**, 1645 [1939].

Erfolg hatten wir erst, als wir uns wieder der Zinkstaubdestillation zuwandten und jeweils 5 mg Despeptido-actinomycin mit hochaktivem Elektrolyt-Zinkstaub erhitzten. Zwanzig solcher Ansätze lieferten insgesamt 13 mg eines teilweise kristallisierten Reduktionsproduktes, das aus seiner farblosen, blau fluoreszierenden Ätherlösung mit gelber Farbe und gelbgrüner Fluoreszenz in Mineralsäuren überging und sich dadurch als Base zu erkennen gab. Es ließ sich in ein kristallisiertes Pikrat (Zers. bei  $225^{\circ}$ ) und Sulfat überführen. Die aus dem Sulfat freigesetzte Base kristallisierte in farblosen Nadeln vom Schmp.  $120-121^{\circ}$ . Da ihre Menge zur Analyse nicht ausreichte, wurde versucht, sie spektroskopisch zu identifizieren. Dabei ergab sich eine so weitgehende Ähnlichkeit ihrer Absorptionskurve mit der des Acridins (Abbild. 3), daß die Base damit einwandfrei als Acridinderivat charakterisiert ist. Daß



Abbild. 3. Absorptionskurve des Zinkstaubdestillates aus Despeptido-actinomycin — und des Acridins ---- in Petroläther

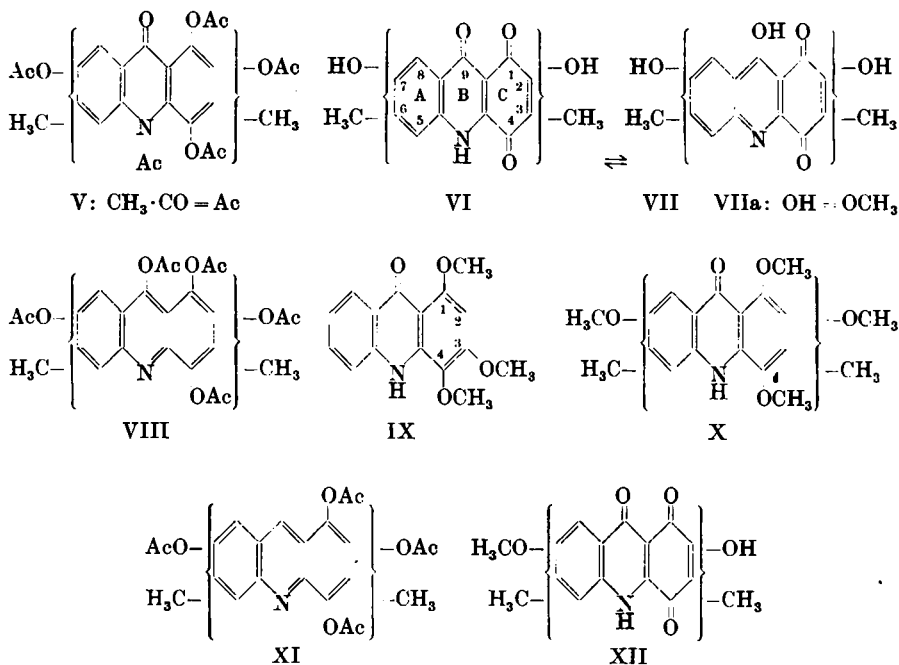


Abbild. 4. Absorptionskurve von Dihydro-despeptido-actinomycin-pentaacetat in Chloroform ●—● und Acridon in Methanol —○—○—

ihre Hauptmaxima um wenige  $m\mu$  längerwellig liegen als die des Acridins ist nicht überraschend. Denn Despeptido-actinomycin enthält zwei *C*-Methylgruppen und muß daher, wenn sein Stammkohlenwasserstoff Acridin ist, bei der Zinkstaubdestillation ein Dimethyl-acridin liefern. Dimethyl-acridine aber haben dank des schwach bathochromen Effektes ihrer Methylgruppen etwas längerwellige  $\lambda_{\max}$ -Werte als Acridin.

Nachdem feststand, daß Acridin der Stammkohlenwasserstoff des Despeptido-actinomycins ist, ließ sich — ebenfalls spektroskopisch — auch die Stellung des in seiner Funktion noch unbekannten Sauerstoffatoms ermitteln. Ein spektroskopischer Vergleich des Dihydro-despeptido-actinomycin-penta-

acetates mit Acridon ergab nämlich eine auffallende Ähnlichkeit in den Absorptionskurven (Abbild. 4). Aus dieser weitgehenden Übereinstimmung im Spektrum und der Tatsache, daß bei aromatischen Ringsystemen Methyl- und Acetoxygruppen die Absorptionskurve kaum „deformieren“<sup>13)</sup>, läßt sich der Schluß ziehen, daß Dihydro-despeptido-actinomycin-pentaacetat ein Acridon-derivat ist, in dem ein Acetylrest im Sinne der Teilformel V am N-Atom steht. Despeptido-actinomycin muß somit ein Dihydroxy-dimethyl-acridon-chinon-(1.4) der Teilformel VI sein. Nach dieser Formel wäre bei der reduzierenden Acetylierung (unter Enolisierung der CO-Gruppe des mittleren Ringes (VII)) auch die Bildung eines Pentaacetates VIII möglich. Daß diese Struktur für unsere Verbindung nicht in Betracht kommt, ergibt sich aus ihrem acridon-ähnlichen Spektrum. Eine Verbindung VIII müßte eine Absorptionskurve haben, die der des Acridins ähnlich ist.



Weitere Argumente für die Despeptido-actinomycin-Formel VI haben die Absorptionskurven des oben beschriebenen Dihydro-despeptido-actinomycin-tetramethyläthers und des Dihydro-desoxy-despeptido-actinomycin-tetraacetates<sup>1)</sup> geliefert. Wie Abbild. 5 zeigt, ist die Absorptionskurve des Dihydro-despeptido-actinomycin-tetramethyläthers der des 1.3.4-Trimethoxy-acridons (IX) so ähnlich, daß an der Acridonstruktur des Despeptido-actinomycin-Derivates nicht zu zweifeln ist. Ihm kann daher die Teilformel X zugeschrieben werden.

<sup>13)</sup> H. Brockmann u. G. Budde, Chem. Ber. 86, 438 [1953].



Das unter energischen Reduktionsbedingungen entstehende Dihydro-desoxy-despeptido-actinomycin-tetraacetat hat abweichend von den beiden vorher genannten Derivaten eine Absorptionskurve, die der des Acridins ähnlich

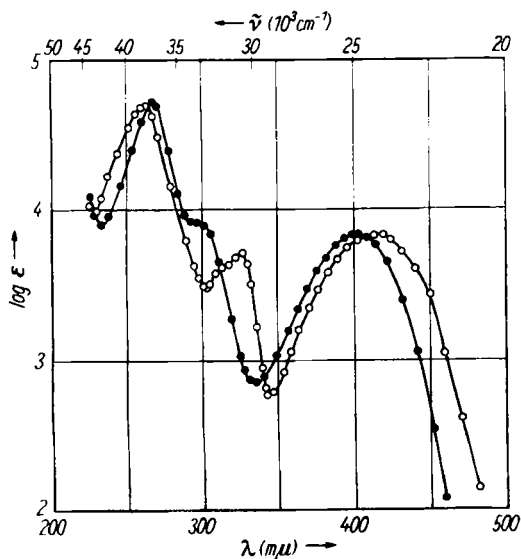


Abbildung 5. Absorptionskurven von Dihydro-despeptido-actinomycin-tetramethyläther ●-●-● und 1.3.4-Trimethoxy-acridon ○-○-○ in Methanol

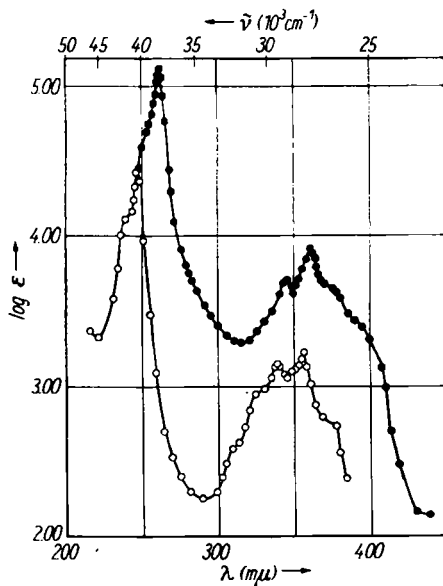


Abbildung 6. Absorptionskurven von Dihydro-desoxy-despeptido-actinomycin-tetraacetat ●-●-● in Chloroform und Acridin ○-○-○ in Petroläther

ist (Abbildung 6). Das ist nicht überraschend, sondern bestätigt im Gegenteil, daß Despeptido-actinomycin ein Acridonderivat ist. Denn Acridon läßt sich unter den zur Darstellung unserer Desoxyverbindung angewandten Bedingungen zum Acridan reduzieren, das seinerseits durch Luftsauerstoff leicht zum Acridin dehydriert wird. Dem Dihydro-desoxy-despeptido-actinomycin-tetraacetat kann demnach Teilformel XI zugeschrieben werden.

Nachdem somit für Despeptido-actinomycin Teilformel VI gesichert war<sup>14)</sup>, wurde versucht, an Hand von Redoxpotentialmessungen geeigneter Vergleichssubstanzen einen weiteren Beweis dafür zu erbringen, daß eine der beiden Methylgruppen im chinoiden Ring steht. Zu dem Zweck hat K. Vohwinkel die Redoxpotentiale des Despeptido-actinomycins und einiger Acridon-chinon-Derivate<sup>15)</sup> bestimmt (Tafel 1 s. S. 1388).

Aus diesen Messungen ergibt sich: Einführung einer Hydroxygruppe in den benzoiden Ring des Acridon-chinons ändert dessen Redoxpotential kaum; das Redoxpotential von 6-Hydroxy-acridon-chinon-(1.4) ist nur um 4 mV positiver als das des Acridon-chinons-(1.4). Dagegen erniedrigt eine Methyl-

<sup>14)</sup> H. Brockmann u. H. Muxfeldt, *Naturwissenschaften* 41, 500 [1954].

<sup>15)</sup> H. Brockmann, H. Muxfeldt u. G. Haege, demnächst in dieser Zeitschrift.

Tafel 1. Redoxpotentiale von Acridon-chinonen und Desseptido-actinomycin  
Titration in 50-proz. Essigsäure mit Titan(III)-chlorid

Verbindung	Redox- potential	Veränderung des Redoxpotentials durch Substituenten
Acridon-chinon-(1.4) .....	635 mV	
6-Hydroxy-acridon-chinon-(1.4) ....	639 mV	+ 4 mV
3-Methyl-acridon-chinon-(1.4) .....	600 mV	+ 35 mV
2-Hydroxy-acridon-chinon-(1.4) ....	484 mV	-151 mV
Desseptido-actinomycin .....	451 mV	

gruppe an C<sup>3</sup> des chinoiden Ringes das Redoxpotential um 35 mV, und eine Hydroxygruppe an C<sup>2</sup> sogar um 151 mV.

Nimmt man an, daß 1. bei Acridon-chinonen-(1.4) in gleicher Weise wie bei Naphthochinonen<sup>16)</sup> die durch Substituenten des Chinonringes bewirkten Änderungen des Redoxpotentials annähernd additiv sind und 2. Substituenten des benzoiden Ringes keinen wesentlichen Einfluß haben, so sollte nach VI und Tafel 1 das Redoxpotential des Desseptido-actinomycins dank der Methylgruppe des chinoiden Ringes um 35 mV und dank dessen Hydroxygruppe um 151 mV negativer sein als das des Acridon-chinons-(1.4), d. h. + 449 mV betragen. Gefunden wurde für Desseptido-actinomycin + 451 mV (Tafel 1). Diese gute Übereinstimmung darf als weiterer Beweis dafür gelten, daß der chinoid Ring des Desseptido-actinomycins eine Methylgruppe enthält.

Nachdem gesichert war, daß Desseptido-actinomycin ein Derivat des Acridon-chinons-(1.4) ist, gelang auch die Zuordnung seiner relativen  $p_K$ -Werte 8.4 und 12.1. Da für Acridon-chinon-(1.4)<sup>15)</sup> in 50-proz. Formamid der relative  $p_K$ -Wert 7.45 gefunden wurde<sup>16)</sup>, muß der  $p_K$ -Wert 8.4 der NH-Gruppe (VI) bzw. der an C<sup>9</sup> stehenden Hydroxygruppe der Enolform VII zugeschrieben werden. Der relative  $p_K$ -Wert 12.1 kommt also der im Ring A befindlichen Hydroxygruppe zu.

Wie oben erwähnt, wird der Desseptido-actinomycin-trimethyläther durch  $2n\text{NaCO}_3$  leicht zu einem Monomethyläther verseift. Dieser Äther zeigte bei potentiometrischer Titration in 50-proz. Dimethylformamid die gleichen  $p_K$ -Werte 4.3 und 8.4 wie Desseptido-actinomycin. Demnach wird bei der Verseifung des Trimethyläthers außer der Hydroxygruppe des Chinonringes auch die  $\text{O}-\text{C}(\text{C})-\text{NH}$ -Gruppierung des mittleren Ringes freigelegt. Damit ist endgültig bewiesen, daß diese Gruppierung im Trimethyläther in der Enolform vorliegt, denn eine am N-Atom hängende Methylgruppe würde nicht durch  $2n\text{NaCO}_3$  abgespalten. Der Monomethyläther hat somit Formel XII, und da er nicht die für Desseptido-actinomycin charakteristische Blaufärbung mit Bleiacetat gibt, ist bewiesen, daß für diese Reaktion die im Ring A (VI) stehende Hydroxygruppe des Desseptido-actinomycins verantwortlich ist.

<sup>16)</sup> K. Wallenfels u. W. Möhle, Ber. dtsch. chem. Ges. **76**, 928 [1943].

Die Stellung der Methyl- und Hydroxygruppen in Ring A und C

Als letzte Aufgabe blieb übrig, die Stellung der Methyl- und Hydroxygruppen in Ring A und C zu ermitteln, wobei zunächst zu prüfen war, wieweit sich diese Aufgabe mit der klassischen Methode des stufenweisen Abbaus lösen läßt. Beim oxydativen Abbau, für den der Despeptido-actinomycin-trimethyläther am besten geeignet erschien, war zu erwarten: 1. Öffnung des Chinonringes und Umwandlung seiner Carbonyl- in Carboxygruppen unter Bildung einer Dimethoxy-methyl-chinolidon-dicarbonsäure-(2,3), 2. bei Übergreifen der Oxydation auf den mittleren Ring die Entstehung einer *N*-Formyl-methoxy-methyl-anthranilsäure. Durch Isolierung und Strukturermittlung derartiger Spaltstücke ließe sich die Stellung der Methyl- und Methoxygruppe in Ring A ermitteln, nicht aber die der im chinoiden Ring stehenden Substituenten. Trotz dieses Nachteils haben wir den oxydativen Abbau des Despeptido-actinomycin-trimethyläthers eingehend untersucht. Salpetersäure, Chromsäure, Peressigsäure, Ozon und alkalisches Wasserstoffperoxyd lieferten in sehr geringer Menge kristallisierte, uneinheitliche Abbauprodukte. Nicht ganz so ungünstig verlief die Permanganat-Oxydation. In leidlicher Ausbeute entstand dabei eine farblose, kristallisierte Verbindung  $C_{17}H_{15}O_7N$ , die unter Kohlendioxyd-Entwicklung bei 128–129° schmilzt, ammoniakalische Silber-salzlösung beim Erwärmen reduziert und noch alle Methoxy- und Methylgruppen des Ausgangsmaterials enthält. Kleinere Abbauprodukte waren auch bei der Permanganat-Oxydation nicht zu fassen.

Zu erwähnen ist, daß beim Versuch, Despeptido-actinomycin mit Natriumnitrit-Salzsäure abzubauen, in guter Ausbeute ein kristallisiertes Nitro-despeptido-actinomycin  $C_{18}H_{10}O_7N_2$  entstand.

Da nach diesen Ergebnissen vom oxydativen Abbau keine Lösung unserer Aufgabe zu erwarten war, wurde nach anderen Abbaumöglichkeiten gesucht. Nach VI kann Despeptido-actinomycin formal als ein in 5,6-Stellung substituiertes Hydroxy-methyl-benzochinon aufgefaßt werden. Danach schien es nicht ausgeschlossen, durch hydrolytische Sprengung des Heteroringes zu einer dem Ring A entstammenden, substituierten Anthranil- oder Salicylsäure zu kommen. Entsprechende Versuche zeigten jedoch, daß Despeptido-actinomycin gegen Säure und Alkali sehr beständig ist. Mit konz. Salzsäure bildeten sich erst ab 200° allmählich schwarze Zersetzungsprodukte, und beim Kochen mit 2*n* NaOH fiel nach einiger Zeit ein ziegelrotes Natriumsalz aus, dessen Schwerlöslichkeit jede weitere Reaktion verhinderte; selbst nach dreitägiger Behandlung mit siedendem 2*n* NaOH ließen sich 95% des Ausgangsmaterials zurückgewinnen. Auch beim Erhitzen mit konz. wäßrigem oder methanolischem Alkali kam es zu keinem Abbau, denn unter diesen Bedingungen fiel ein unlösliches, bläuliches Alkalisalz aus.

Nachdem uns diese Mißerfolge zu der Überzeugung gebracht hatten, daß mit der klassischen Methode des stufenweisen Abbaus die Stellung der Hydroxy- und Methylgruppen kaum zu ermitteln ist, haben wir uns der Frage zugewandt, wieweit diese Aufgabe auf spektroskopischem Wege zu lösen ist. Dabei gingen wir von folgenden Tatsachen und Überlegungen aus:

Die durch reduzierende Acetylierung von Hydroxy-anthrachinonen entstehenden Acetoxy-anthracene zeigen alle noch das charakteristische Absorptionsspektrum ihres Stammkohlenwasserstoffes Anthracen, nur sind verglichen mit ihm, ihre langwelligen Maxima mehr oder weniger weit nach Rot verschoben<sup>13)</sup>. Der Betrag dieser Rotverschiebung setzt sich additiv aus den „Verschiebungsbeiträgen“ der einzelnen Acetoxygruppen

zusammen, wobei die Größe dieses Beitrages davon abhängt, ob die Acetoxygruppe *meso*-,  $\alpha$ - oder  $\beta$ -ständig ist. Dank dieser Beziehung läßt sich für jedes beliebige Poly-acetoxy-anthracen die Lage seiner langwelligen Maxima auf 1  $\mu$  genau vorausberechnen<sup>12)</sup>.

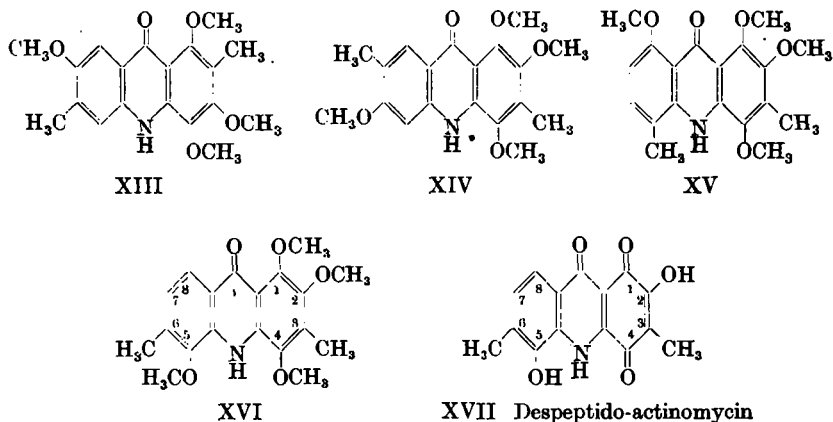
Wie oben gezeigt, ist das Dihydro-despeptido-actinomycin-pentaacetat vom Schmp. 249–251° ein Pentaacetoxy-dimethylacridon der Formel V. Nimmt man an, daß bei Acetoxy-acridonen bzw. Acetoxy-methylacridonen ähnliche spektroskopische „Verschiebungsregeln“ gelten wie bei den Acetoxy-anthracenen, so müßte sich an Hand des Acridonspektrums und der „Verschiebungsbeiträge“ der Acetoxy- bzw. Methylgruppen für alle 24 Isomeren der Formel V die Lage ihres langwelligen Absorptionsmaximums berechnen lassen. Durch Vergleich der berechneten Werte mit dem für Dihydro-despeptido-actinomycin-pentaacetat gefundenen sollte man dann entscheiden können, welche Stellungen für die beiden in Formel V ausgeklammerten Acetoxy- und Methylgruppen mit Sicherheit auszuschließen sind.

Um festzustellen, ob die diesen Überlegungen zugrunde liegende Annahme richtig ist, mußten die Absorptionskurven verschiedener Polyacetoxy-acridone und Methyl-acridone aufgenommen werden. Versuche in dieser Richtung verliefen jedoch unbefriedigend, denn in vielen Fällen war es ungewöhnlich schwierig, einheitliche Acetoxy-acridone zu erhalten. Deshalb haben wir geprüft, ob sich an Stelle der Acetoxy-acridone auch Methoxy-acridone verwenden lassen, die leichter in reiner Form zu gewinnen sind.

Statt Dihydro-despeptido-actinomycin-pentaacetat mußte dann der Dihydro-despeptido-actinomycin-tetramethyläther als Vergleichssubstanz dienen, dem die Teilformel X zukommt; und die Frage, um die es nunmehr ging, war folgende: Läßt sich für die 24 Stellungsisomeren der Teilformel X aus den „Verschiebungsbeiträgen“ der in X ausgeklammerten Methyl- und Methoxygruppen die Lage der längstwelligen Absorptionsbande auf etwa 2  $\mu$  genau berechnen und kann durch Vergleich der berechneten  $\lambda_{\max}$ -Werte mit dem für Dihydro-despeptido-actinomycin-tetramethyläther gefundenen ( $\lambda_{\max}$ : 403  $\mu$ ) die Zahl der für diese Verbindung in Frage kommenden Formeln von 24 auf einige wenige reduziert werden, unter denen dann mit anderen Methoden eine weitere Auswahl zu treffen ist.

Die spektroskopische Untersuchung einer größeren Zahl von Methoxy- und Methyl-acridonen, über die gesondert berichtet wird<sup>15)</sup>, hat gezeigt, daß die Lage ihres längstwelligen Maximums in charakteristischer Weise von Zahl und Stellung der Methoxy- und Methylgruppen abhängt. An Hand der Spektren aller acht 1.4.x.y-Tetramethoxy-acridone und unter der Annahme, daß in den 24 Isomeren der Teilformel X die Absorptionsinkremente der beiden Methylgruppen die gleichen sind wie bei den Monomethylacridonen, haben wir für alle 24 Isomeren von X die  $\lambda_{\max}$ -Werte ihres längstwelligen Maximums berechnet und mit dem für Dihydro-despeptido-actinomycin-tetramethyläther gefundenen verglichen; mit dem Ergebnis, daß – bei Annahme einer Fehlerbreite von 2–3  $\mu$  für die berechneten Werte – von den 24 zunächst in Betracht kommenden Formeln 20 mit hinreichender Sicherheit auszuschließen und nur XIII–XVI in die engere Wahl zu stellen waren.

Unter ihnen ließ sich an Hand des oben beschriebenen Zinkstaubdestillates eine weitere Auslese treffen. Käme nämlich dem Dihydro-despeptido-actinomycin-tetramethyläther Formel XIII oder XIV zu, so müßte Despeptido-actinomycin bei der Zinkstaubdestillation 2.6-Dimethyl-acridin liefern. Dieses



Tafel 2. Blei(II)-acetat-Reaktion von Derivaten des Acridon-chinons-(1.4)

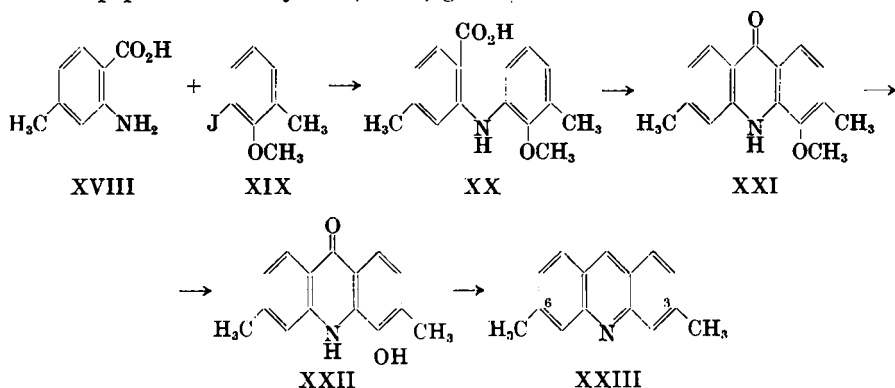
Verbindung	Reaktion mit Blei(II)-acetat	
Acridon-chinon-(1.4).....	—	
Acridon-chinon-(1.2).....	—	
3-Methyl-acridon-chinon-(1.4).....	—	
2-Hydroxy-acridon-chinon-(1.4).....	—	
7-Hydroxy-acridon-chinon-(1.4).....	tiefblau	
6-Hydroxy-acridon-chinon-(1.4).....	—	
3.8-Dihydroxy-acridon-chinon-(1.4) ....	—	
3.5-Dihydroxy-acridon-chinon-(1.4) ....	tiefblau	
2.8-Dihydroxy-acridon-chinon-(1.4) ....	—	

Acridinderivat, das wir, ausgehend von 2-Amino-4-methyl-benzoesäure und *p*-Bromtoluol, darstellten, schmilzt jedoch im Gegensatz zu unserem aus Despeptido-actinomycin erhaltenen Zinkstaubdestillat vom Schmp. 120–121° bei 175°. Damit schieden XIII und XIV aus und übrig blieben nur noch XV und XVI. Zwischen ihnen konnte auf Grund der blauen Farbreaktion entschieden werden, die Despeptido-actinomycin in Methanol mit Blei(II)-acetat gibt. Modellversuche<sup>17)</sup>, deren Ergebnis in Tafel 2 zusammengestellt ist, haben nämlich gezeigt, daß nur Acridon-chinone-(1.4), die an C<sup>6</sup> oder C<sup>7</sup> eine Hydroxygruppe tragen, mit Blei(II)-acetat positiv reagieren. Für die Hydroxygruppe des Ringes A (Formel VI) kam demnach nur die 5- oder 7-Stellung in Frage. Infolgedessen entfiel auch XV, und für Dihydro-despeptido-actinomycin-tetramethyläther blieb nur noch Formel XVI übrig. Damit war ge-

<sup>17)</sup> H. Brockmann, H. Muxfeldt u. G. Haese, demnächst in dieser Zeitschrift.

zeigt, daß Despeptido-actinomycin 2.5-Dihydroxy-3.6-dimethyl-acridon-chinon-(1.4) (XVII) ist<sup>18)</sup>.

Nach XVII müßte das oben beschriebene bei 120–121° schmelzende Zinkstaubdestillat des Despeptido-actinomycins mit 3.6-Dimethyl-acridin identisch sein. Um diese Folgerung zu prüfen, haben wir 3.6-Dimethyl-acridin auf folgendem Wege synthetisiert. Durch Kondensation von 2-Amino-4-methyl-benzoesäure (XVIII) mit 1-Jod-2-methoxy-3-methyl-benzol (XIX) wurde 6'-Methoxy-5-5'-dimethyl-diphenylamin-carbonsäure-(2) (XX) dargestellt, die beim Ringschluß mit Polyphosphorsäure<sup>19)</sup> in 4-Methoxy-3.6-dimethyl-acridon (XXI) überging. Das daraus durch Entmethylierung erhaltene 4-Hydroxy-3.6-dimethyl-acridon (XXII) gab bei der Zinkstaubdestillation 3.6-Dimethyl-acridin (XXIII), farblose Nadeln vom Schmp. 122°, die mit unserem Zinkstaubdestillat vom Schmp. 120–121° keine Schmelzpunktserniedrigung zeigen. Damit ist die Stellung der beiden Methylgruppen an C<sup>3</sup> und C<sup>6</sup> des Despeptido-actinomycins (XVII) gesichert.



Ihre endgültige Bestätigung hat Formel XVII, wie bereits kurz mitgeteilt<sup>20)</sup>, durch die Synthese des Despeptido-actinomycins erfahren, die in der folgenden Arbeit ausführlicher beschrieben wird.

Den Farbenfabriken Bayer, Werk Elberfeld, der Deutschen Forschungsgemeinschaft sowie dem Fonds der Chemie danken wir für großzügige Förderung unserer Arbeiten.

<sup>18)</sup> Nach Abschluß unserer Arbeiten erschien gleichzeitig mit unserer Notiz über die Konstitution des Despeptido-actinomycins<sup>7)</sup> eine kurze Mitteilung von S. J. Angyal, E. Bullock, W. G. Hanger u. A. W. Johnson, *Chem. and Ind.* **1955**, 1295, in der unter Zugrundelegung unserer Formel VI aus einem spektroskopischen Vergleich von Despeptido-actinomycin mit 2-Hydroxy-3-methoxy-10-methyl-acridon-chinon-(1.4) und dessen 3-Hydroxy-2-methoxy-Isomeren geschlossen wird, daß die Hydroxy- und Methylgruppen in VI an C<sup>2</sup> und C<sup>5</sup> bzw. C<sup>3</sup> und C<sup>6</sup> stehen. Inwiefern sich an Hand dieser beiden Vergleichssubstanzen ein solcher Schluß ziehen läßt, geht aus der Mitteilung nicht hervor.

<sup>19)</sup> Mit Polyphosphorsäure, die zuerst von A. Koebner und R. Robinson (*J. chem. Soc. [London]* **1938**, 1995) für Cyclisierungsreaktionen benutzt, in der Acridinchemie aber bisher noch nicht angewandt wurde, haben wir bei der Synthese einer größeren Zahl von Acridonen sehr gute Erfahrungen gemacht.

<sup>20)</sup> H. Brockmann u. H. Muxfeldt, *Angew. Chem.* **67**, 618 [1955].

**Beschreibung der Versuche\*)**

Despeptido-actinomycin aus Actinomycin C: Zu einer siedenden Lösung von 2 g Actinomycin C in 50 ccm Äthanol gab man 50 ccm heißes 6-proz. wäßriges Bariumhydroxyd und kochte 15 Min. unter Rückfluß. Nach Erkalten wusch man das ausgefallene, blauviolette Bariumsalz des Despeptido-actinomycins mit Methanol und zerlegte es durch Kochen mit 2 n HCl. Das freigesetzte Despeptido-actinomycin löste man in 150 ccm siedendem Eisessig und gab zu der siedenden Lösung tropfenweise heißes Wasser bis zur beginnenden Kristallisation. Das ausgeschiedene Despeptido-actinomycin (130 bis 140 mg) bildete orangerote Nadeln, die sich ohne zu schmelzen oberhalb von 230° zersetzten.

Die Mutterlaugen mehrerer Ansätze verdünnte man mit Wasser, schüttelte den Farbstoff mit Chloroform aus, wusch den Chloroformextrakt mit Wasser und gab ihn auf eine Säule von „saurem“ Kieselgel (Herstellung s. unten). Beim Eluieren mit Chloroform-Aceton (5:1) lief Despeptido-actinomycin als rote Zone ins Filtrat, während Verunreinigungen an der Säule blieben. Man erhielt so je Ansatz (2 g) noch 10–20 mg Despeptido-actinomycin.

Zur Analyse und Aufnahme der Spektren wurde Despeptido-actinomycin folgendermaßen gereinigt: Nach Beendigung der Actinomycin-Hydrolyse verdünnte man mit 500 ccm Wasser, säuerte mit 2 n HCl an und schüttelte den Farbstoff mit Chloroform aus. Den Chloroformextrakt gab man auf eine Säule von „saurem“ Kieselgel und entwickelte mit Chloroform-Aceton (5:1). Dabei lief Despeptido-actinomycin als breite, rote Zone ins Filtrat, während mehrere gelbe und rote Zonen im oberen Teil der Säule haften blieben. Aus dem auf 30–50 ccm eingeeengten Eluat kristallisierte Despeptido-actinomycin in tiefroten Rhomben. Ausb. 140–150 mg aus 2 g Actinomycin C.

$C_{15}H_{11}O_5N$  (285.3) Ber. C 63.16 H 3.89 N 4.91 Gef.\*) C 63.17 H 3.87 N 4.94  
\*) 3 Stdn. bei 140°/20 Torr getrocknet.

„Saures Kieselgel“: Von einer Suspension von Kieselgel (Gebr. Herrmann, Köln-Bayenthal) in 20-proz. Salzsäure gießt man nach 12 Stdn. die Säure ab, wäscht mit Wasser bis zur neutralen Reaktion, saugt ab und schlämmt nochmals in n HCl auf. Nach 12 Stdn. wird abgesaugt und bei 120° getrocknet.

Despeptido-actinomycin-trimethyläther (VIIa): Eine Lösung von 50 mg Despeptido-actinomycin in 50 ccm Chloroform und 20 ccm Methanol kochte man 45 Min. mit 10 ccm Methyljodid und 1 g Silberoxyd, filtrierte vom Silberoxyd ab und dampfte das hellgelbe Filtrat i. Vak. ein. Die Lösung des orangeroten, kristallisierten Rückstandes in 5 ccm Benzol gab man auf eine Säule (5 × 2 cm) von Aluminiumoxyd (Aktivitätsstufe II). Beim Nachwaschen mit Benzol-Aceton (10:1) ging der Despeptido-actinomycin-trimethyläther ins Filtrat, während Verunreinigungen an der Säule blieben. Aus dem auf wenig ccm eingeeengten Eluat kristallisierte auf Zusatz von Petroläther der Trimethyläther in langen, orangeroten Nadeln vom Schmp. 168°.

$C_{18}H_{17}O_5N$  (327.3) Ber. C 66.05 H 5.24 N 4.28  $3CH_3O$  28.44  
Gef.\*\*) C 65.77 H 5.76 N 4.27  $CH_3O$  26.45

\*) I. Hochvak. sublimiert.

Despeptido-actinomycin-monomethyläther (XII): Eine Lösung von 20 mg Despeptido-actinomycin-trimethyläther in 2 ccm heißem Methanol verdünnte man mit 1 ccm heißem Wasser, setzte dann 1 ccm 2 n  $Na_2CO_3$  hinzu und erwärmte 60 Min. auf dem Wasserbad, wobei sich ein Teil des gebildeten Monomethyläthers als Natriumsalz in tiefroten Prismen abschied. Das noch heiße Hydrolysat säuerte man an, saugte nach Erkalten die ausgeschiedenen Kristalle ab und löste sie in 3 ccm Methanol. Nachdem schwach alkalisch gemacht war, verdünnte man mit 4 ccm Wasser und säuerte die siedende Lösung mit verd. Salzsäure an, worauf der Monomethyläther in dünnen, roten Nadeln vom Schmp. 215–216° auskristallisierte. Ausb. 70% d. Theorie.

$C_{16}H_{13}O_5N$  (299.3) Ber. C 64.21 H 4.38  $CH_3O$  10.37  
Gef.\*\*) C 64.09 H 4.60  $CH_3O$  10.20

\*) I. Hochvak. sublimiert.

\*) Alle Schmp. sind im Berl-Block bestimmt und korrigiert.

Kondensationsprodukt von Despeptido-actinomycin mit *o*-Phenylendiamin (IV): Zu einer Lösung von 20 mg Despeptido-actinomycin in 20 ccm Eisessig gab man 100 mg *o*-Phenylendiamin und kochte 15 Min. unter Rückfluß. Schon nach wenigen Minuten schied sich das Kondensationsprodukt in beigefarbenen Nadeln (22 mg) ab. Es zersetzt sich oberhalb von 240° ohne zu schmelzen.

$C_{21}H_{15}O_3N_3$  (357.4) Ber. C 70.58 H 4.23 N 11.76 Gef.\*) C 70.21 H 4.24 N 10.87

\*) 4 Stdn. i. Hochvak. bei 140° getrocknet.

Triacetat des Kondensationsproduktes: Eine Lösung von 10 mg Kondensationsprodukt in 5 ccm heißem Pyridin versetzte man mit 2 ccm Acetanhydrid, erwärmte 5 Min. auf siedendem Wasserbad und goß auf Eis. Das fein kristallisierte, hellgelbe Acetat wurde getrocknet und im Kreisprozeß mit wenig Toluol extrahiert. Das in hellgelben Nadeln auskristallisierte Acetat wurde bei 247° dunkel und schmolz bei 258°.

$C_{27}H_{21}O_6N_3$  (483.5) Ber. C 67.07 H 4.38 N 8.70  $3CH_3CO$  26.7

Gef.\*) C 67.21 H 4.70 N 8.40  $CH_3CO$  26.6

\*) Bei 140° i. Hochvak. getrocknet.

Dihydro-despeptido-actinomycin: 20 mg Despeptido-actinomycin kochte man mit 15 ccm Eisessig, 10 ccm konz. Jodwasserstoffsäure und 100 mg rotem Phosphor 45 Min. unter Rückfluß, filtrierte noch heiß vom Phosphor ab und versetzte mit 100 ccm heißem Wasser. Nach kurzer Zeit kristallisierte das Dihydro-despeptido-actinomycin in goldgelben Rhomben, die sich ohne zu schmelzen oberhalb von 280° zersetzten. Ausb. 91% d. Theorie.

$C_{15}H_{13}O_5N$  (287.3) Ber. C 62.71 H 4.56 O 27.85 N 4.88

Gef.\*) C 62.79 H 4.92 O 27.52 N 5.00

\*) 2 Stdn. bei 150° i. Hochvak. getrocknet.

Zinkstaubdestillation von Despeptido-actinomycin: Auf 20 Glasröhren ( $150 \times 5$  mm, an einem Ende zu einer 1 mm dicken, am Ende zugeschmolzenen Kapillare ausgezogen und an der Verengungsstelle zur Kapillare mit einem lockeren Asbestpropf versehen) verteilte man eine Mischung von 100 mg Despeptido-actinomycin mit 4 g frisch bereitetem Elektrolyt-Zinkstaub. Nach Einführung eines lockeren Asbestpropfes zog man die Röhrrchen möglichst nahe an diesem Propf zu einer am Ende offenen Kapillare aus und erwärmte jedes Röhrrchen zunächst mit der vollen, leuchtenden Flamme eines Bunsenbrenners (um das dem Zinkstaub anhaftende Wasser zu vertreiben) und anschließend nur den Zinkstaub mit der Sparflamme. Sobald in den Kapillaren ein farbloses Destillat erschien, erhöhte man die Temperatur so, daß nach 8–10 Min. die Destillation beendet war.

Das in den beiden Kapillaren kondensierte, schwach gelbe Öl wurde nach kurzer Zeit kristallin. Die das Destillat enthaltenden Teile der Kapillaren aller 20 Röhrrchen schnitt man heraus und sublimierte ihren Inhalt bei 60° i. Hochvak. in ein 6–8 mm weites Rohr. Ausb. 12.6 mg. Die Petrolätherlösung des Sublimates filtrierte man durch eine kleine Aluminiumoxyd-Säule (Aktivitätsstufe II) und wusch mit Benzol-Petroläther (1:1) nach. Dabei bildete sich am oberen Rand der Säule eine schmale, schwach gelbe und darunter eine breite, farblose, blau fluoreszierende Zone, die schnell ins Filtrat wanderte. Das Eluat engte man bei 20°/200 Torr ein. Der zunächst ölige Rückstand (7.6 mg) kristallisierte bald und schmolz zwischen 96 und 114°. Zur weiteren Reinigung löste man diese Fraktion in 2 ccm Methanol-Äther (1:1) und versetzte mit 0.5 ccm 5-proz. methanolischer Schwefelsäure. Aus der jetzt zitronengelben Lösung fiel beim Eintropfen von 10 ccm Äther das Sulfat des Zinkstaubdestillates in gelben Nadeln (2.6 mg) aus. Nachdem nochmals aus sehr wenig Methanol umkristallisiert war (1.7 mg), löste man in 1 ccm Methanol, machte die heiße Lösung mit Ammoniak schwach alkalisch, versetzte bis zur beginnenden Trübung mit heißem Wasser und klärte die Lösung durch Zugabe von 0.2 ccm Methanol. Nach mehreren Tagen kristallisierte das Zinkstaubdestillat in langen farblosen, leicht sublimierbaren Nadeln vom Schmp. 121–122° (Berl.-Block, geschlossene Kapillare). Ausb. 0.6 mg.

Dihydro-despeptido-actinomycin-pentaacetat (V): Eine Lösung von 15 mg Despeptido-actinomycin in 5 ccm Acetanhydrid erwärmte man kurz mit 100 mg



Zinn(II)-chlorid, bis sie hellgelb geworden, kühlte ab und versetzte mit einem Tropfen Perchlorsäure. Nach 12 Stdn. wurde das Reaktionsgemisch mit 5 ccm Eisessig verdünnt, filtriert, mit Wasser bis zur beginnenden Trübung versetzt und 2 Stdn. unter Eiskühlung magnetisch gerührt. Das ausgeschiedene Kristallisat wurde mit Wasser gewaschen und aus 1 ccm Acetanhydrid-Äther (1:1) unkristallisiert. Es bildete farblose, sechseckige, in Benzol und Chloroform schwer lösliche Blättchen vom Schmp. 249–251°. Ausb. 75% d. Theorie.

$C_{25}H_{23}O_{10}N$  (497.4) Ber. C 60.36 H 4.66  $5CH_3CO$  43.5

Gef.\*) C 60.13 H 4.78  $CH_3CO$  40.3

\*) Bei 190° i. Hochvak. sublimiert.

Dihydro-despeptido-actinomycin-tetraacetat: Eine Lösung von 10 mg Despeptido-actinomycin in 3 ccm Acetanhydrid kochte man mit 100 mg Zinn-(II)-chlorid, bis sie hellgelb geworden, versetzte dann mit 0.5 ccm Pyridin und goß nach 3 Min. auf Eis. Das ausgefallene, mit Wasser gewaschene Acetat kristallisierte aus Benzol in zitronengelben Nadeln vom Schmp. 272–275°. Ausb. 75% d. Theorie.

$C_{23}H_{21}O_9N$  (465.4) Ber. C 60.66 H 4.65  $4CH_3CO$  37.8

Gef. C 60.04 H 4.79  $CH_3CO$  37.2

Dihydro-despeptido-actinomycin-tetramethyläther (X): Man kochte 50 mg Despeptido-actinomycin mit 50 ccm Aceton, 5 ccm Wasser, 5 g Kaliumcarbonat und 3 g Natriumdithionit 10 Min. unter Rückfluß, setzte 5 ccm Dimethylsulfat zu, kochte noch 3 Stdn. und verdünnte mit 500 ccm Wasser. Der (z. Tl. ausgefallene) Dihydro-despeptido-actinomycin-methyläther wurde mit Chloroform ausgeschüttelt, der hellgelbe Extrakt i. Vak. eingedampft und der krist. Rückstand in 50 ccm trockenem Aceton aufgenommen. Zu dieser Lösung gab man 5 g Kaliumcarbonat und 5 ccm Dimethylsulfat, kochte 8 Stdn. unter Rückfluß, verdünnte mit 500 ccm Wasser und extrahierte mit Chloroform. Um überschüssiges Dimethylsulfat zu zerstören, schüttelte man den Chloroform-extrakt 1 Stde. mit *n* NaOH, wusch mit Wasser, und dampfte das Chloroform i. Vak. ab. Die Benzollösung des Rückstandes gab man auf eine Säule von Aluminiumoxyd (Aktivitätsstufe II). Beim Eluieren mit Benzol-Aceton (10:1) bildete sich eine schnell laufende, fast farblose Zone, deren Eluat blau fluorescierte, eine breite, hellgelbe (Dihydro-despeptido-actinomycin-tetramethyläther) und eine fest haftende, orangefarbene (Dihydro-despeptido-actinomycin-trimethyläther). Der Verdampfungsrückstand des Eluates der gelben Zone wurde in 0.75 ccm heißem Methanol aufgenommen, aus dem sich der Tetramethyläther in blaßgelben Kristallen vom Schmp. 183–184° abschied. Ausb. 63% d. Theorie.

$C_{19}H_{21}O_5N$  (343.4) Ber. C 66.46 H 6.16 N 4.08  $4CH_3O$  36.48

Gef.\*) C 66.38 H 5.91 N 4.00  $CH_3O$  37.11

\*) Bei 130° i. Hochvak. sublimiert.

Umsetzung von Despeptido-actinomycin mit methanol. Salzsäure: Eine Lösung von 20 mg Despeptido-actinomycin in 50 ccm 3-proz. methanolischer Salzsäure kochte man 24 Stdn. unter Rückfluß, verdünnte mit 200 ccm Äther und schüttelte die Säure mit Wasser aus. Beim Eindampfen des Äthers schieden sich 19 mg unverändertes Despeptido-actinomycin ab.

Oxydation von Despeptido-actinomycin mit Hypojodit: Eine Lösung von 10 mg Despeptido-actinomycin in 3 ccm *n* KOH versetzte man tropfenweise langsam bis zur Hellgelbfärbung mit einer 10-proz. Lösung von Jod in *n* KOH. Das nach 24 Stdn. (Eisschrank) ausgeschiedene, kristallisierte Jodoform vom Schmp. 120° wog 12.4 mg (90% d. Th.).

Oxydation von Despeptido-actinomycin-trimethyläther: Zu einer auf 0° abgekühlten Lösung von 50 mg Despeptido-actinomycin-trimethyläther in 30 ccm Aceton (p. a.) ließ man soviel 2-proz. Lösung von Kaliumpermanganat in Aceton-Wasser (10:1) zutropfen, daß noch nach 5 Min. ein geringer Permanganatüberschuß vorhanden war. Diesen beseitigte man durch Erwärmen mit wenig Methanol, kochte anschließend mit Filterpapierschnitzeln, bis das Mangandioxyd-hydrat ausgeflockt war,

zentrifugierte ab, engte die farblose Lösung auf wenige ccm ein und versetzte mit 2 ccm  $n$  NaOH. Dabei schied sich ein farbloses, bald erstarrendes Öl ab. Die vom Öl abfiltrierte Lösung erhitze man auf 70–80° und brachte sie mit verd. Salzsäure auf schwach saure Reaktion. Nach einigen Stdn. schieden sich farblose Nadeln (36 mg) vom Schmp. 128–129° (Zers.) ab.

$C_{17}H_{17}O_7N$  (347.1) Ber. C 58.79 H 4.93 N 4.03  $3CH_3O$  26.81  $2C-CH_3$  8.6  
Gef.\*) C 58.25 H 4.87 N 3.94  $CH_3O$  26.00  $C-CH_3$  6.3

\*) Bei 60° i. Hochvak. getrocknet.

Nitro-despeptido-actinomycin: Eine Suspension von 30 mg Despeptido-actinomycin in 10 ccm 20-proz. Salzsäure versetzt man tropfenweise bei 50° unter Rühren mit einer Lösung von 100 mg Natriumnitrit in 2 ccm. Wasser. Während das Despeptido-actinomycin in Lösung ging, schied sich gleichzeitig ein orangefarbenes Kristalliat aus. Nach Beendigung der Reaktion schüttelte man mit Chloroform aus und gab den Chloroformextrakt auf eine Säule von Silicagel. Beim Nachwaschen mit Chloroform-Aceton (5:1) trennte sich die Hauptmenge der Substanz als orangefarbene Zone von fest haftenden Verunreinigungen ab. Aus dem auf 10 ccm eingeeengten Eluat dieser Zone schieden sich 20 mg orangefarbene Kristalle ab, die sich oberhalb von 250° ohne zu schmelzen zersetzten.

$C_{15}H_{10}O_7N_2$  (330.3) Ber. C 54.55 H 3.05 N 8.48  $2C-CH_3$  9.1  
Gef.\*) C 55.65 H 3.04 N 8.22  $C-CH_3$  8.6

\*) Bei 140° i. Hochvak. getrocknet.

#### Synthese von 2.6-Dimethyl-acridin

4'.5-Dimethyl-diphenylamin-carbonsäure-(2): 4 g Kalium-2-amino-4-methyl-benzoat, 4 g *p*-Bromtoluol, 4 g frisch ausgeglühtes, fein pulverisiertes Kaliumcarbonat, 100 mg Kupferpulver (Merck) und 100 mg Kupfer(I)-chlorid erhitzte man mit 10 ccm Amylalkohol 3 Stdn. auf 150°, blies den Amylalkohol und nicht umgesetztes *p*-Bromtoluol mit Wasserdampf ab, kochte den Rückstand kurze Zeit mit etwas Tierkohle, filtrierte und säuerte das heiße Filtrat an. Die ausgefallene Säure bildete, aus Methanol-Wasser umkristallisiert, farblose Nadeln vom Schmp. 176–178°. Ausb. 44% d. Theorie.

$C_{16}H_{15}O_2N$  (241.3) Ber. C 74.66 H 6.27 N 5.81 Gef.\*) C 74.58 H 6.34 N 5.79

\*) I. Hochvak. sublimiert.

2.6-Dimethyl-acridon: 2 g 4'.5-Dimethyl-diphenylamin-carbonsäure-(2) löste man in 20 ccm heißer Polyphosphorsäure, erwärmte 1 Stde. auf siedendem Wasserbad, verdünnte mit 200 ccm Wasser und filtrierte die Mutterlauge ab. Das so erhaltene Rohprodukt kristallisierte aus Methanol in blaßgelben Nadeln vom Schmp. 324–326°. Ausb. 90% d. Theorie.

$C_{15}H_{13}ON$  (223.3) Ber. C 80.69 H 5.87 N 6.27 Gef.\*) C 80.56 H 5.95 N 6.27

\*) Bei 250° i. Hochvak. sublimiert.

2.6-Dimethyl-acridin: 1 g 2.6-Dimethyl-acridon löste man in 100 ccm 4-proz. methanolischer Kalilauge und 10 ccm Wasser und trug in die siedende Lösung nach und nach 3 g frisch amalgamierte Aluminiumfolie ein. Nach 1 Stde. filtrierte man vom Aluminiumhydroxyd ab, destillierte das Methanol i. Vak. ab und suspendierte den Rückstand in 100 ccm siedender 10-proz. Schwefelsäure. In die heiße Lösung goß man eine Lösung von 5 g Kaliumdichromat in 50 ccm Wasser, kochte kurz auf und saugte nach Erkalten das ausgefallene Chromat des 2.6-Dimethyl-acridins ab. Zur Zerlegung dieses Salzes löste man es in 50 ccm 1-proz. methanolischem KOH, versetzte die heiße Lösung mit Wasser und kristallisierte die Fällung aus Methanol-Wasser. Blaßgelbe Nadeln vom Schmp. 175°. Ausb. 70% d. Theorie.

$C_{15}H_{13}N$  (207.3) Ber. C 86.92 H 6.32 N 6.76 Gef.\*) C 86.72 H 6.47 N 6.86

\*) I. Hochvak. sublimiert.

#### Synthese von 3.6-Dimethyl-acridin

6'-Methoxy-5.5'-dimethyl-diphenylamin-carbonsäure-(2): 4 g Kalium-2-amino-4-methyl-benzoat, 5.5 g 1-Jod-2-methoxy-3-methyl-benzol, 4 g

frisch ausgeglühtes, fein pulverisiertes Kaliumcarbonat, 100 mg Kupferpulver (Merck) und 100 mg Kupfer(I)-chlorid erhitzte man mit 10 ccm Amylalkohol 2 Stdn. auf 150–160°. Das Reaktionsgemisch arbeitete man auf, wie bei der 4'.5-Dimethyl-diphenylamin-carbonsäure-(2) beschrieben. Ausb. 67% d.Th.; Schmp. 185–186°.

$C_{16}H_{17}O_2N$  (271.3) Ber. C 70.83 H 6.32 N 5.16 Gef.\*) C 70.14 H 6.36 N 5.68

\*) I. Hochvak. sublimiert.

4-Methoxy-3.6-dimethyl-acridon: 1.8 g 6'-Methoxy-5.5'-dimethyl-diphenylamin-carbonsäure-(2) löste man in 20 ccm heißer Polyphosphorsäure, erwärmte 1 Stde. auf siedendem Wasserbad, verdünnte mit Wasser und saugte die Mutterlauge ab. Den mit Wasser gewaschenen Filtrerrückstand löste man in 40 ccm heißem Pyridin, verdünnte mit 100 ccm heißem Methanol und fällte das Acridon mit heißem Wasser. Bläßgelbe Blättchen vom Schmp. 260–261°. Ausb. 77% d.Theorie.

$C_{16}H_{15}O_2N$  (253.3) Ber. C 75.87 H 5.97 N 5.53 Gef.\*) C 75.32 H 5.75 N 5.98

\*) I. Hochvak. sublimiert.

4-Hydroxy-3.6-dimethyl-acridon: 1 g 4-Methoxy-3.6-dimethyl-acridon kochte man mit 50 ccm 48-proz. Bromwasserstoffsäure und 20 ccm Eisessig 5 Stdn. unter Rückfluß, verdünnte die heiße Lösung mit 200 ccm Wasser und saugte nach 2 Stdn. die Mutterlauge ab. Den Filtrerrückstand kochte man mit Wasser bis zur neutralen Reaktion aus und trocknete ihn i. Vakuum. Gelbe Nadeln. Ausb. 88% d.Theorie.

$C_{15}H_{13}O_2N$  (239.3) Ber. C 75.30 H 5.48 Gef.\*) C 74.93 H 5.71

\*) Bei 250° i. Hochvak. sublimiert.

3.6-Dimethyl-acridin: 100 mg 4-Hydroxy-3.6-dimethyl-acridon wurden, wie bei der Zinkstaubdestillation des Despeptido-actinomycins beschrieben, in 3.6-Dimethyl-acridin übergeführt. Farblose Nadeln vom Schmp. 122°. Misch-Schmp. mit dem Zinkstaubdestillat des Despeptido-actinomycins 121–122°.

## 201. Hans Brockmann und Hans Muxfeldt: Die Synthese des Despeptido-actinomycins, Actinomycine XVII. Mitteil.<sup>1)</sup>; Antibiotica aus Actinomyceten, XXXVI. Mitteil.<sup>1)</sup>

[Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen]

(Eingegangen am 15. Februar 1956)

Despeptido-actinomycin, ein beim Bariumhydroxyd-Abbau verschiedener Actinomycine entstehendes rotes Abbauprodukt  $C_{15}H_{11}O_5N$  wurde synthetisch gewonnen. Damit wird die früher aufgestellte Konstitutionsformel endgültig bewiesen.

In der vorhergehenden Mitteilung<sup>1)</sup> wurde für das beim Bariumhydroxyd-Abbau der Actinomycine  $I_1$ ,  $C_2$ ,  $C_3$  und  $X_2$  aus deren Chromphor entstehende rote Despeptido-actinomycin  $C_{15}H_{11}O_5N$  die Konstitutionsformel XV abgeleitet. Sie hat sich durch die im folgenden beschriebene Synthese<sup>2)</sup> des Despeptido-actinomycins bestätigen lassen.

Nach XV ist Despeptido-actinomycin das 2.5-Dihydroxy-3.6-dimethyl-Derivat des Acridon-chinons-(1.4). Da über die Darstellung von Acridon-chinonen noch keine Angaben vorlagen<sup>3)</sup>, haben wir einige Vertreter dieser Verbin-

<sup>1)</sup> XVI. bzw. XXXV. Mitteil.: H. Brockmann u. H. Muxfeldt, Chem. Ber. 80, 1379 [1956].

<sup>2)</sup> Vorläufige Mitteil. H. Brockmann u. H. Muxfeldt, Angew. Chem. 67, 618 [1955].

<sup>3)</sup> 2.3-Dihydroxy-Derivate des 10-Methyl-acridon-chinons-(1.4) wurden von W. D. Crow u. J. R. Price, Australian J. sci. Res. 2, 282 [1949], aus den Alkaloiden Melicopin, Melicopidin und Melicopicin erhalten.