

228. Über die Konstitution des Nocardamins

von R. F. C. Brown, G. Büchi, W. Keller-Schierlein, V. Prelog und J. Renz

(10. IX. 60)

Das Nocardamin, ein Antibioticum, welches im Pharmazeutisch-chem. Laboratorium der SANDOZ AG. in Basel isoliert worden war¹⁾, lieferte bei der Hydrolyse mit 2N Salzsäure Bernsteinsäure und das Hydrochlorid einer Base, für welches die Zusammensetzung $C_5H_{14}ON_2Cl_2$ und die Konstitution I angenommen wurde. Für das Nocardamin selbst wurde auf Grund der analytischen Daten und der Ergebnisse der Hydrolyse als Arbeitshypothese die Konstitution II abgeleitet²⁾.

Weitere inzwischen ausgeführte Untersuchungen haben gezeigt, dass das erwähnte Hydrochlorid, das durch saure Hydrolyse des Nocardamins entsteht, nicht die angenommene Zusammensetzung und Konstitution besitzt, sondern dass es identisch mit dem *Dihydrochlorid des 1-Amino-5-hydroxylamino-pentans*, $C_5H_{16}ON_2Cl_2$ (III), ist. Diese letztere Verbindung ist vor kurzem als ein wesentliches Hydrolyseprodukt einer Reihe von eisenhaltigen Wirkstoffen aus Actinomyceten erkannt und auch synthetisch hergestellt worden³⁾. Eine zweite Synthese aus 1-Chlor-5-benzamido-pentanon und Hydroxylamin, die am MASSACHUSETTS INSTITUTE OF TECHNOLOGY ausgeführt wurde, ist im experimentellen Teil dieser Mitteilung beschrieben. Die aus Nocardamin erhaltene und die synthetischen Verbindungen und ihre entsprechenden Derivate waren in jeder Hinsicht (Misch-Smp., IR.-Absorptionsspektren) identisch.

Für das *Nocardamin* folgt auf Grund dieser Identifikation, sowie seines neutralen Charakters, die Formel $C_9H_{16}O_3N_2$ und die *Konstitution IV*. Eine polymere Formel ist durch die inzwischen ausgeführten Molekulargewichtsbestimmungen ausgeschlossen⁴⁾. Das Nocardamin und das daraus erhaltene stickstoffhaltige Hydrolyseprodukt und seine Derivate besitzen also 2 Wasserstoffatome mehr als früher angenommen. Eine Nachrechnung zeigte, dass die meisten veröffentlichten Werte für die neue Formulierung im Bereich der Fehlergrenzen liegen, da sich die berechneten Werte für beide Formulierungen nur wenig unterscheiden.

Die Konstitution IV steht im Einklang mit der Tatsache, dass Nocardamin optisch inaktiv ist, und wird durch die IR.-Absorptionsspektren gestützt. Nocardamin zeigt in Nujol Banden bei 3330, 3200, 1630 und 1550 cm^{-1} . Nach der Deuterierung durch mehrmaliges Eindampfen mit Deuteriumoxyd erhält man Banden bei 2480, 2410, 2315 und 1610 cm^{-1} ; es fehlen dagegen Banden im Gebiet zwischen 1600–1500 cm^{-1} . Dies weist darauf hin, dass die Bande bei 1550 cm^{-1} eine sogen. Amid-II-Bande⁵⁾ ist, die einer sekundären Amid-Gruppe entspricht. Die letztere

¹⁾ A. STOLL, A. BRACK & J. RENZ, Schweiz. Z. Path. Bakt. 14, 225 (1951).

²⁾ A. STOLL, J. RENZ & A. BRACK, Helv. 34, 862 (1951).

³⁾ H. BICKEL, E. GÄUMANN, W. KELLER-SCHIERLEIN, V. PRELOG, E. VISCHER, A. WETTSTEIN & H. ZÄHNER, Experientia 16, 129 (1960); H. BICKEL, B. FECHTIG, G. E. HALL, W. KELLER-SCHIERLEIN, V. PRELOG & E. VISCHER, Helv. 43, 901 (1960).

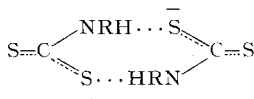
⁴⁾ $C_9H_{16}O_3N_2$ Ber. 200, 23, Gef. 196 (nach RAST in Campher); 198 (ebullioskopisch in Pyridin), 202 (durch isotherme Destillation in Methanol nach SIGNER).

⁵⁾ Vgl. R. NORMAN JONES & C. SANDORFY in W. WEST, Chemical Applications of Spectroscopy, Interscience, New York-London 1956, S. 521.

ist nach der Formel IV, nicht aber nach der Formel II, im Nocardamin anwesend. Das IR.-Absorptionsspektrum des Acetylnocardamins V²⁾ steht ebenfalls im Einklang mit der neuen Konstitutionszuteilung. In Chloroform-Lösung wurden Banden bei 3400, 1800 [ν (CO)-Bande der O-Acetyl-hydroxamsäure-Gruppe⁶⁾], 1670–1660 und 1550 cm^{-1} gefunden.

Es bleibt noch die Aufgabe übrig, die Konstitution der früher aus dem stickstoffhaltigen Hydrolyseprodukt des Nocardamins erhaltenen Derivate²⁾ neu zu formulieren. Die sogen. «freie Base» ist offenbar das Monohydrochlorid des 1-Amino-5-hydroxylamino-pentans, $\text{C}_5\text{H}_{15}\text{ON}_2\text{Cl}$, in dem der basischere Amino-Stickstoff als Ammonium-Ion vorliegt. Die früher beschriebene, aber nicht näher formulierte Acetylverbindung ist das O,N,N'-Triacetyl-1-amino-5-hydroxylamino-pentan, $\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{O}_4\text{N}_2$. Die Kondensation des Monohydrochlorids bzw. des Monohydrobromids mit Salicylaldehyd lieferte Verbindungen, die nach neuer Formulierung die Zusammensetzung $\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{O}_2\text{N}_2\text{Cl}$ (bzw. Br) besitzen müssen. Das IR.-Absorptionsspektrum weist darauf hin, dass es sich hier nicht um SCHIFF'sche Basen, wie früher angenommen, sondern um Salze eines Aldimin-N-oxyds («Nitrons» oder «Iso-aldoxims») VI handelt⁷⁾. Die Verbindungen weisen keine für SCHIFF'sche Basen typische Banden bei 1630–1670 cm^{-1} auf, ebensowenig wie das bekannte N-Methyl-salicylaldimin-N-oxyd⁸⁾, dessen IR.-Absorptionsspektrum zum Vergleich aufgenommen wurde. Die in Alkohol aufgenommenen UV.-Absorptionsspektren zeigen folgende Maxima λ_{max} [$m\mu$ ($\log \epsilon$)]; Verbindung VI 337 (3,72), 285 (4,04), 216 (4,09); N-Methyl-salicylaldimin-N-oxyd 335 (3,74), 284 (4,14), 217 (4,15), und sind fast deckungsgleich. Das früher als Dihydrothiazin-Derivat formulierte Umsetzungsprodukt des 1-Amino-5-hydroxylamino-pentans mit Schwefelkohlenstoff ist allem Anschein nach ein zwitterionartiges Dithiocarbamat, $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{ON}_2\text{S}_2$. Sein UV.-Absorptionsspektrum in Alkohol [λ_{max} 340 (2,64), 278 (3,55), 213 (4,26)] gleicht den für Vergleichszwecke aufgenommenen Spektren der analogen Dithiocarbamate aus 1,5-Diamino-pentan [λ_{max} 340 (2,51), 286 (4,19), 254 (4,10)] oder aus Äthylendiamin⁹⁾ [λ_{max} 344 (2,38), 290 (4,20), 255 (4,12)].

Die IR.-Absorptionsspektren aller dieser drei Verbindungen in KBr weisen eine für Dithiocarbamate typische Bande bei 1483–1490 cm^{-1} auf¹⁰⁾. Dagegen fehlt im Spektrum des Dithiocarbamats aus 1-Amino-5-hydroxylamino-pentan die starke Bande zwischen 3200–3300 cm^{-1} , die für die Vergleichsverbindungen aus den Diaminen charakteristisch ist. Da diese Bande allem Anschein nach der ν (NH)-Schwingung im Dimer



⁶⁾ J. P. FREEMAN, J. Amer. chem. Soc. 80, 5954 (1958).

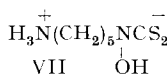
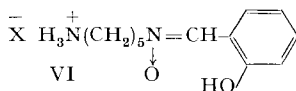
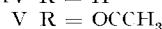
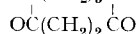
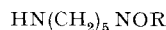
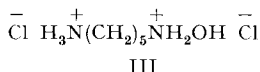
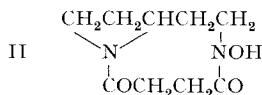
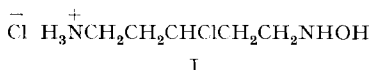
⁷⁾ Vgl. R. NORMAN JONES & C. SANDORFY, *l. c.* ⁵⁾ S. 532.

⁸⁾ E. BECKMANN, Liebigs Ann. Chem. 365, 201 (1909); vgl. auch E. BAMBERGER, Ber. deutsch. chem. Ges. 57, 2082 (1924); O. L. BRADY, F. P. DUNN & R. F. GOLDSTEIN, J. chem. Soc. 1926, 2386.

⁹⁾ A. W. HOFMANN, Ber. deutsch. chem. Ges. 5, 240 (1872).

¹⁰⁾ Vgl. L. J. BELLAMY, The Infra-red Spectra of Complex Molecules, 2nd Ed., Methuen, London; Wiley, New York 1957, S. 357.

entspricht, besitzt das Dithiocarbamat aus 1-Amino-5-hydroxylamino-pentan die Konstitution VII. Das Derivat schliesslich, das aus dem Salicylaldimin-N-oxyd VI und Schwefelkohlenstoff entsteht (neue Formel $C_{25}H_{36}O_4N_4S_2$), ist sehr wahrscheinlich ebenfalls ein Dithiocarbamat. Da das Salicylaldimin-N-oxyd VI mit Schwefelkohlenstoff als eine einsäurige Base reagiert, braucht es zwei Molekeln davon, um ein Dithiocarbamat zu bilden.



Experimentelles. — *1-Benzamido-5-hydroxylamino-pentan*. Eine Hydroxylamin-Lösung (bereitet aus 17 g Hydroxylamin-hydrochlorid und 14 g Kaliumhydroxyd in 9 l Methanol) erhitze man auf dem Dampfbad 14 Std. in Stickstoffatmosphäre mit einer Lösung von 5 g 1-Benzamido-5-chlorpentan¹¹⁾ und 3,3 g Natriumjodid in 20 ml Methanol. Das Methanol wurde dann abdestilliert und der Rückstand mit 4 N Salzsäure angesäuert. Nachdem die neutralen Verbindungen mit Äther extrahiert worden waren, versetzte man die wässrige Lösung mit Ammoniak und extrahierte die Basen 10mal mit je 5 ml Chloroform. Das nach dem Eindampfen des Chloroforms erhaltene Harz kristallisierte nach Anrühren mit Äther. Durch Umlösen aus Chloroform-Äther wurden 906 mg farblose Kristalle vom Smp. 90° erhalten.

$C_{12}H_{18}O_2N_2$ Ber. C 64,82 H 8,16 N 12,70% Gef. C 64,88 H 8,02 N 12,78%

1-Amino-5-hydroxylamino-pentan. — *Dihydrochlorid III*. 700 mg 1-Benzamido-5-hydroxylamino-pentan kochte man 36 Std. unter Rückfluss mit 30 ml 3 N Salzsäure. Die Benzoesäure wurde durch Extraktion mit Äther entfernt und die wässrige Lösung im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der kristalline Rückstand lieferte nach Umlösen aus Alkohol-Äther 508 mg Dihydrochlorid vom Smp. 133–135°. Zur Analyse wurde nochmals umkristallisiert. Smp. 139° (l. c. ²⁾ 137–139°).

$C_5H_{16}ON_2Cl_2$ Ber. C 31,44 H 8,44 N 14,66 Cl 37,11%
Gef. „ 31,65 „ 8,41 „ 14,19 Cl-Ion 37,07%

Das *Monohydrochlorid* bildet farblose hygroscopische Nadeln aus abs. Alkohol, Smp. 121–123° (l. c. ²⁾ 121–122°).

$C_5H_{15}ON_2Cl$ Ber. Cl 22,93% Gef. Cl 22,89%

Das *O, N, N'-Triacetyl-Derivat* schmolz nach Umkristallisieren aus Aceton-Äther bei 83° (l. c. ²⁾ 83–84°).

$C_{11}H_{20}O_4N_2$ Ber. C 54,08 H 8,25 N 11,47% Gef. C 54,33 H 8,32 N 11,32%

Salicylaldimin-N-oxyd VI. Hydrochlorid. Die Verbindung wurde nach der Vorschrift von STOLL, RENZ & BRACK²⁾ hergestellt und viermal aus Alkohol-Äther umkristallisiert, Smp. 152–153,5° (l. c. ²⁾ 149–150°).

$C_{12}H_{19}O_2N_2Cl$ Ber. C 55,70 H 7,40 N 10,82 Cl 13,70%
Gef. „ 55,87 „ 7,60 „ 10,76 „ 13,74%

¹¹⁾ J. v. BRAUN, Ber. deutsch. chem. Ges. 37, 2915 (1904).

Dithiocarbamat VII. Die nach STOLL, RENZ & BRACK²⁾ hergestellte Verbindung bildete nach Umkristallisieren aus heissem Wasser schwach gelbliche Blättchen, die sich bei 130–140° unter Gasentwicklung zersetzten (*l. c.* ²⁾ 130–131°, unter Aufschäumen).

$C_6H_{14}ON_2S_2$ Ber. C 37,11 H 7,27 S 33,00% Gef. C 37,02 H 7,42 S 32,73%

Dithiocarbamat aus 1,5-Diaminopentan. 810 mg 1,5-Diaminopentan in 2 ml Alkohol wurden zu 1 ml Schwefelkohlenstoff in 2 ml Alkohol getropft. Nach 16 Std. Stehen bei Zimmertemperatur wurde das ausgeschiedene zähe Öl von der Mutterlauge abgetrennt und mit Ammoniak verrieben, wobei es kristallin erstarrte. Smp. nach zweimaligem Umlösen aus wässrigem Alkohol 150–157°.

$C_6H_{14}N_2S_2$ Ber. C 40,44 H 7,92% Gef. C 40,60 H 8,27%

ZUSAMMENFASSUNG

Das stickstoffhaltige Spaltprodukt des Antibioticums *Nocardamin*^{1) 2)} wurde als 1-Amino-5-hydroxylamino-pentan identifiziert. Für das Nocardamin folgt daraus die neue Konstitution IV. Es wurde eine zweite Synthese des 1-Amino-5-hydroxylamino-pentans ausgeführt.

Massachusetts Institute of Technology,
Cambridge, Mass., USA.,
Organisch-chemisches Laboratorium der
Eidg. Technischen Hochschule, Zürich
und
Pharmazeutisch-chemisches Laboratorium
SANDOZ, Basel

229. Etude de structures peptidiques à l'aide du phénylthiocyanate II¹⁾.

Sur l'emploi de la microchromatographie d'adsorption sur couches minces des phénylthiohydantoïnes

par Emile Cherbuliez, Br. Baehler et J. Rabinowitz

(6 IX 60)

Dans un précédent mémoire¹⁾, nous avons décrit l'application d'un réactif d'EDMAN²⁾ (isothiocyanate de phényle), marqué au ³⁵S, à la détermination de la séquence des acides aminés dans un polypeptide, ce qui permet d'augmenter considérablement la sensibilité de cette méthode. A cette occasion, nous avons indiqué que les méthodes chromatographiques ordinaires (p. ex. sur papier avec révélation chimique subséquente) permettent de travailler avec des quantités de peptides de l'ordre du μ mole (quelquefois 0,1 à 0,2 μ mole). Or, la microchromatographie d'adsorption sur couches minces n'a pas encore, à notre connaissance, été appliquée à cette étude. Grâce à ce type de chromatographie, nous avons pu abaisser la limite de sensibilité de la méthode d'EDMAN (*sans marquage radioactif*) à l'ordre du 1/100 de μ mole.

¹⁾ Le premier mémoire de cette série sera constitué par: EMILE CHERBULIEZ, BR. BAEHLER, M. C. LEBEAU, A. R. SUSSMANN & J. RABINOWITZ, *Helv.* **43**, 896 (1960).

²⁾ P. EDMAN, *Acta chem. scand.* **4**, 283 (1950).