

83. Richard Kuhn und Karl Dury: Alkalischer Abbau von Aureomycin und Terramycin

[Aus dem Max Planck-Institut für Medizinische Forschung, Heidelberg,
Institut für Chemie]

(Eingegangen am 28. Februar 1951)

Aus Aureomycin erhält man bei alkalischem Abbau Dimethylamin und 5-Chlor-salicylsäure, die weiter in Gentsisinsäure übergeht. Terramycin liefert Ammoniak, Dimethylamin und Salicylsäure.

Aus Kulturen von *Streptomyces aureofaciens* ist von R. W. Broschard, A. C. Dornbush, S. Gordon, B. L. Hutchings, A. R. Kohler, G. Krupka, S. Kushner, D. V. Lefemine und C. Pidaks¹⁾ ein Antibioticum isoliert worden, das gegen zahlreiche gram-positive und gram-negative Bakterien hochwirksam ist, aber auch gegen Rickettsien und manche höhere Viren Wirksamkeit erkennen läßt. Das Aureomycin ist goldgelb und schmilzt bei 168–169°. $[\alpha]_D^{25}$: -275° (Methanol). Nach den mitgeteilten Analysen¹⁾ enthält die Substanz C=54.56, H=5.34, N=5.77, Cl=7.16% (nicht ionogen) und gibt positive Eisen(III)-chlorid-Reaktion. Weitere Angaben, die einen Einblick in die Konstitution gewähren könnten, sind bisher nicht gemacht worden. Die folgenden Abbauprobe lassen die Bindungsart des Chloratoms erkennen.

Aureomycin wird durch Alkalien leicht zersetzt. Schon in der Kälte wird durch verd. Natronlauge ein flüchtiges Amin abgespalten. Führt man eine Kjeldahl-Bestimmung ohne Aufschluß durch, so erhält man aus Aureomycinhydrochlorid, das 5.15% N enthält, 2.59% N als flüchtige Base, d. h. genau die Hälfte des Gesamtstickstoffs. Das durch Erhitzen mit Kaliumhydroxyd auf 180° erhaltene Amin ist in Form des Chloroplatinats kristallisiert erhalten und als Dimethylamin identifiziert worden. Daneben bildet sich bei 180° eine ätherlösliche Säure C₇H₆O₄, die mit Eisen(III)-chlorid in Methanol Grünfärbung gibt. Sie ist mit Gentsisinsäure (2,5-Dioxy-benzoessäure) identifiziert worden.

Erhitzt man mit Natriumhydroxyd vorsichtiger, nämlich unter Zusatz von 50% Wasser und auf nur 160–175°, so tritt keine Gentsisinsäure auf. An ihrer Stelle wird 5-Chlor-salicylsäure vom Schmp. und Misch-Schmp. 170–171° erhalten. Wird beim alkalischen Abbau mehr Wasser zugegeben oder die Temperatur niedriger gehalten, so tritt weder Gentsisinsäure noch Chlorsalicylsäure auf. Durch Einwirkung von Kaliumhydroxyd auf 5-Chlor-salicylsäure bei 180° erhält man glatt Gentsisinsäure. Diese bildet sich somit nicht unmittelbar aus Aureomycin, sondern erst nach Austausch des Chloratoms gegen eine Oxygruppe.

Terramycin, das A. C. Finlay, G. L. Hobby, S. Y. P'an, P. P. Regna, J. B. Routien, D. B. Seeley, G. M. Shull, B. A. Sobin, I. A. Solomons, J. W. Vinson und J. H. Kane²⁾ aus Kulturen von *Streptomyces rimosus* isoliert haben, ist dem Aureomycin in vielen Eigenschaften ähnlich; es enthält jedoch kein Chlor. Beim alkalischen Abbau haben wir gefunden, daß Terramycin neben Ammoniak auch Dimethylamin liefert. Gentsisinsäure tritt nicht auf; dafür haben wir Salicylsäure erhalten.

¹⁾ Science 109, 199 [1949].

²⁾ Science 111, 85 [1950].

Die Auffindung von 5-Chlor-salicylsäure unter den Spaltstücken des Aureomycins ist bemerkenswert im Hinblick darauf, daß Derivate dieser Säure wie 5.5'-Dichlor-salicyl, 3.5.3'.5'-Tetrachlor-salicyl ebenso wie das 5.5'-Dibrom-salicyl³⁾ als synthetische, stark bakteriostatisch wirkende Verbindungen bereits bekannt sind. Von diesen verhältnismäßig einfach gebauten Abkömmlingen der 5-Halogen-salicylsäuren ist auch schon erkannt worden, daß die Entthemung durch Proteine (Serum) geringer wird, wenn man basische Substituenten einführt⁴⁾, und daß in vitro 5.5'-Dibrom-salicyl sich auch schon gegen größere Viren als wirksam erweist⁵⁾.

Aureomycin ist nicht das erste Beispiel für einen Naturstoff, der Chlor in Bindung an einen aromatischen Ring enthält. Chlorhaltige Flechtenstoffe sind schon von G. Koller⁶⁾ sowie von Th. J. Nolan⁷⁾ isoliert und in ihrer Konstitution aufgeklärt worden.

Hrn. Professor P. György danken wir für die Überlassung von Terramycin, Hrn. E. Röhm für die Debye-Scherrer-Aufnahmen.

Beschreibung der Versuche

Dimethylamin aus Aureomycin und Terramycin: 2.00 g Aureomycin-hydrochlorid wurden mit 20 g Kaliumhydroxyd (Plätzchen) in einem langsamen Stickstoffstrom im Ölbad auf 180° erhitzt. Dabei erhielten wir unter starkem Aufschäumen eine dunkelbraune Schmelze, die 15 Min. auf 180° gehalten wurde. Den Stickstoff-Strom leiteten wir durch eine Frittenwaschflasche, die mit 30 ccm n_{10} HCl beschickt war. Nach Einengen auf etwa 5 ccm gaben wir tropfenweise konz. wäbr. Platinchlorid-chlorwasserstoffsäure zu, worauf im Eisschrank 80 mg⁸⁾ goldgelbe, rhombische Prismen mit gerader Auslöschung ausfielen. Sie wurden abgesaugt, mit Alkohol gewaschen und bei 110°/5 Torr getrocknet; Zersp. 199–204°.

(C₂H₇N)₂PtCl₆ (498.1) Ber. C 9.64 H 2.83 N 5.62 Pt 39.19 CH₃(N) 12.07
Gef. C 10.17 H 3.42 N 5.45 Pt 38.50 CH₃(N) 10.97

Platinsalmiak, der viel schwerer löslich ist und in Oktaedern kristallisiert, haben wir nicht feststellen können. Äthylamin-hydrochlorid gibt mit Platinchlorid-chlorwasserstoffsäure unter denselben Bedingungen orangestichig gelbe, sechseckige Blättchen mit ganz anderen Debye-Scherrer-Linien als das aus Dimethylamin erhaltene Chloroplatinat.

Synthetisches Dimethylamin-chloroplatinat stimmte in Kristallform, Farbe, Zersp. (200–204°) und in den Debye-Scherrer-Aufnahmen mit der aus Aureomycin erhaltenen Substanz überein. Es gab bei der Analyse folgende Werte:

(C₂H₇N)₂PtCl₆ (498.1) Ber. C 9.64 H 2.83 N 5.62 Pt 39.19 CH₃(N) 12.07
Gef. C 10.06 H 3.29 N 5.62 Pt 38.73 CH₃(N) 9.81

2.00 g Terramycin-hydrochlorid gaben in der Kalischmelze, die genau wie für Aureomycin angegeben durchgeführt wurde, neben Dimethylamin auch Ammoniak. Nach Zusatz der Platinchlorid-chlorwasserstoffsäure fielen zunächst 85 mg Platinsalmiak in gelben Oktaedern aus, die mit Alkohol gewaschen wurden.

(NH₄)₂PtCl₆ (444.1) Ber. C 0.00 H 1.82 N 6.31 Pt 43.97
Gef. C 0.45 H 1.93 N 6.23 Pt 43.41

³⁾ R. Kuhn, L. Birkofer u. E. F. Möller, B. 76, 900 [1943].

⁴⁾ R. Kuhn u. L. Birkofer (im Druck).

⁵⁾ R. Bieling u. L. Oelrichs, Viruskrankheiten des Menschen, Fiat-Ber. Bd. 65, S. 67, 127. ⁶⁾ G. Koller u. K. Pöpl, Monatsh. Chem. 64, 106, 126 [1934].

⁷⁾ Journ. Soc. chem. Ind., Chem. a. Ind. 58, 512 [1934] (C. 1935 I, 1251); Th. J. Nolan, P. A. Spillane, J. Keane u. G. Kennedy, Journ. Soc. chem. Ind., Chem. a. Ind. 54, 577 [1935] (C. 1935 II, 863, 1894).

⁸⁾ Bei längerem Aufbewahren im Eisschrank fällt noch mehr aus.

Aus der Mutterlauge schieden sich im Eisschrank über Nacht 36 mg lange, goldgelbe Nadeln ab, die unter dem Mikroskop eine geringe Beimengung von Oktaedern erkennen ließen. Im Laufe von weiteren 4 Tagen folgten 134 mg prachtvoll ausgebildete, goldgelbe, rhombische Prismen, die in allen Eigenschaften, einschließlich der Debye-Scherrer-Linien, mit Dimethylamin-chloroplatinat übereinstimmen.

$(C_7H_7N)_2PtCl_6$ (498.1) Ber. C 9.64 H 2.83 N 5.62 Gef. C 9.39 H 3.40 N 5.68

Gentisinsäure aus Aureomycin: Die aus 2.00 g Aureomycin-hydrochlorid erhaltene Kalischmelze haben wir in 50 ccm Wasser aufgenommen, mit konz. Salzsäure unter Kühlung mit Eis kongosauer gemacht und im Apparat mit Äther erschöpfend extrahiert. Der Rückstand der getrockneten Ätherlösung wurde aus einem Kugelrohr unter 10^{-3} Torr bei einer Temperatur des Luftbades bis zu 160° sublimiert, wobei wir 130 mg farblose Nadelchen erhielten, die unter Aufschäumen bei $174-175^\circ$ schmolzen. Zur Analyse wurde nochmals sublimiert ($110-120^\circ/10^{-4}$ Torr, Luftbad).

$C_7H_6O_4$ (154.1) Ber. C 54.55 H 3.93 Äquiv.-Gew. 154
Gef. C 54.30 H 3.95 Äquiv.-Gew. 151

Die Substanz gibt in wäbr. Lösung mit Eisen(III)-chlorid eine rein blaue, vergängliche Färbung. In methanol. Lösung mit methanol. Eisen(III)-chlorid erhält man eine beständige, sattgrüne Lösung, deren Farbe bei Zusatz von $2n$ NH_3 in Rot umschlägt. Decarboxyliert man die Säure im Schmelzpunktröhrchen durch Erhitzen auf 200° (10 Min.) und sublimiert anschließend die Schmelze in einen höheren Teil der Capillare, den man absprengt, so ist die Eisen(III)-chlorid-Reaktion verschwunden. Diese Probe gestattet eine einfache Unterscheidung von Brenzcatechin- bzw. Resorcin-carbonsäuren, die auch nach erfolgter Decarboxylierung starke Eisen(III)-chlorid-Reaktion geben.

Die aus Aureomycin erhaltene Säure $C_7H_6O_4$ stimmt im Misch-Zersp. (192°) und in den Debye-Scherrer-Aufnahmen mit synthet. Gentisinsäure überein.

5-Chlor-salicylsäure aus Aureomycin: 1 g Aureomycin-hydrochlorid wird unter reinem Stickstoff mit 10 g Natriumhydroxyd und 5 ccm Wasser 30 Min. auf 160 bis 176° im Ölbad erhitzt. Die erkaltete Schmelze wird unter Stickstoff in 30 ccm Wasser gelöst und unter Kühlung mit konz. Salzsäure kongosauer gemacht. Man sättigt mit Natriumbromid, schüttelt 5 mal mit je 30 ccm Äther und 2 mal mit je 50 ccm Essigester aus. Nach dem Trocknen und Abdampfen der Lösungsmittel treibt man den Rückstand aus einem Kugelrohr unter 10^{-3} Torr (Luftbad bis zu 140°) über. Man erhält 14 mg 5-Chlor-salicylsäure, die in Chloroform leicht und vollkommen löslich ist (Unterschied zu Gentisinsäure). Zur Analyse wird nochmals sublimiert ($90-95^\circ/10^{-4}$ Torr) und aus Wasser umkristallisiert, wobei man farblose Nadeln vom Schmp. $170-171^\circ$ erhält, die im Gemisch mit 5-Chlor-salicylsäure (Schmp. $170-171^\circ$) keine Erniedrigung des Schmelzpunkts geben. Auch die Debye-Scherrer-Linien sind identisch.

$C_7H_5O_3Cl$ (172.5) Ber. Äquiv.-Gew. 172.5 Gef. Äquiv.-Gew. 173

Die Eisen(III)-chlorid-Reaktion in Methanol ist rotviolett, die Beilstein-Probe stark positiv. Aus 1 g Aureomycin-hydrochlorid, das mit 5 g Kaliumhydroxyd + 5 g Natriumhydroxyd + 5 ccm Wasser 30 Min. auf $160-180^\circ$ (Ölbad) erhitzt wurde, erhielten wir 7 mg krist. 5-Chlor-salicylsäure. Wurde doppelt soviel Wasser verwendet und auf nur 160° erhitzt, so ließ sich keine Chlorsalicylsäure fassen.

200 mg 5-Chlor-salicylsäure ergaben nach dem Schmelzen mit 10 g Kaliumhydroxyd unter Stickstoff (180° , 20 Min.) 110 mg Gentisinsäure.

$C_7H_6O_4$ (154.1) Ber. C 54.55 H 3.93 Gef. C 54.61 H 4.21 kein Cl

Salicylsäure aus Terramycin: 2.00 g Terramycin-hydrochlorid wurden unter Stickstoff mit 20 g Kaliumhydroxyd 30 Min. im Ölbad auf 170° erhitzt. Es entstand unter Aufschäumen eine klare dunkelbraune Schmelze. Die Sublimation der entstandenen ätherlöslichen Säure lieferte 146 mg farblose Nadeln, die nach dem Umkristallisieren aus Wasser (unter Zusatz von etwas Carboraffin) bei $152-154^\circ$ schmolzen und rein violette Eisen(III)-chlorid-Reaktion zeigten.

$C_7H_6O_3$ (138.1) Ber. C 60.87 H 4.38 Äquiv.-Gew. 138
Gef. C 60.84 H 4.61 Äquiv.-Gew. 136

Das Gemisch mit Salicylsäure (Schmp. $154-155^\circ$) schmolz bei $154-155^\circ$. Die Debye-Scherrer-Aufnahmen zeigten vollkommene Übereinstimmung der Linien.