

4-Methyl-5-[β -oxy-äthyl-thiazol](IX): 4.5 g 4-Methyl-thiazolyl-(5)-essigsäure-methylester (VIII) werden in 50 ccm absol. Äther gelöst und unter mechanischem Rühren während etwa 30 Min. zu 1.1 g Lithiumaluminiumhydrid in 400 ccm Äther bei 35° tropfenweise gegeben. Danach fügt man bei fortgesetztem Rühren vorsichtig 1 bis 2 ccm Wasser hinzu. Die ausgefallenen Hydroxyde werden im Soxhlet mehrere Stunden mit Äther extrahiert. Aus den mit Natriumsulfat getrockneten Extrakten erhält man 4-Methyl-5-[β -oxy-äthyl]-thiazol. Sdp._{1.5} 109–111° (Lit. Sdp.₃ 123–124°¹⁾ Sdp.₂ 91 bis 95°¹⁵⁾). Ausb. 3.6 g (86% d.Th.). Pikrat: Schmp. 164° (Lit. 163–164°^{1, 16)}).

4-Methyl-5-cyanmethyl-thiazol: Zu einer auf 5–8° abgekühlten Lösung von Lävulinsäurenitril in der 3–4fachen Menge Äther setzt man eine äquimolekulare Menge Brom tropfenweise hinzu, wobei die Temperatur nicht über 35° steigen soll. Die Reaktion wird eingeleitet durch Zugabe weniger ccm einer Lösung, die zuvor aus der ätherischen Lösung des Nitrils mit wenigen Tropfen Brom durch Erwärmen auf dem Wasserbad erhalten wurde. Das Reaktionsgemisch wird mit Eiswasser versetzt und ausgeäthert, die ätherische Lösung mit K₂CO₃ getrocknet und der Äther abgedampft, wobei ein dunkles Öl zurückbleibt. Dieses wird mit überschüssigem Thioformamid (2.3 Moll.), in der gleichen Menge Methanol gelöst, versetzt und 1/2 Stde. bei Zimmertemperatur und 2 Tage bei 3° stehengelassen. Das Lösungsmittel wird i. Vak. abgedampft und der Rückstand nach Zusatz von verd. Natronlauge ausgeäthert. Nach dem Trocknen der ätherischen Lösung über Kaliumcarbonat wird das Lösungsmittel abdestilliert. Es verbleibt ein dunkles Öl, das in das Pikrat des 4-Methyl-5-cyanmethyl-thiazols übergeführt wird.: Schmp. 171° (Lit. 171°¹⁷⁾).

233. Hans Brockmann und Nikolaus Grubhofer: Abbau der Actinomycine zu Despeptido-actinomycinen (VIII. Mitteil. über Actinomycine*); Antibiotica aus Actinomyceten, XVIII. Mitteil.**)

[Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen]

(Eingegangen am 27. August 1953)

Durch Bariumhydroxyd werden die Actinomycine zu den roten, aminosäurefreien Despeptido-actinomycinen abgebaut, die dem chromophoren Teil des Actinomycinmoleküls entstammen. Durch Vergleich der aus den verschiedenen Actinomycinen erhaltenen Despeptido-actinomycine läßt sich entscheiden, ob zwischen den einzelnen Actinomycinen Unterschiede im Bau des chromophoren Teils bestehen. Das aus Actinomycin C gewonnene Despeptido-actinomycin wird näher beschrieben.

Die Actinomycine sind nach unseren Untersuchungen¹⁾ und denen von A. R. Todd und Mitarbb.²⁾ Chromopeptide³⁾. Bei Versuchen, die chromophore Gruppe des Actinomycins durch Hydrolyse mit Bariumhydroxyd vom

¹⁶⁾ A. J. Eusebi, E. V. Brown u. L. R. Cerecedo, J. Amer. chem. Soc. **71**, 2931 [1949].

¹⁷⁾ W. Huber, J. Amer. chem. Soc. **66**, 876 [1944]; D. Price u. E. D. Pickel, J. Amer. chem. Soc. **63**, 1067 [1941].

*) VII. Mitteil.: H. Brockmann, G. Bohnsack u. H. Gröne, Naturwiss. **40**, 224 [1953].

) XVII. Mitteil.: H. Brockmann u. R. Strufe, Chem. Ber. **86, 876 [1953].

¹⁾ H. Brockmann, N. Grubhofer, W. Kass u. H. Kalbe, Chem. Ber. **84**, 260 [1951].

²⁾ C. E. Dalglish, A. W. Johnson, A. R. Todd u. L. C. Vining, J. chem. Soc. [London] **1950**, 2946.

³⁾ Der Name Chromopeptid wurde von uns vorgeschlagen. H. Brockmann u. N. Grubhofer, Naturwiss. **37**, 494 [1950].

Peptidteil abzulösen, erhielten wir, wie bereits kurz mitgeteilt³⁾, aus dem von uns aufgefundenen Actinomycin C⁴⁾ ein kristallisiertes, braunrotes, amino-säurefreies Abbauprodukt, das Despeptido-actinomycin C. Dieser Abbau eröffnet einen Weg, auf dem sich ein Einblick in die Konstitution der chromophoren Gruppe der Actinomycine erreichen läßt.

Wie kürzlich gezeigt wurde, gibt es mindestens vier verschiedene Actinomycine⁵⁾. Sie können durch Gegenstromverteilung⁵⁾ sowie papierchromatographisch⁶⁾ voneinander getrennt werden und unterscheiden sich durch die Konstitution ihres Peptidteils*). Ob sie auch im Bau ihrer chromophoren Gruppe voneinander abweichen, läßt sich durch Vergleich der aus den verschiedenen Actinomycinen erhaltenen Despeptido-actinomycine prüfen.

Die Entscheidung dieser Frage ist nicht nur für die Charakterisierung der einzelnen Actinomycine, sondern vor allem auch für die Konstitutionsaufklärung der Despeptido-actinomycine von Bedeutung; denn von ihr hängt ab, wie leicht sich das für diese Aufklärung erforderliche Ausgangsmaterial beschaffen läßt. Liefern nämlich alle Actinomycine das gleiche Despeptido-actinomycin, so ist dessen Gewinnung aus den natürlichen Actinomycin-Gemischen ohne vorherige Trennung dieser Gemische möglich. Entstehen beim Barytabbau der Actinomycine dagegen verschiedene Despeptido-actinomycine, so wird ihre Reindarstellung schwierig, weil dann als Ausgangsmaterial reine Actinomycine verwendet werden müssen, deren Darstellung einen nicht unerheblichen Arbeitsaufwand erfordert. In diesem Falle wäre unser Despeptido-actinomycin, das aus Actinomycin C (Gemisch aus Actinomycin C₁, C₂ und C₃) stammt, ein Gemisch aus drei Despeptido-actinomycinen. Man könnte es verwenden, um das Grundgerüst der Despeptido-actinomycine aufzuklären, nicht aber, um Einzelheiten ihrer Konstitution zu ermitteln.

A. R. Todd und Mitarbb.⁷⁾ haben durch Baryt-Hydrolyse des Actinomycins B ein rotes, kristallisiertes Despeptido-actinomycin erhalten, das sie als Actinomycinol B bezeichnen. Es ist unserem Abbauprodukt sehr ähnlich, zeigt aber im Schmelzpunkt seiner Acetylderivate Abweichungen von unseren Präparaten, die es zunächst fraglich machen, ob Despeptido-actinomycin C mit Actinomycinol B identisch ist. In der vorliegenden Mitteilung bringen wir die experimentellen Belege für unsere bisherigen Angaben⁸⁾ über Despeptido-actinomycin C.

Ob unser Abbauprodukt ein Gemisch ist, haben wir durch eine 25stufige Gegenstromverteilung zwischen Butanol und Phosphatpuffer vom p_H 8.0 geprüft. Die dabei erhaltene Verteilungskurve⁸⁾ ist die einer einheitlichen Substanz. Dieses Ergebnis hat sich inzwischen durch Ring-Papierchromatographie⁸⁾ bestätigen lassen.

Die Analysenzahlen unserer ersten Despeptido-actinomycin C-Präparate und die Ergebnisse der ebullioskopischen Mol.-Gew.-Bestimmung in Eisessig passen auf die Formel C₁₆H₁₃O₅N⁹⁾, die nach A. R. Todd und Mitarbb. auch für Actinomycinol B anzunehmen ist. Bei der Chromsäure-Oxydation nach Kuhn-Roth fanden wir 1.7 Mol. Essigsäure; unser Abbauprodukt muß demnach ebenso wie Actinomycinol B zwei C-Methylgruppen besitzen.

⁴⁾ H. Brockmann u. N. Grubhofer, *Naturwiss.* **36**, 376 [1949].

⁵⁾ H. Brockmann u. N. Pfennig, *Naturwiss.* **39**, 429 [1953]; *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* **292**, 77 [1953].

⁶⁾ H. Brockmann u. H. Gröne, *Naturwiss.* **40**, 222 [1953].

⁷⁾ A. W. Johnson, A. R. Todd u. L. C. Vining, *J. chem. Soc. [London]* **1952**, 2672.

⁸⁾ G. Budde, *Dissertat.* Göttingen, 1953.

⁹⁾ Inzwischen durchgeführte Analysen haben Werte ergeben, die besser auf C₁₅H₁₁O₅N passen; vergl. H. Brockmann u. G. Budde, *Naturwiss.* **40**, im Druck.

Mit Acetanhydrid entstand aus Despeptido-actinomycin C ein gelbes, kristallisiertes Triacetat (Schmp. bei unseren ersten Präparaten 164⁰ 3), bei später dargestellten 180⁰). Es ließ sich durch Behandlung mit Methanol in ein rotes, sich gegen 200⁰ zersetzendes Acetat überführen, das durch Acetanhydrid wieder in das gelbe Acetat verwandelt wurde.

Reduzierende Acetylierung lieferte ein kristallisiertes, blaßgelbes Pentaacetat vom Schmp. 263–271⁰. Für das Triacetat ihres Actinomycinols B fanden A. R. Todd und Mitarbb. den Schmp. 209.5–210⁰, während ihr durch reduzierende Acetylierung gewonnenes Pentaacetat bei 237–238⁰ schmolz.

Despeptido-actinomycin C ist schwach basisch. Es läßt sich aus Äther mit 5*n* HCl, nicht aber mit 5-proz. HCl ausschütteln¹⁰). In der Alkalischmelze wird bei 200⁰ der Stickstoff nahezu quantitativ in Form von Ammoniak abgespalten.

Den Ergebnissen der Acetylierung und reduzierenden Acetylierung nach müßte Despeptido-actinomycin C ein Oxy-chinon sein. Die Existenz eines Triacetates beweist nicht mit Sicherheit die Anwesenheit von drei Oxygruppen; der eine Acetylrest könnte auch am Stickstoff gebunden sein.

Auf Grund der in unserer vorläufigen Mitteilung³) angeführten Befunde haben wir die Vermutung geäußert, daß unser Abbauprodukt ein Amino-oxyanthrachinon ist. Diese Annahme trifft, wie die inzwischen weitergeführte Untersuchung des Despeptido-actinomycins C gezeigt hat, nicht zu. Über diese Versuche und die Frage, ob Despeptido-actinomycin C mit Actinomycinol B identisch ist, wird in der nächsten Mitteilung berichtet.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und den Farbenfabriken Bayer, Werk Elberfeld, danken wir für die großzügige Förderung unserer Arbeiten.

Beschreibung der Versuche

Despeptido-actinomycin C: 2 g Actinomycin C wurden mit 7 g Ba(OH)₂·8 H₂O fein zerrieben und mit 40 ccm Wasser versetzt. Nach 12stdg. gelinden Siedens unter Rückfluß machte man das noch warme, dunkelviolet t gewordene Reaktionsgemisch kongo-sauer, filtrierte den krapproten Niederschlag ab, wusch ihn mit heißem Wasser und extrahierte ihn mit 2*n* Natronlauge. Das beim Ansäuern der Lauge ausgefallene Rohprodukt wurde getrocknet und mit Chloroform erschöpfend ausgezogen. Aus der bei 780 Torr eingeeengten Chloroformlösung schied sich Despeptido-actinomycin C in krapproten Nadeln (40–50 mg) ab. Zur Reinigung wurde bei 180–190⁰ unter 10⁻³ Torr sublimiert und nochmals aus Chloroform umkristallisiert.

C₁₆H₁₃O₅N (299.3) Ber. C 64.21 H 4.38 N 4.68 akt. H 1.3 2 CH₃—C 10.0

Gef. C 63.91*) H 4.39 N 4.78 4 akt. H 1.5 CH₃—C 8.4

Mol.-Gew. 285**)

*) Bei 100⁰/10⁻² Torr über P₂O₅ getrocknet.

**) Ebullioskopisch in Eisessig.

Kalischmelze: Eine Mischung aus 10 mg Despeptido-actinomycin C und 200 mg fein zerriebenem Kaliumhydroxyd wurde im Stickstoff-Strom auf 200⁰ erhitzt und das entweichende Ammoniak in einer 30 ccm Wasser enthaltenden Vorlage aufgefangen. Nach einer Reaktionsdauer von 25 Min. versetzte man das in der Vorlage befindliche Wasser mit Nessler's Reagens, füllte auf 100 ccm auf und verglich die Farbe der Lösung im Hellige-Kolorimeter mit einer in 100 ccm 0.5 mg NH₃ enthaltenden Lösung, die vorher mit Nessler's Reagens versetzt worden war. Gef. NH₃ 0.42 mg. Ber. für 1 Mol NH₃ 0.48 mg.

¹⁰) Die Angabe, daß sich Despeptido-actinomycin C aus Äther mit 5-proz. Salzsäure ausschütteln läßt, beruht auf einem Druckfehler.

Despeptido-actinomycin-triacetat: Eine Lösung von 20 mg Despeptido-actinomycin C in 2 ccm Acetanhydrid wurde nach Zugabe einer Spur konz. Schwefelsäure zum Sieden erhitzt, bis die Farbe der Lösung nicht mehr heller wurde. Darauf versetzte man das Reaktionsgemisch mit 5 ccm Eisessig, gab langsam 50 ccm Wasser zu, neutralisierte mit Natriumcarbonat und schüttelte mit Benzol aus. Die mit Natriumsulfat getrocknete Benzollösung wurde auf 2 ccm eingeeengt und bei Siedehitze bis zur beginnenden Trübung mit Petroläther versetzt. Das Triacetat schied sich in gelben Prismen (13 mg) ab, die unter Zersetzung bei 180° schmolzen.

$C_{22}H_{19}O_8N$ (425.4) Ber. N 3.29 $3CH_3 \cdot CO$ 30.4 Gef. N 3.44 $CH_3 \cdot CO$ 32.8

Rotes Acetat: 16 mg Despeptido-actinomycinC-triacetat wurden in Methanol gelöst, wobei Rotfärbung auftrat. Beim Eindunsten der Lösung schieden sich rote Nadeln ab, die sich gegen 200° ohne scharfen Schmp. zersetzten. Eine Lösung des roten Acetates in Acetanhydrid färbte sich beim Kochen gelb und hinterließ beim Verdunsten im Exsiccator einen Rückstand, der bei 178° schmolz und mit dem gelben Triacetat keine Schmelzpunkts-Erniedrigung zeigte.

Reduzierende Acetylierung: Eine Lösung von 19 mg Despeptido-actinomycin C in 2 ccm Acetanhydrid wurde nach Zugabe eines Tropfens Pyridin und mit 1 g Zinkstaub aufgekocht, wobei die Farbe der Lösung hellgelb wurde. Beim Abkühlen der heiß vom Zinkstaub abfiltrierten Reaktionslösung schieden sich feine, hellgelbe Nadeln vom Schmp. 263–271° ab, deren Abscheidung durch Zugabe von 20 ccm 30-proz. Essigsäure vervollständig wurde. Ausb. 16 mg.

$C_{26}H_{25}O_{10}N$ (511.5) Ber. N 2.74 $5CH_3 \cdot CO$ 42.1 Gef. N 2.91 $CH_3 \cdot CO$ 42.4

234. Hans Beyer und Wolfgang Schindler: Über Thiazole, XVII. Mitteil.*): Die Darstellung von 1-[Thiazolyl-(2)]-semicarbaziden

[Aus dem Institut für Organische Chemie der Universität Greifswald]

(Eingegangen am 28. August 1953)

Die Kondensation von 2-Thio-hydrazo-dicarbonamid mit α -halogenierten Ketoverbindungen führt zu einer neuen Stoffklasse, den 1-[Thiazolyl-(2)]-semicarbaziden. Die verschiedenen substituierten Verbindungen wurden durch Mono- bzw. Diacetylderivate charakterisiert. Bei der Einwirkung von konz. Salpetersäure auf 1-[4-Phenylthiazolyl-(2)]-semicarbazid entsteht [4-(*p*-Nitro-phenyl)-thiazolyl-(2)]-azo-carbonamid.

Im Anschluß an die Synthesen der Hydrazo-thiazole-(2,2')¹⁾ aus Hydrazo-dithio-dicarbonamid und α -halogenierten Ketoverbindungen interessierte uns das Verhalten des 2-Thio-hydrazo-dicarbonamids bei analogen Umsetzungen. Hierbei war neben der Hantzschschen Thiazolsynthese die Bildung eines Oxazolrings nach M. Lewy²⁾ denkbar, so daß α -[Thiazolyl-(2)]- β -[oxazolyl-(2')]-hydrazine erwartet werden konnten. Unsere bisherigen Versuche zeigen jedoch, daß stets nur Ringschluß zum Thiazolderivat, aber keine Oxazolbildung erfolgt. So entstehen bei der Kondensation von 2-Thio-hydrazo-dicarbonamid,

*) XVI. Mitteil.: Chem. Ber. 86 [1953]; vergl. W. Schindler, Diplomarbeit Greifswald, 1953.

¹⁾ H. Beyer, Chem. Ber. 82, 143 [1949], H. Beyer u. A. Kreutzberger, Chem. Ber. 84, 482 [1951], 85, 333 [1952].

²⁾ Ber. dtsch. chem. Ges. 21, 2192 [1888].