

schonend wie möglich verdampft. Der Rückstand wird aus Wasser mit wenig Alkohol umkristallisiert. Ausb. 100 mg vom Schmp. 185°.

$C_{12}H_{13}O_3N$  (219.2) Ber. C 65.75 H 7.47 N 6.39 Gef. C 65.46 H 6.16 N 6.33

Kondensationsprodukt aus 1-Methyl-3-chlormethylen-5-methoxy-oxindol mit Acetaminomalonester (XVIII): 0.4 g Kalium werden in 10 ccm *tert.*-Butanol gelöst. Unter Rühren in der Siedehitze wird der Butylalkohol durch einen Überschuß an Toluol verdrängt. Nun werden 2.63 g Acetaminomalonsäure-diäthylester zugegeben und darauf 2 g 1-Methyl-3-chlormethylen-5-methoxy-oxindol. Das Gemisch wird 30 Min. auf 50° erwärmt. Nach der üblichen Aufarbeitung erhält man gelbe Kristalle vom Schmp. 111°.

$C_{20}H_{24}O_7N_2$  (404.4) Ber. N 6.92 Gef. N 6.35

Daneben erhält man eine kleine Menge einer viel schwerer löslichen gelben Verbindung vom Schmp. 180°.

Cyclohexanon-carbonsäure-(2)-benzylester: 9.2 g Natrium werden in 200 ccm absol. Alkohol gelöst und der überschüss. Alkohol i. Vak. abdestilliert. Der Rückstand wird mit 200 ccm Benzylalkohol, 500 ccm Benzol und 67.2 g Cyclohexanon-carbonsäure-(2)-äthylester versetzt. Über eine Kolonne werden nun etwa 200 ccm Benzol-Alkohol-Gemisch möglichst langsam abdestilliert (etwa 4 Stdn.). Den abgekühlten Kolbeninhalt gießt man in ein Gemisch von Eis mit verd. Schwefelsäure. Die abgetrennte Benzolschicht schüttelt man fünfmal mit Wasser aus und trocknet sie über Natriumsulfat. Das Benzol und der überschüss. Benzylalkohol werden i. Vak. abdestilliert. Der Rückstand wird i. Hochvak. destilliert. Man erhält 50 g Ester vom Sdp.<sub>0.1</sub> 150–155°.

$C_{14}H_{16}O_3$  (232.1) Ber. C 72.38 H 6.89 Gef. C 72.71 H 7.08

Die Kondensation von 1-Methyl-3-chlormethylen-oxindol mit Cyclohexanon-carbonsäure-(2)-benzylester, die genau, wie bei dem Keton I beschrieben, durchgeführt wurde, führte zu einem gelben Öl. Aus dem Öl erhält man ein schön krist. Semicarbazon vom Schmp. 204°.

$C_{27}H_{30}O_5N_4$  (490.4) Ber. C 66.10 H 6.15 N 11.41 Gef. C 67.91 H 5.96 N 12.60

## 279. Hans Brockmann und Burchard Franck: Abbau der Actinomycine zu Desamino-actinomycinen, XIV. Mitteil. über Actinomycine\*); Antibiotica aus Actinomyceten, XXVI. Mitteil.\*\*)

[Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen]

(Eingegangen am 20. September 1954)

Durch milde Säureeinwirkung werden die Actinomycine unter Abspaltung von 1 Mol. Ammoniak zu gelbroten Desamino-actinomycinen abgebaut. Das aus Actinomycin C<sub>3</sub> erhaltene Desamino-actinomycin C<sub>3</sub> wurde kristallisiert gewonnen und in ein Monoacetat sowie einen Monomethyläther übergeführt.

Die Actinomycine werden durch 10-proz. Salzsäure bereits bei Raumtemperatur unter Verlust ihrer antibiotischen, cytostatischen und toxischen Wirkung abgebaut. Um zu ermitteln, welche Veränderungen sich dabei an der Molekel eines Actinomycins abspielen, haben wir versucht, das erste Abbauprodukt der milden Säurehydrolyse zu isolieren und seine funktionellen Gruppen mit denen des Ausgangsmaterials zu vergleichen.

\*) XIII. Mitteil.: H. Brockmann u. B. Franck, *Naturwissenschaften* 41, 451 [1954].

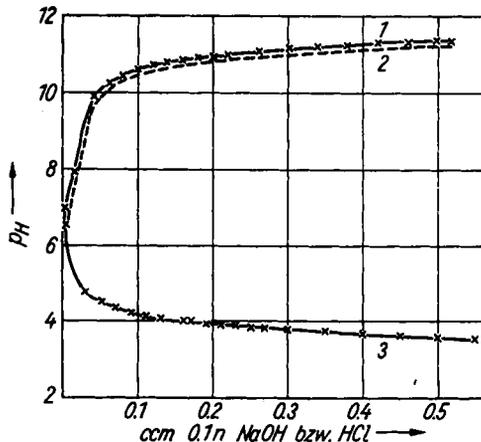
\*\*) XXV. Mitteil.: H. Brockmann u. B. Franck, *Naturwissenschaften* 41, 451 [1954].

## I. Die funktionellen Gruppen der Actinomycine

Die Actinomycine, von denen in unserem Institut bisher sieben kristallisierte Vertreter isoliert wurden<sup>1)</sup>, sind „Chromopeptide“ mit einem Mol.-Gew. um 1250<sup>2)</sup>. Durch energische Hydrolyse werden sie zu den Aminosäuren Sarkosin, *N*-Methyl-*l*-valin, *l*-Threonin, *l*-Prolin sowie *d*-Valin oder (und) *d*-Allo-isoleucin abgebaut<sup>3)</sup>. Der Chromophor geht dabei in das rote, aminosäurefreie Despeptido-actinomycin  $C_{15}H_{11}O_5N$  über.

Die „Hauptactinomycine“<sup>(\*)</sup>  $I_1$ ,  $C_2$ ,  $C_3$  und  $X_2$  liefern beim Abbau mit Bariumhydroxyd das gleiche Despeptido-actinomycin<sup>4)</sup>. Demnach besitzen sie alle den gleichen Chromophor und unterscheiden sich nur durch die Struktur ihres Peptidteils. Für die im folgenden beschriebene Prüfung auf funktionelle Gruppen haben wir daher statt der reinen Actinomycine das natürliche vorkommende Gemisch von Actinomycin  $C_1$ ,  $C_2$  und  $C_3$  (Actinomycin C)<sup>5)</sup> verwendet.

Unsere früheren Angaben, daß Actinomycin C keine sauren Gruppen und keinen nach van Slyke erfaßbaren Aminostickstoff enthält<sup>2)</sup>, konnten durch potentiometrische Acidimetrie und Alkalimetrie in 70-proz. Methanol bestätigt werden. Die Titrationskurven (Abbild. 1) zeigen keinen Wendepunkt, auch dann nicht, wenn man mit Lauge bei Gegenwart von Formaldehyd titriert. Die Abwesenheit von aliphatischen Amino- sowie *N*-Methylamino- oder Iminogruppen ergibt sich ferner daraus, daß Actinomycin C nicht mit Dinitrofluorbenzol<sup>6)</sup> reagiert und mit Salpetriger Säure keine Nitrosoverbindung liefert. Alle diese Befunde sprechen dafür, daß der Peptidteil der Actinomycine eine cyclische Struktur hat.



Abbild. 1. Potentiometrische Titration von Actinomycin C in 70-proz. Methanol. 1. Mit 0.1 n NaOH ohne Formaldehyd. 2. Mit 0.1 n NaOH mit Formaldehyd. 3. Mit 0.1 n HCl

<sup>1)</sup> H. Brockmann u. H. Gröne, Chem. Ber. 87, 1036 [1954].

<sup>2)</sup> H. Brockmann, N. Grubhofer, H. Kalbe u. W. Kass, Chem. Ber. 84, 260 [1951].

<sup>3)</sup> Zusammenfassung über Actinomycine: H. Brockmann, Angew. Chem. 66, 1 [1954].

<sup>4)</sup> H. Brockmann u. K. Vohwinkel, Naturwissenschaften 41, 257 [1954].

<sup>5)</sup> H. Brockmann u. N. Pfennig, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 292, 77 [1953].

<sup>6)</sup> W. Graßmann, H. Hörmann u. H. Endres, Chem. Ber. 86, 1477 [1953].

Anders als in Methanol verläuft die Titration des Actinomycins C in Eisessig mit Perchlorsäure<sup>7)</sup>, denn hier tritt ein deutlicher Wendepunkt auf. Aus der verbrauchten Säuremenge ergibt sich das Äquivalentgewicht 1350, ein Wert, der leidlich mit dem durch Hydrierung gefundenen Mol.-Gew. 1250<sup>2)</sup> übereinstimmt. Actinomycin C ist demnach eine sehr schwache, einsäurige Base. Da es sich aus seiner gelben Ätherlösung unter Rotfärbung in konz. Salzsäure überführen läßt, ist die schwach basische Gruppe zweifellos ein Bestandteil des Chromophors.

Beim Erwärmen mit Alkali oder Säure spalten die Actinomycine 1 Mol. Ammoniak ab<sup>2)</sup>. Die naheliegende Vermutung, daß dieses Ammoniak einer Säureamidgruppe entstammt, hat sich nicht bestätigt. Das mit Benzolsulfochlorid-Pyridin erhaltene Reaktionsprodukt des Actinomycins C zeigte nämlich im Ultrarot keine Nitrilbande<sup>8)</sup> bei  $4.50 \mu$  und war dem Ringpapierchromatogramm nach unverändertes Ausgangsmaterial.

Bei früheren Versuchen, Actinomycin C zu acetylieren, wurde unverändertes Ausgangsmaterial zurückgewonnen<sup>2)</sup>. Da Actinomycin A ein kristallisiertes Acetat bilden soll<sup>9)</sup> und neuerdings ein amorphes Tetraacetat des Actinomycins B beschrieben worden ist<sup>10)</sup>, haben wir die Acetylierung des Actinomycins C nochmals eingehend untersucht. Das mit Acetanhydrid-Pyridin entstandene rote, kristallisierte Reaktionsprodukt verhielt sich papierchromatographisch wie Actinomycin C, gab aber Acetylwerte, die gut auf ein Monoacetat passen. Da es sehr unwahrscheinlich ist, daß sich Actinomycin C und sein Monoacetat im Papierchromatogramm völlig gleich verhalten, haben wir mit Actinomycin C selbst Acetylbestimmungen durchgeführt. Zu unserer Überraschung entstand dabei, einerlei ob sauer oder alkalisch verseift wurde, 0.8–0.9 Mol einer flüchtigen Säure mit dem  $R_F$ -Wert der Essigsäure (Butanol/2.5-proz. Ammoniak). Der „Acetylgehalt“ des mit Pyridin-Acetanhydrid behandelten Actinomycins C stammt demnach aus dem Actinomycin C selber und nicht etwa aus einem nachträglich eingeführten Acetylrest.

Ebenso erfolglos wie die Acetylierung verliefen Versuche zur Methylierung des Actinomycins C. Bei der Umsetzung mit Diazomethan, Methyljodid-Silberoxyd oder Methanol-Salzsäure wurde unverändertes Ausgangsmaterial zurückgewonnen. Unsere früheren Befunde<sup>2)</sup>, daß Actinomycin C keine acetylierbaren bzw. methylierbaren Oxygruppen enthält, werden also bestätigt.

Die Ultrarotspektren von Actinomycin C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> und C<sub>3</sub>, die sich nicht merklich voneinander unterscheiden, zeigen eine Bande bei  $5.7 \mu$  (Abbild. 5), die von einer Lacton- oder einer Estercarbonylgruppe herrühren kann. Den Ergebnissen der Acetylbestimmung nach muß Actinomycin C eine Estercarbonylgruppe enthalten. Um festzustellen, ob neben dieser einen noch weitere Ester- bzw. Lactongruppen vorliegen, haben wir Actinomycin C einer Lactontitration unterworfen, und zwar unter Bedingungen, unter denen Aminosäuren noch nicht abgespalten werden. Verbrauch wurden 2.4–2.7 Äquival. Alkali. Das

<sup>7)</sup> H. Brockmann u. E. Meyer, Chem. Ber. 86, 1514 [1953].

<sup>8)</sup> F. A. Hochstein, C. R. Stephens, L. H. Conover, P. P. Regna, R. Pasternack, P. N. Gordon, F. J. Pilgrim, K. J. Brunings u. R. B. Woodward, J. Amer. chem. Soc. 75, 5455 [1953].

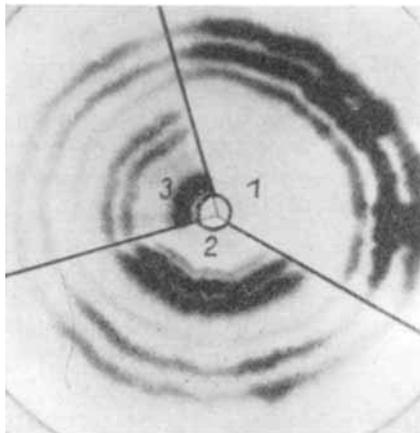
<sup>9)</sup> S. A. Waksman u. M. Tishler, J. biol. Chemistry 142, 519 [1942].

<sup>10)</sup> A. W. Johnson, A. R. Todd u. L. C. Vining, J. chem. Soc. [London] 1952, 2872.

aus der angesäuerten Titrationslösung isolierte gelbrote Reaktionsprodukt enthielt noch die bei der Acetylbestimmung des Actinomycins gefundene flüchtige Säure. Neben dieser Säure müssen demnach noch zwei weitere Ester- bzw. Lactongruppen vorhanden sein.

## II. Desamino-actinomycine

Um optimale Bedingungen für die Bildung der ersten Säureabbauprodukte zu ermitteln, war es wünschenswert, den Reaktionsverlauf analytisch zu verfolgen. Hierzu ist das kürzlich zur Actinomycintrennung entwickelte papierchromatographische Verfahren mit Lösungsvermittlern<sup>11)</sup> vorzüglich geeignet. In den dabei benutzten Systemen, z.B. *n*-Butanol + *n*-Dibutyläther (1:3)/10-proz. Natrium-*m*-kresotinatlösung, kann man neben den Actinomycinen die Abbauprodukte leicht erkennen; sie lassen sich jedoch ihrer kleinen  $R_F$ -Werte wegen nicht voneinander trennen. Das gelang erst, als der Butanolgehalt der mobilen Phase auf 50% erhöht und der stationären Phase 1% 10 *n* NH<sub>3</sub> zugesetzt wurde. Abbild. 2 zeigt in diesem System entwickelte Sektorechromatogramme von Actinomycin C (Gemisch aus Actinomycin C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> und C<sub>3</sub>) sowie von zwei mit 10-proz. Salzsäure bei 20° und 95° gewonnenen Hydrolysaten. Beide Hydrolysate geben, wie aus dem Vergleich mit Sektor 1 (Abbild. 2) hervorgeht, noch die typischen drei Actinomycin-Zonen des Ausgangsmaterials. Neben diesen finden sich im 20°-Hydrolysat drei Zonen mit kleineren  $R_F$ -Werten, deren Intensitätsverhältnis dem der Ausgangsactinomycine entspricht. Die Vermutung, daß diese drei Abbauprodukte den drei Komponenten C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> und C<sub>3</sub> des eingesetzten Actinomycins C zuzuordnen sind, konnte durch den Abbau reiner Actinomycine bestätigt werden; unter gleichen Bedingungen hydrolysierte Proben von Actinomycin C<sub>2</sub> und C<sub>3</sub> ließen nämlich im Chromatogramm nur ein Abbauprodukt erkennen.



Abbild. 2. Sektorechromatogramm im System *n*-Dibutyläther + *n*-Butanol (1:1)/10-proz. Natrium-*m*-kresotinat + 1% 10 *n* Ammoniak. 1. Actinomycin C. 2. Actinomycin C in 10-proz. Salzsäure bei 20° nach 89 Stdn. 3. Actinomycin C in 10-proz. Salzsäure bei 95° nach 15 Min.

<sup>11)</sup> H. Brockmann u. H. Gröne, *Naturwissenschaften* **40**, 222 [1953]; *Chem. Ber.* **87**, 947 [1954].

Im Chromatogramm des 95°-Hydrolysates (Abbild. 2) findet sich neben den Zonen der ersten Abbauprodukte noch eine gelbe Zone mit sehr kleinem  $R_F$ -Wert. Sie enthält ein Gemisch verschiedener Spaltstücke, die sich im Gegensatz zu den ersten Abbauprodukten nicht mit Chloroform aus Wasser ausschütteln lassen.

Zur präparativen Gewinnung der ersten Säureabbauprodukte kann man von den natürlich vorkommenden Actinomycingemischen (z.B. Actinomycin C) ausgehen und die Abbauprodukte der einzelnen Actinomycine chromatographisch trennen. Für die ersten Versuche erschien es uns jedoch zweckmäßiger, einheitliches Ausgangsmaterial zu verwenden. Um optimale Ausbeuten zu erreichen und die Reinigung des Abbauproduktes zu erleichtern, muß man die Hydrolyse so führen, daß einerseits das Actinomycin so weitgehend wie möglich umgesetzt wird, andererseits aber noch nicht die in Sektor 3 (Abbild. 2) gezeigten Abbauprodukte mit den kleinen  $R_F$ -Werten auftreten.

Nachdem Vorversuche mit 10-proz. Salzsäure gezeigt hatten, daß dieses Stadium des Abbaues bei 20° nach 139 Stdn., bei 40° nach 17 Stdn. und bei 60° schon nach 4 Stdn. erreicht ist, wurde in einem präparativen Ansatz eine 0.4-proz. Lösung von Actinomycin C<sub>3</sub> mit 10-proz. Salzsäure 4½ Stdn. auf 60° erwärmt. Das aus der Reaktionslösung mit Chloroform extrahierte und durch Adsorption an Aluminiumoxyd von unverändertem Actinomycin C<sub>3</sub> befreite Abbauprodukt, dessen Ausbeute fast quantitativ war, kristallisierte in dunkelroten Rhomben vom Schmp. 239°. Seine spezifische Drehung war erheblich niedriger als die des Ausgangsmaterials (Tafel 1). Die mit Chloroform ausgezogene Reaktionslösung hinterließ einen farblosen, aminosäurefreien Rückstand, der aus Ammoniumchlorid bestand. Eine quantitative Bestimmung ergab, daß 0.9 Mol Ammoniak entstanden war, die gleiche Menge, die man unter etwas energischeren Hydrolysebedingungen schon früher gefunden hatte<sup>2)</sup>. Da der erste Schritt des milden Säureabbaus mit einer Desaminierung verbunden ist, bezeichnen wir die ersten Säureabbauprodukte der Actinomycine als Desamino-actinomycine und kennzeichnen sie mit dem gleichen Buchstaben wie das Ausgangs-Actinomycin.

Tafel 1 bringt einen Vergleich von Actinomycin C<sub>3</sub> mit Desamino-actinomycin C<sub>3</sub>. Im Gegensatz zum Ausgangsmaterial gibt das Abbauprodukt in Methanol mit Titan(III)-chlorid eine blaugrüne Färbung (Endiol-Reaktion<sup>12)</sup>) und mit Zinn(II)-chlorid ein schon früher bei Säureabbauprodukten der Actinomycine beobachtetes, tiefgrünes Reduktionsprodukt mit charakteristischen Absorptionsbanden. Bemerkenswert ist, daß die für Actinomycine typische Halochromie mit konz. Salzsäure (Rotfärbung) bei den Desamino-actinomycinen nicht mehr auftritt.

Desamino-actinomycin C<sub>3</sub> hemmt das Wachstum von *Staphylococcus aureus* nur bis zu Verdünnungen von 1:75000. Die starke antibiotische Wirksamkeit des Actinomycins C<sub>3</sub> geht demnach schon in der ersten Phase des Säureangriffes so gut wie vollständig verloren. Das gleiche gilt von der toxischen und cytostatischen Wirksamkeit.

Im Gegensatz zum Actinomycin C<sub>3</sub> konnten wir Desamino-actinomycin C<sub>3</sub> in ein kristallisiertes Acetat und einen kristallisierten Methyläther überführen.

<sup>12)</sup> F. Weygand u. E. Csendes, Chem. Ber. 85, 45 [1952].

Tafel I. Vergleich von Actinomycin C<sub>3</sub> mit Desamino-actinomycin C<sub>3</sub>

	Actinomycin C <sub>3</sub>	Desamino-actinomycin C <sub>3</sub>
Elementaranalyse . . . . .	C 59.61 H 6.93 N 12.83	C 59.06 H 7.20 N 11.86
$[\alpha]_D^{20}$ (in Methanol) . . . . .	-321° ( $\pm 10^\circ$ )	-91° ( $\pm 2^\circ$ )
Acetylierung . . . . .	kein Acetat	Monoacetat Schmp. 235°
Methylierung . . . . .	keine Reaktion	Monomethyläther Schmp. 240°
Farbreaktion mit Zinn(II)-chlorid . . . . .	gelb	tiefgrün
Titan(III)-chlorid in Methanol <sup>12)</sup> . . . . .	blaßgelb	blaugrün
konz. Salzsäure . . . . .	Halochromie	keine Halochromie
Verdünnungstest ( <i>Staph. aureus</i> ) . . . . .	1:25 000 000	1:75 000

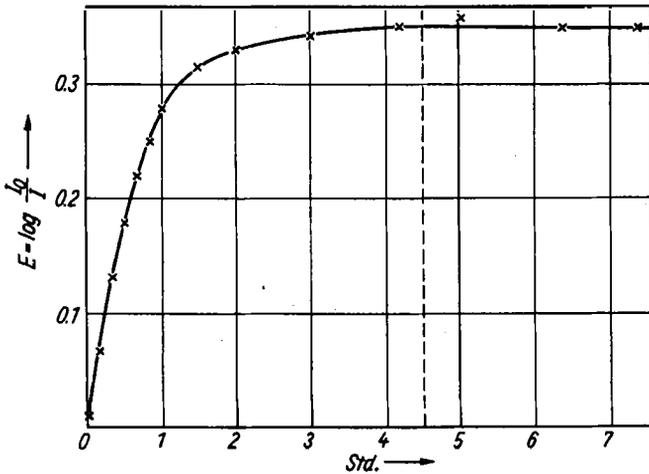
Ihre Analysenzahlen passen gut auf ein Monoacetat bzw. einen Monomethyläther. Desamino-actinomycin C<sub>3</sub> enthält demnach eine Oxygruppe.

Beim Abbau des Actinomycins C<sub>3</sub> fällt das Desamino-actinomycin C<sub>3</sub> z. Tl. aus der 10-proz. Salzsäure aus. Es ist also noch schwächer basisch als das Ausgangsmaterial und kann daher ebensowenig wie dieses eine aliphatische Amino- bzw. Methylaminogruppe enthalten. Im Gegensatz zum Actinomycin C<sub>3</sub> besitzt das Abbauprodukt jedoch eine saure Gruppe, die sich durch potentiometrische Titration in 70-proz. Methanol erfassen läßt. Ihr  $p_K$ -Wert 9.8 ist für eine Carbonsäure zu hoch (z. B. Benzoesäure im gleichen System:  $p_K$  5.9); er liegt in der Größenordnung phenolischer Oxygruppen (1-Oxy-anthrachinon: >10.5; Phenol: >10.5; 2-Oxy-anthrachinon: 9.2; 2-Oxy-naphthochinon-(1.4): 6.4). Man titriert demnach die durch Acetylierung und Methylierung nachgewiesene Oxygruppe des Abbauproduktes.

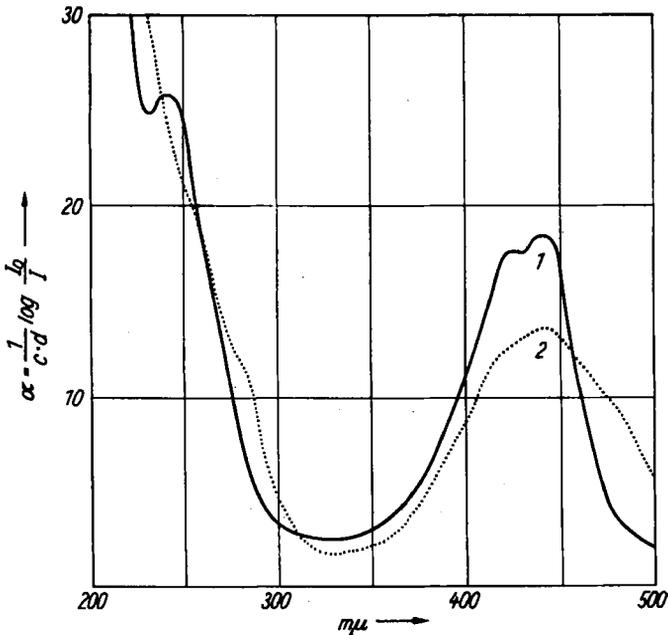
Außer im Papierchromatogramm läßt sich die Entstehung von Desamino-actinomycin bei der sauren Hydrolyse auch an Hand der grünen Zinn(II)-chlorid-Reaktion verfolgen, wenn durch geeignete Versuchsbedingungen eine Weiterreduktion des grünen Produktes vermieden wird. Abbild. 3 zeigt die Extinktion der Grünfärbung in Abhängigkeit von der Hydrolysendauer. Die Farbtintensität erreichte ihr Optimum nach 4½ Stdn. (gestrichelte Linie der Abbild. 3), einer Zeit, innerhalb der das Actinomycin C gerade eben in Desamino-actinomycin C umgewandelt ist.

Da Desamino-actinomycin C<sub>3</sub> ebenso wie Actinomycin C<sub>3</sub> weder aliphatische Aminogruppen noch Methylamino- oder Carboxygruppen enthält, wird der Peptidteil des Actinomycins C<sub>3</sub> beim Übergang in Desamino-actinomycin C<sub>3</sub> offenbar nicht verändert. Vielmehr deutet alles darauf hin, daß der erste Angriff der Säure am Chromophor erfolgt, denn 1. ist der Übergang von Actinomycin C<sub>3</sub> in seine Desamino-Verbindung mit einer Änderung des Absorptionsspektrums verbunden (Abbild. 4), 2. verschwindet dabei diejenige Gruppe des Chromophors, die für die Halochromie der Actinomycine verantwortlich ist, und 3. bildet sich dabei eine Gruppierung, die mit Zinn(II)-chlorid ein tiefgrünes Reduktionsprodukt liefert und mit Titan(III)-chlorid in Methanol unter Blaugrünfärbung reagiert. Berücksichtigt man, daß diese

Änderungen parallel gehen mit der Abspaltung von 1 Mol. Ammoniak und der Ausbildung einer phenolischen, acetylierbaren und methylierbaren Oxygruppe, so ist die Vermutung nicht von der Hand zu weisen, daß beim ersten Angriff der Salzsäure eine Aminochinon- oder eine Chinonimin-Gruppierung in eine Oxychinon-Gruppierung umgewandelt wird. Diese Vermutung findet



Abbild. 3. Extinktion der mit Zinn(II)-chlorid auftretenden Grünfärbung in Abhängigkeit von der Hydrolysendauer bei 60° mit 10-proz. Salzsäure



Abbild. 4. Absorptionsspektren des Actinomycins C₃ (1) und Desamino-actinomycins C₂ (2) in Methanol

eine Stütze in den UR-Spektren von Actinomycin C<sub>3</sub>, Desamino-actinomycin C<sub>3</sub> und dessen Methyläther, die im folgenden kurz diskutiert werden.

Im Spektrum des Actinomycins C (Abbild. 5) gibt sich der Peptidteil durch Banden bei 2.92 und 6.10  $\mu$  (NH-Streckschwingung und Amid-Carbonylbande) zu erkennen. Mit den Befunden der Lactontitration und der Acetylbestimmung steht die Bande bei 5.70  $\mu$  im Einklang, die sowohl einer Lacton- als auch einer Ester-Gruppierung zugeschrieben werden kann.

Die dritte Bande im Doppelbindungsgebiet bei 6.30  $\mu$  ist zu kurzweilig, um als zweite Amid-Carbonylbande eines monosubstituierten Säureamids oder offenkettigen Peptides angesprochen zu werden. Da das Actinomycin C weder freie saure Gruppen enthält, noch solche, die als Zwitterion vorliegen, kann es sich auch nicht um die Bande des Carboxylations handeln. Am besten läßt sich die 6.30- $\mu$ -Bande als NH-Deformationsschwingung einer primären Aminogruppe deuten, die sich mit den üblichen Reagenzien nicht nachweisen läßt, weil sie zu schwach basisch ist<sup>13</sup>).

Über das Ultrarot-Spektrum des Desamino-actinomycins C (Abbild. 6) ist folgendes zu sagen:

1. Die Spektren der Desamino-actinomycine C<sub>2</sub> und C<sub>3</sub> sind identisch.

2. Beim Übergang des Actinomycins C in das Desamino-actinomycin C verliert die NH-Streckschwingungsbande ihre Schulter bei 3.05  $\mu$  (Abbild. 5) und wird schmaler. Dieser Befund steht mit der Annahme in Einklang, daß an die Stelle einer Aminogruppe eine Oxygruppe getreten ist. So zeigen z. B. 1-Amino- und 2-Amino-anthrachinon im Bereich der OH- und NH-Streckschwingungen eine Reihe von Banden, deren kurzweiligste bei 2.90  $\mu$  mit der Bande einer Oxygruppe zusammenfällt.

#### NH-Streckschwingungsbanden der Amino-anthrachinone

1-Amino-anthrachinon . . . . .	2.90 $\mu$	2-Amino-anthrachinon . . . . .	2.90 $\mu$
	3.00 $\mu$		2.96 $\mu$
			3.07 $\mu$

3. Die Actinomycin-C-Bande bei 6.30  $\mu$  im Bereich der NH-Deformationsschwingungen, die wir einer primären Aminogruppe zuordnen möchten, ist beim Desamino-actinomycin verschwunden.

4. Die Carbonylbande bei 6.10  $\mu$  ist schmaler als beim Actinomycin C. In dieser Bande kommen neben der Amid-Carbonylgruppe des Peptidteils die Chinon-Carbonylgruppen zum Ausdruck. Die Verschmälerung auf der langwelligen Seite dieser Bande läßt sich ebenfalls mit dem Austausch einer Aminogruppe gegen eine Oxygruppe am chinoiden Grundgerüst erklären, da z. B. in den Aminoanthrachinonen die benachbarte Chinongruppe z. Tl. langwelliger absorbiert als bei den Oxychinonen.

Über die Stellung der Oxygruppe im Chinonsystem des Desamino-actinomycins C gibt das Spektrum seines Monomethyläthers (Abbild. 7) Aufschluß. Nach der Methylierung (und Acetylierung) erscheint eine neue Bande bei 5.95  $\mu$ . Sie gibt Anlaß zu der Annahme, daß die Oxygruppe des Desamino-actinomycins C einer Chinon-Carbonylgruppe so benachbart steht, daß Wasserstoffbrückenbindung<sup>14, 15</sup> möglich ist. Durch Methylierung wird diese Bindung aufgehoben, wodurch die Absorption der Chinon-Carbonylgruppe nach kürzeren Wellenlängen verschoben wird.

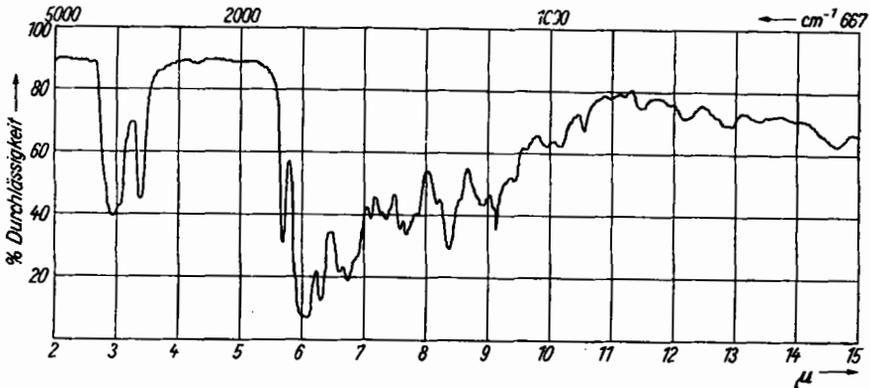
Nachdem durch Untersuchungen unseres Arbeitskreises bekannt ist, daß der saure bzw. alkalische hydrolytische Abbau von Actinomycin C<sub>3</sub> 2 Moll. Threonin, 2 Moll. Sarkosin, 2 Moll. Prolin, 2 Moll. N-Methyl-valin, 2 Moll. Allo-isoleucin, ferner 1 Mol. Ammoniak, 1 Mol. einer flüchtigen Säure<sup>15a</sup>) sowie das Despeptido-actinomycin C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>O<sub>5</sub>N liefert,

<sup>13</sup>) Vergl. z. B. A. Butenandt, U. Schiedt u. E. Biekert, Liebigs Ann. Chem. 588, 108 [1954].

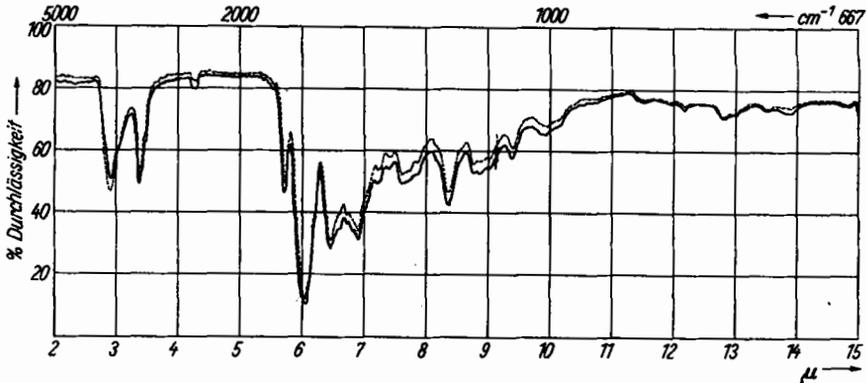
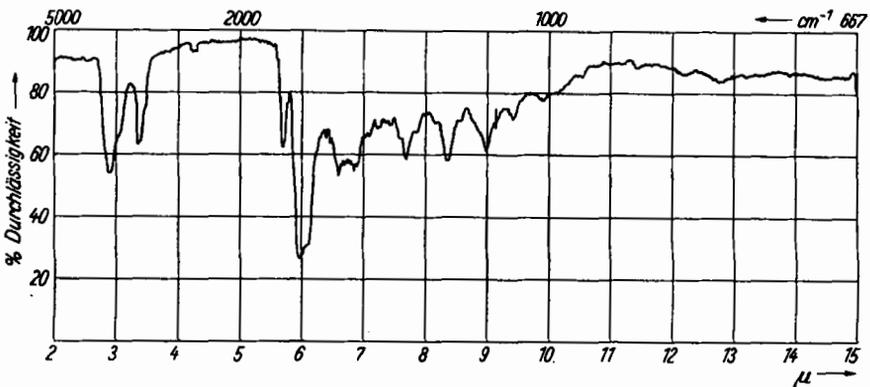
<sup>14</sup>) M. St. C. Flett, J. chem. Soc. [London] 1948, 1441.

<sup>15</sup>) M.-L. Josien, N. Fuson, J. M. Lebas u. T. M. Gregory, J. chem. Physics 21, 331 [1953].

<sup>15a</sup>) Vorläufig als Essigsäure in Rechnung gesetzt.



Abbild. 5. UR-Spektrum des Actinomycins C

Abbild. 6. UR-Spektren der Desamino-actinomycine C<sub>2</sub> und C<sub>3</sub>Abbild. 7. UR-Spektrum des Desamino-actinomycin C<sub>2</sub>-monomethyläthers

haben wir geprüft, ob sich an Hand dieser Abbauprodukte eine Bruttoformel des Actinomycins C ermitteln läßt, die mit den Ergebnissen der Elementaranalyse und der Mol.-Gew.-Bestimmung in Einklang steht. Den eben genannten Abbauprodukten nach muß

Actinomycin C<sub>3</sub> mindestens 12 Stickstoff-Atome enthalten. Hieraus und aus seinem Stickstoffgehalt ergibt sich als Mol.-Gew. 1300, ein Wert, der zwischen den durch Hydrierung und Titration ermittelten Werten 1250 bzw. 1350 liegt.

Addiert man die Summenformeln der eben genannten 13 Abbauprodukte, so erhält man, wie die nebenstehende Zusammenstellung zeigt, C<sub>65</sub>H<sub>120</sub>O<sub>28</sub>N<sub>12</sub>.

2	Moll. Threonin	.....	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub> N <sub>2</sub>
2	„ Sarkosin	.....	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub> N <sub>2</sub>
2	„ Prolin	.....	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub> N <sub>2</sub>
2	„ <i>N</i> -Methylvalin	.....	C <sub>12</sub> H <sub>26</sub> O <sub>4</sub> N <sub>2</sub>
2	„ Allo-isoleucin	.....	C <sub>12</sub> H <sub>26</sub> O <sub>4</sub> N <sub>2</sub>
1	„ Ammoniak	.....	H <sub>3</sub> N
1	„ „Essigsäure“ <sup>(15a)</sup>	.....	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>
1	„ Despeptido-actinomycin	.....	C <sub>16</sub> H <sub>11</sub> O <sub>5</sub> N
			C <sub>65</sub> H <sub>120</sub> O <sub>28</sub> N <sub>12</sub>
-13	„ Wasser		-H <sub>26</sub> O <sub>13</sub>
Actinomycin C <sub>3</sub>			C <sub>65</sub> H <sub>94</sub> O <sub>16</sub> N <sub>12</sub> (1299.5)

Diese Summenformel ist, da die 13 Abbauprodukte durch Hydrolyse entstehen, um mindestens 12 Moll. Wasser zu verringern, um die Bruttoformel des Actinomycins C<sub>3</sub> zu bekommen. Nimmt man an, daß eine cyclische Struktur vorliegt, so sind 13 Moll. Wasser abzuziehen, und man erhält als Bruttoformel C<sub>65</sub>H<sub>94</sub>O<sub>16</sub>N<sub>12</sub> (1299.5), die wir den Analysenberechnungen dieser Arbeit zugrunde gelegt haben und die mit den Elementaranalysen des Actinomycins C<sub>3</sub> gut übereinstimmt.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft, den Farbenfabriken Bayer, Werk Elberfeld, sowie dem Fonds der Chemie danken wir für großzügige Förderung unserer Arbeit.

### Beschreibung der Versuche

#### Versuche zum Nachweis funktioneller Gruppen des Actinomycins C

**Acetylierung:** Eine Lösung von 100 mg Actinomycin C in 6 ccm Pyridin wurde mit 2 ccm Acetanhydrid versetzt und 1 Stde. auf 60° erwärmt. Dann dampfte man die Lösung i. Vak. ein und trocknete den Rückstand i. Vak. über Kaliumhydroxyd und konz. Schwefelsäure. Das Reaktionsprodukt war nach Schmp. und Ringpapierchromatogramm im System *n*-Butanol-*n*-Dibutyläther(1:4)/10-proz. wäbr. Natrium-*m*-kresotinatlösung mit Actinomycin C identisch.

Actinomycin C Gef. CH<sub>3</sub>CO 4.1 Acetylierungsprodukt Gef. CH<sub>3</sub>CO 4.2

**Methylierung:** Eine Lösung von 20 mg Actinomycin C in 10 ccm 3-proz. methanolischer Salzsäure wurde 2 Stdn. auf dem Dampfbad gekocht. Anschließend nahm man in Chloroform auf, wusch die Chloroformlösung mit Wasser und dampfte sie ein. Der Rückstand war im Ringpapierchromatogramm mit Actinomycin C identisch. Gef. CH<sub>3</sub>O 0.15 (0.063 Mol, bezogen auf Mol.-Gew. 1300).

Eine Lösung von 50 mg Actinomycin C in 2 ccm Methanol wurde in 15 ccm frisch destillierte, 2.5-proz. äther. Diazomethanlösung gegossen und 2 Tage bei +5° gehalten. Die Lösung wurde dann mit Wasser gewaschen und eingedampft. Der Rückstand war im Ringpapierchromatogramm mit dem Ausgangsmaterial identisch.

Gef. CH<sub>3</sub>O 0.73 (0.31 Mol, bez. auf Mol.-Gew. 1300).

Eine Lösung von 50 mg Actinomycin C in 4 ccm Methyljodid wurde mit einer Spatelspitze Silberoxyd versetzt. Nach 24 Stdn. wurde filtriert und das Filtrat eingedampft. Der Rückstand war im Ringpapierchromatogramm mit Actinomycin C identisch.

**Umsetzung mit 2.4-Dinitro-fluorbenzol<sup>6)</sup>:** Zu einer Lösung von 100 mg Actinomycin C in 50 ccm Methanol wurden 100 mg in wenig Methanol gelöstes 2.4-Dinitro-fluorbenzol und 100 mg Natriumhydrogencarbonat gegeben. Nach 3 Stdn. fügte

man zur Entfernung von unverändertem Dinitro-fluorbenzol 60 mg Glycin hinzu, verdünnte nach 12 Stdn. mit Wasser, destillierte das Methanol i. Vak. ab, schüttelte mit Chloroform aus und dampfte den Chloroformauszug ein. Der Rückstand vom Schmp. 242° korr. (Ausgangsmaterial 243° korr.) war im Ringpapierchromatogramm mit Actinomycin C identisch.

Actinomycin C Gef. N 12.78; Actinomycin C nach Umsetzung mit 2,4-Dinitrofluorbenzol Gef. N 12.50.

Kontrollversuch: Colamin wurde unter denselben Bedingungen mit 2,4-Dinitrofluorbenzol umgesetzt. Das Dinitrophenylcolamin kristallisierte in gelben Prismen.  $C_8H_9O_3N_5$  (227.2) Ber. N 18.51 Gef. N 18.50

Diazotierungsversuch: Man löste 50 mg Actinomycin C unter Zusatz von einem Tropfen Methanol in 0.5 ccm 10-proz. Salzsäure und ließ unter Eiskühlung eine Lösung von 1.5 g Natriumnitrit in 2 ccm Wasser hinzutropfen. Unter Gasentwicklung fiel ein roter Niederschlag aus. Das Reaktionsprodukt war im Ringpapierchromatogramm mit Actinomycin C identisch.

Potentiometrische Titration: Jeweils 20 mg Actinomycin C wurden in 15 ccm 70-proz. Methanol mit 0.1 n NaOH bzw. Salzsäure titriert. Außerdem wurden 20 mg Actinomycin C in 10 ccm 70-proz. Methanol unter Zusatz von 1 ccm 32-proz. Formol<sup>14)</sup> mit Natronlauge titriert. Keine der Titrationskurven ließ einen Wendepunkt erkennen (Abbild. 1).

Kontrollversuch: Glycin, das sich bei der Titration in 70-proz. Methanol wie eine neutrale Substanz verhielt, zeigte bei der Titration unter Formolzusatz einen scharfen Wendepunkt ( $pK_a = 6.8$ ).

Versuch zur Überführung evtl. vorhandener unsubstituierter Säureamidgruppierungen in Nitrilgruppen<sup>6)</sup>: Eine Lösung von 100 mg Actinomycin C in einer Mischung von 2 ccm Pyridin und 0.6 ccm Benzolsulfochlorid wurde 18 Stdn. bei +5° gehalten. Anschließend nahm man mit Chloroform auf, wusch den Chloroformauszug mehrmals mit Wasser, trocknete mit Natriumsulfat und dampfte i. Vak. ein. Nach seinem Ringpapierchromatogramm und UR-Spektrum war das Reaktionsprodukt identisch mit Actinomycin C. Das UR-Spektrum zeigte keine Nitrilbande bei 4.5  $\mu$ .

Kontrollversuch: Benzamid, in gleicher Weise mit Benzolsulfochlorid umgesetzt, ergab ein Öl vom Sdp. 189° korr., dessen Ultrarot-Spektrum bei 4.47  $\mu$  eine intensive Nitrilbande zeigte und mit dem des Benzonitrils identisch war.

Lactontitration: In 2 Ansätzen wurden Lösungen von 19.9 und 22.2 mg Actinomycin C in je 2 ccm 0.1 n methanol. NaOH 4 Stdn. auf 40° erwärmt. Unter diesen Bedingungen ist, wie die Untersuchung von Proben eines Vorversuches im Ringpapierchromatogramm ergeben hatte, das Actinomycin C gerade vollständig in eine Substanz von kleinerem  $R_F$ -Wert umgewandelt. Die nicht verbrauchte Lauge wurde mit 0.1 n HCl potentiometrisch zurücktitriert. Verbrauch an 0.1 n NaOH: 0.37 ccm, 0.47 ccm; entsprechend 2.4, 2.7 Äquival., bez. auf Mol.-Gew. 1300.

Versuch zur Reduktion von Lactongruppen unter Vermeidung hydrolytischer Spaltungen: Eine Lösung von 100 mg Actinomycin C in einer Mischung aus 20 ccm absol. Äther und 20 ccm absol. Benzol wurde mit 5 ccm einer 2 m äther. Lösung von Lithiumaluminiumhydrid versetzt und 15 Stdn. bei 0° stehen gelassen. Anschließend wurde überschüss. Lithiumaluminiumhydrid mit äther. Essigesterlösung umgesetzt. Dann trennte man die Benzol/Äther-Schicht ab, stellte die wäßr. Phase mit Salzsäure auf  $p_H$  5 ein und schüttelte sie mit Butanol aus. Die vereinigten Auszüge wurden mit Wasser gewaschen, getrocknet und i. Vak. eingedampft ( $R_1$ ). Die wäßr. Phase wurde ebenfalls eingedampft ( $R_2$ ).

$R_1$  trennte sich bei der Untersuchung im Ringchromatogramm nicht in drei Zonen auf, wie sie für das ActinomycinC-Gemisch mit unverändertem Peptidteil charakteristisch sind.  $R_2$  enthielt freie Aminosäuren.

<sup>14)</sup> E. T. Roe u. D. Swern, J. Amer. chem. Soc. 75, 5479 [1953].

## Abbau der Actinomycine zu Desamino-actinomycinen

Desamino-actinomycin C<sub>3</sub>: Eine Lösung von 1.2 g Actinomycin C<sub>3</sub> in 300 ccm 10-proz. Salzsäure wurde 4 $\frac{1}{2}$  Stdn. auf 60° erwärmt. Das teilweise in roten Flocken ausgefallene Desaminoactinomycin C<sub>3</sub> löste sich beim Erkalten wieder auf.

Man schüttelte die wäBr. Phase mit Chloroform aus, wusch den Auszug mit Wasser, trocknete ihn mit Natriumsulfat und dampfte i. Vak. ein. Der Rückstand (1.1 g) wurde in wenig Benzol gelöst und durch eine Säule von 60 g Aluminiumoxyd filtriert. Darauf wurde mit Essigester eine schmale Zone von unverändertem Actinomycin C<sub>3</sub> und anschließend mit Methanol das Desamino-actinomycin C<sub>3</sub> eluiert. Der Rückstand des methanol. Eluates kristallisierte aus Essigester in dunkelroten Rhomben vom Schmp. 239° korr. (Berl-Block).  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-91^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 0.25$ , in Methanol). An Stelle des Essigesters kann auch Kohlenstofftetrachlorid/Cyclohexan (10:1) verwendet werden.

Das mit Chloroform extrahierte, wäBr. Hydrolysat wurde i. Vak. eingedampft. Der Rückstand (50 mg), der keine freien Aminosäuren enthielt, wurde bei 190° i. Hochvak. sublimiert. Das weiße Sublimat gab eine Fällung mit Neßlers Reagens, schmolz nicht bis 350° und war nach seinem Ultrarot-Spektrum identisch mit Ammoniumchlorid.

C<sub>65</sub>H<sub>93</sub>O<sub>17</sub>N<sub>11</sub> (1300.4) Ber. C 60.03 H 7.21 N 11.85 Gef. C 59.16 H 7.18 N 11.90

Zum Vergleich sind im folgenden die Analysenzahlen für Actinomycin C<sub>3</sub> gegeben.

C<sub>65</sub>H<sub>94</sub>O<sub>16</sub>N<sub>13</sub> (1299.5) Ber. C 60.07 H 7.31 N 12.94 Gef. C 59.61 H 6.93 N 12.83

Potentiometrische Titration von Desamino-actinomycin C<sub>3</sub>: 19.855 mg, 20.040 mg Subst. verbrauchten in 70-proz. Methanol bis zum Wendepunkt 0.15, 0.17 ccm 0.1 n NaOH; entspr. 0.98, 1.1 Äquival.;  $pK_a = 9.8$ .

Desamino-actinomycin C<sub>3</sub>-monomethyläther: Eine Lösung von 100 mg Desamino-actinomycin C<sub>3</sub> in 4 ccm Methyljodid wurde mit einer Spatelspitze Silberoxyd versetzt und 15 Stdn. bei 20° gehalten. Nach Abfiltrieren des Silberoxyds verdampfte man das Methyljodid, löste den Rückstand in Benzol und filtrierte die Lösung durch eine Säule von Aluminiumoxyd. Der Methyläther wurde mit Essigester eluiert, das Eluat eingedampft und der Rückstand aus Kohlenstofftetrachlorid/Cyclohexan (10:1) umkristallisiert. Orangefarbene Rhomben, Schmp. 240° korr. (Zers.).

C<sub>66</sub>H<sub>95</sub>O<sub>17</sub>N<sub>11</sub> (1314.5) Ber. C 60.29 H 7.28 N 11.72 1 CH<sub>3</sub>O 2.36

Gef. C 58.82 H 7.23 N 11.63 CH<sub>3</sub>O 2.69, 2.83

Methylierungsversuch mit methanolischer Salzsäure: Eine Lösung von 20 mg Desamino-actinomycin C in 10 ccm 3-proz. methanol. Salzsäure wurde 2 Stdn. auf dem Dampfbad gekocht. Darauf wurde mit Chloroform aufgenommen, die Chloroformlösung mit Wasser gewaschen und eingedampft. Der Rückstand war im Ringpapierchromatogramm mit Desamino-actinomycin C identisch.

C<sub>66</sub>H<sub>95</sub>O<sub>17</sub>N<sub>11</sub> (1314.5) Ber. 1 CH<sub>3</sub>O 2.36 Gef. CH<sub>3</sub>O 0.95

Methylierung mit Diazomethan: Eine Lösung von 50 mg Desamino-actinomycin C in 2 ccm absol. Methanol wurde in 15 ccm frisch destillierte 2.5-proz. äther. Diazomethanlösung gegossen und 2 Tage bei +5° gehalten. Dabei trat schon innerhalb von 15 Min. ein Farbumschlag von Orange nach Gelb ein. Eine Gasentwicklung war nicht zu erkennen. Die äther. Lösung wurde dann mit Wasser gewaschen und eingedampft. Der Rückstand zeigte im Ringpapierchromatogramm 3 gelbe Zonen, deren R<sub>F</sub>-Werte höher lagen als bei den entsprechenden Zonen des Ausgangsmaterials.

C<sub>66</sub>H<sub>95</sub>O<sub>17</sub>N<sub>11</sub> (1314.5) Ber. 1 CH<sub>3</sub>O 2.36 Gef. CH<sub>3</sub>O 3.66, 3.72

Desamino-actinomycin C<sub>3</sub>-monoacetat: Eine Lösung von 100 mg Desamino-actinomycin C<sub>3</sub> in 3 ccm Pyridin wurde mit 1 ccm Acetanhydrid versetzt und 1 Stde. im Dampfbad erwärmt. Dann dampfte man die Lösung i. Vak. ein und nahm den Rückstand in Chloroform auf. Die Lösung wurde viermal mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand kristallisierte aus Kohlenstofftetrachlorid/Cyclohexan (10:1) in roten Täfelchen, Schmp. 235° korr. (Zers.).

C<sub>67</sub>H<sub>95</sub>O<sub>18</sub>N<sub>11</sub> (1342.5) Ber. C 59.94 H 7.13 N 11.48 1 CH<sub>3</sub>CO 3.21

Gef. C 58.93 H 6.85 N 10.59 CH<sub>3</sub>CO 3.92, 4.35<sup>17)</sup>

<sup>17)</sup> Verseifung bei der ersten Bestimmung mit methanol. NaOH während 90 Min., bei der zweiten Bestimmung während 120 Min.; der Acetylblindwert des Actinomycins C, der auch beim Desamino-actinomycin C<sub>3</sub> beobachtet wurde, ist abgezogen.

Bestimmung von Ammoniak und Kohlendioxyd bei der Bildung des Desamino-actinomycins C: In einem Zweihalskolben wurde eine Lösung von 250.6 mg Actinomycin C in 80 ccm kohlenstofffreier 10-proz. Salzsäure unter Durchleiten eines Stickstoffstromes 4 Stdn. auf 60° erwärmt. Der Stickstoffstrom wurde durch einen Rückflußkühler und dann durch eine Waschflasche mit 20 ccm 5*n* NaOH geleitet. Anschließend wurde die Natronlauge zur Bestimmung<sup>18)</sup> des bei der Reaktion möglicherweise gebildeten Kohlendioxyds mit einer Lösung von 8.5 g Bariumchlorid und 6 g Ammoniumchlorid in 25 ccm Wasser versetzt. Es trat keine Fällung ein.

Die salzsaure Lösung wurde mit Chloroform extrahiert und eingedampft. Das im Rückstand enthaltene Ammoniak wurde in einer Mikro-Kjeldahl-Apparatur bestimmt. Gef. NH<sub>3</sub> 3.12 mg (0.93 Mol, bez. auf Mol.-Gew. 1300).

Saure Hydrolyse des Desamino-actinomycins C<sub>2</sub>: Eine Lösung von 313 mg Desamino-actinomycin C<sub>2</sub> in 120 ccm 10-proz. Salzsäure wurde solange auf 80° erwärmt, bis (nach etwa 15 Stdn.) das Ausgangsmaterial vollständig in ein weiteres Abbauprodukt von kleinerem R<sub>F</sub>-Wert umgewandelt war. Um diesen Zeitpunkt zu erkennen, wurden in regelmäßigen Zeitabständen Proben des Hydrolysats entnommen, in der beschriebenen Weise aufgearbeitet und die Rückstände des Chloroformauszugs im Ringpapierchromatogramm untersucht. Das rotgefärbte Hydrolysat schüttelte man mit Butanol durch, wusch die Auszüge mit Wasser, trocknete mit Natriumsulfat und verdampfte i. Vakuum. Der rotbraune, amorphe Rückstand war leicht löslich in Wasser und Methanol und schwer löslich in Benzol und Chloroform.

Die mit Butanol ausgeschüttelte, saure wäßr. Lösung wurde i. Vak. eingedampft. Im Rückstand wurden die Aminosäuren Sarkosin, Threonin, Prolin, Valin, *N*-Methyl-valin und Allo-isoleucin papierchromatographisch nachgewiesen.

Untersuchung der Zinn(II)-chlorid-Reaktion beim milden Säureabbau des Actinomycins C: Eine Lösung von 60.2 mg Actinomycin C in 100 ccm 10-proz. Salzsäure wurde auf 60° erwärmt. Man entnahm der Lösung in wachsenden Zeitabständen Proben von je 5 ccm, die mit Wasser auf 100 ccm verdünnt und im Lange-Kolorimeter mit soviel 0.01*n* Zinn(II)-chlorid versetzt wurden, wie notwendig war, um das Maximum der Grünfärbung zu erreichen. Die Grünfärbung konnte durch Verwendung der Rotfilter RG2 selektiv erfaßt werden.

## 280. Hans Brockmann und Hans Musso: Geomycin, II. Mitteil.\*); Antibiotica aus Actinomyceten. XXIX. Mitteil.\*\*)

[Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen]  
(Eingegangen am 20. September 1954)

Aus Mycel und Kulturlösung von *Streptomyces xanthophaeus* (nov. spec.) wurde ein neues, gegen grampositive und -negative Bakterien wirksames, wasserlösliches Antibioticum, das Geomycin, als kristallisiertes Salz der 4'-Dimethylamino-azobenzol-sulfonsäure-(4)\*\*\*) isoliert. Geomycin besteht wie Neomycin, Streptothricin und andere basische Antibiotica aus mehreren, einander sehr ähnlichen Komponenten (Geomycin A, B, C und D), die sich papierchromatographisch trennen lassen. Die Geomycine sind mehrsaurige Basen, für die als vorläufige Bruttoformel (C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>N<sub>2</sub>)<sub>8-10</sub> angenommen wird.

Unter den vielen, in unserem Institut isolierten Actinomyceten-Stämmen fanden wir mehrere, die wegen ihrer Wirksamkeit gegen gramnegative Bakterien von Interesse sind. Vorversuche zeigten, daß es sich bei den Anti-

<sup>18)</sup> H. E. Charter, R. K. Clark, P. Kohn, J. W. Rothrock, W. R. Taylor, C. A. West, G. B. Whitfield u. W. G. Jackson, J. Amer. chem. Soc. **76**, 566 [1954].

\*) I. Mitteil.: H. Brockmann u. H. Musso, Naturwissenschaften **41**, 451 [1954].

\*\*\*) XXVIII. Mitteil.: H. Brockmann u. H. Musso, Naturwissenschaften **41**, 451 [1954].

\*\*\*\*) Im folgenden kurz als Helianthinsalz bezeichnet.