

HANS BROCKMANN und HEINZ GRÖNE

Actinomycine, XVIII¹⁾. Antibiotica aus Actinomyceten, XXXIX²⁾**Abbau von Actinomycin C zu Actinocinin und
Desamino-actinocinyl-threonin**Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen
(Eingegangen am 15. Januar 1958)

Aus Actinomycin C ließ sich mit Salzsäure der desaminierte Actinomycin-Chromophor als kristallisiertes, rotes, *Actinocinin* genanntes Abbauprodukt $C_{15}H_{11}NO_5$ abspalten, dessen funktionelle Gruppen ermittelt wurden. Daneben konnte ein zweites kristallisiertes, rotes Spaltstück gefaßt werden, das neben dem Ringsystem des Actinocinins noch einen Threoninrest enthält.

Seitdem durch unseren Arbeitskreis³⁾ sowie von A. R. TODD und Mitarbb.⁴⁾ gezeigt worden ist, daß die gelbroten Actinomycine „Chromopeptide“ sind, deren Molekel aus einem Farbstoffteil (Chromophor) und einem Peptidteil besteht, ist in unserem Institut außer dem Peptidteil auch der Chromophor eingehend untersucht worden. Nachdem diese Arbeiten kürzlich mit der Strukturaufklärung und Synthese des Chromophors⁵⁾ ihren Abschluß gefunden haben, sollen ihre Ergebnisse nunmehr ausführlicher mitgeteilt werden. Wir berichten zunächst über Versuche, den Chromophor in Form eines definierten Abbauproduktes hydrolytisch vom Peptidteil abzuspalten.

Mit Alkali gelingt diese Abspaltung auch unter milden Bedingungen nicht, weil der Chromophor weitgehend verändert wird, bevor es zur Ablösung aller Aminosäuren kommt. Verwendet man statt Alkali wäßriges Bariumhydroxyd, so verläuft der Abbau, weil sich schwer lösliche Bariumsalze bilden, teilweise im heterogenen System und führt u. a. zu einem aminosäurefreien, kristallisierten, roten Spaltstück $C_{15}H_{11}NO_5$, dem *Despeptido-actinomycin*³⁾. Die zuerst naheliegende Annahme, damit den Chromophor in Händen zu haben, hat sich nicht bestätigt. Vielmehr folgt aus spektroskopischen Vergleichen und anderen Befunden, daß *Despeptido-actinomycin* durch eine in ihren Einzelheiten noch nicht geklärte, tieferegreifende Umlagerung des Chromophors entsteht. Der auch durch Synthese⁶⁾ gesicherte Beweis⁷⁾, daß *Despeptido-actinomycin* das 2.5-Dihydroxy-3.6-dimethyl-acridon-chinon-(1.4) ist, hat daher zur Konstitutionsaufklärung des Actinomycin-Chromophors nur wenig beitragen können.

1) XVII. Mittel.: H. BROCKMANN und H. MUXFELDT, Chem. Ber. **89**, 1397 [1956].

2) XXXVIII. Mittel.: H. BROCKMANN und R. OSTER, Chem. Ber. **90**, 605 [1957].

3) H. BROCKMANN und N. GRUBHOFER, Naturwissenschaften **36**, 376 [1949]; **37**, 494 [1950]; H. BROCKMANN, N. GRUBHOFER, W. KASS und H. KALBE, Chem. Ber. **84**, 260 [1951].

4) C. E. DALGLIESH und A. R. TODD, Nature [London] **164**, 830 [1949]; C. E. DALGLIESH, A. W. JOHNSON, A. R. TODD und L. C. VINING, J. chem. Soc. [London] **1950**, 2946.

5) Vorläufige Mittel.: H. BROCKMANN und H. MUXFELDT, Angew. Chem. **68**, 69 [1956].

6) H. BROCKMANN und H. MUXFELDT, Chem. Ber. **89**, 1397 [1956].

7) H. BROCKMANN und H. MUXFELDT, Chem. Ber. **89**, 1379 [1956].

Dagegen hat sich der Abbau zum Despeptido-actinomycin in anderer Hinsicht nützlich erwiesen; zur Entscheidung nämlich, ob verschiedene Actinomycine den gleichen Chromophor enthalten. Wie kürzlich gezeigt⁸⁾, liefern die Actinomycine C₁, C₂, C₃, X_{0β}⁹⁾ und X₂ beim Bariumhydroxyd-Abbau das gleiche Despeptido-actinomycin. Würden sich ihre Chromophore strukturell, etwa durch Zahl und Stellung von Hydroxy- oder Methylgruppen unterscheiden, so sollten sich solche Unterschiede in der Struktur der zugehörigen Despeptido-actinomycine wiederfinden und diese daher verschieden sein. Da das bei den eben genannten Actinomycinen nicht der Fall ist, vielmehr alle das gleiche Despeptido-actinomycin liefern, darf man annehmen, daß alle fünf den gleichen Chromophor enthalten⁸⁾; ein Ergebnis, das für die vorliegende Arbeit insofern wichtig war, als es uns erlaubt hat, sämtliche Versuche zur Abspaltung des Chromophors mit dem von *Streptomyces chryso-mallus*¹⁰⁾ produzierten, als Actinomycin C bezeichneten³⁾ Gemisch¹¹⁾ aus Actinomycin C₁, C₂ und C₃ durchzuführen, ohne es vorher in die Komponenten zu zerlegen.

ABBAU VON ACTINOMYCIN C DURCH SALZSÄURE

Nachdem die Alkalihydrolyse als ungeeignet erkannt, und auch fermentative Spaltungsversuche gescheitert waren, haben wir versucht, den Chromophor durch Salzsäure vom Peptidteil abzulösen. Läßt man 10-proz. Salzsäure unter milden Bedingungen, z. B. 4 Stdn. bei 40°, auf ein Actinomycin einwirken, so verwandelt es sich fast quantitativ in ein Desamino-actinomycin¹²⁾. Dabei wird lediglich eine Aminogruppe des Chromophors als Ammoniak abgespalten und durch eine Hydroxygruppe ersetzt, der Peptidteil dagegen bleibt intakt¹²⁾. Das aber bedeutet: Bei allen Versuchen, den Actinomycin-Chromophor mit Säure vom Peptidteil abzulösen, wird man, falls nicht besondere Vorkehrungen getroffen werden, damit rechnen müssen, statt des ursprünglichen Chromophors den Desamino-actinomycin-Chromophor zu erhalten. Für unsere Arbeit war diese Einschränkung ohne Bedeutung, denn bei der großen Ähnlichkeit zwischen Actinomycinen und Desamino-actinomycinen ist die Strukturaufklärung des Desamino-actinomycin-Chromophors gleichbedeutend mit der des Actinomycin-Chromophors.

Hydrolisiert man ein Actinomycin mit 10-proz. Salzsäure bei 80–100°, so werden aus dem zunächst entstehenden Desamino-actinomycin allmählich die Amino- und Methylaminosäuren abgespalten, und es entstehen in größerer Zahl gelbrote Abbauprodukte, die sich in Art, Zahl und Stellung ihrer Aminosäurereste unterscheiden. Da sie im Absorptionsspektrum dem Desamino-actinomycin, aus dem sie entstehen, sehr ähnlich sind und wie dieses mit Zinn(II)-chlorid ein grünes, semichinoides Reduktionsprodukt liefern, enthalten sie offenbar alle noch den Chromophor des Desamino-actinomycins.

Für uns kam es nun darauf an, die Hydrolyse über dieses Abbaustadium hinauszutreiben; energisch genug einerseits, um alle Aminosäuren abzulösen und milde

8) H. BROCKMANN und K. VOHWINKEL, Chem. Ber. **89**, 1337 [1956].

9) H. BROCKMANN und J. H. MANEGOLD, unveröffentlicht.

10) W. LINDENBEIN, Arch. Mikrobiol. **17**, 361 [1952].

11) H. BROCKMANN und H. GRÖNE, Chem. Ber. **87**, 1036 [1954].

12) H. BROCKMANN und B. FRANCK, Chem. Ber. **87**, 1767 [1954].

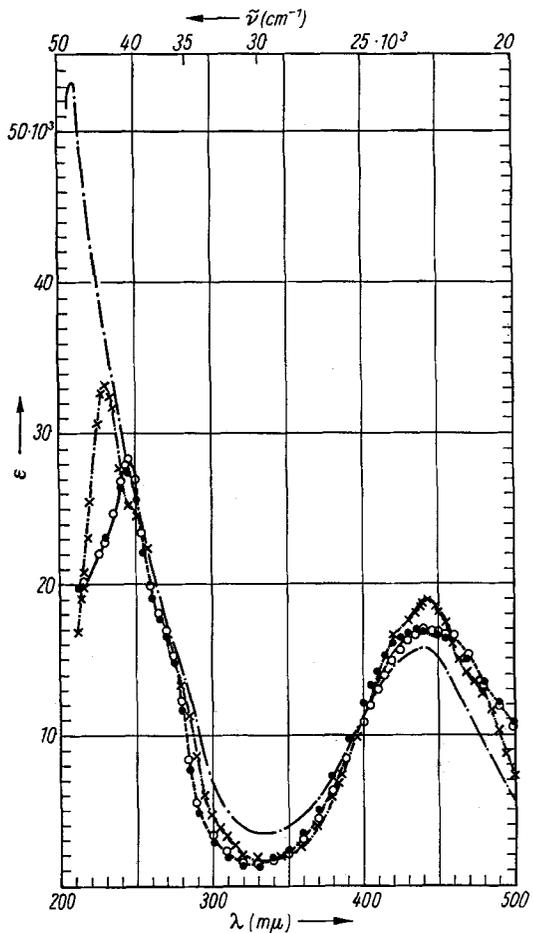
genug andererseits, um den Chromophor soweit wie möglich zu schonen. Reihenversuche haben gezeigt, daß man diesem Ziel nahekommt, wenn man mit 10-proz. Salzsäure 120 Std. auf 80° erwärmt. Ein solches Actinomycin C-Hydrolysat haben wir, um eine Vorfraktionierung der Abbauprodukte zu erreichen, zunächst mit Chloroform und dann mit Butanol extrahiert.

ACTINOCININ

Aus dem Chloroformauszug des Actinomycin C-Hydrolysates konnten wir durch chromatographische Adsorption an saurem Kieselgel neben anderen Fraktionen eine kristallisierte, rote, *Actinocinin* genannte Verbindung abtrennen, aus der auch durch energische Säurehydrolyse keine Aminosäure mehr abzuspalten war. Ihre kleinste auf die Analysenzahlen passende Formel ist $C_{15}H_{11}NO_5$. Die nächst größere, mit zwei Stickstoffatomen und dem Mol.-Gew. 570.5 entfällt als Bruttoformel, weil die Bildung eines so großen, aminosäurefreien Abbauproduktes mit Mol.-Gew. und Aminosäuregehalt der Actinomycine nicht in Einklang zu bringen ist.

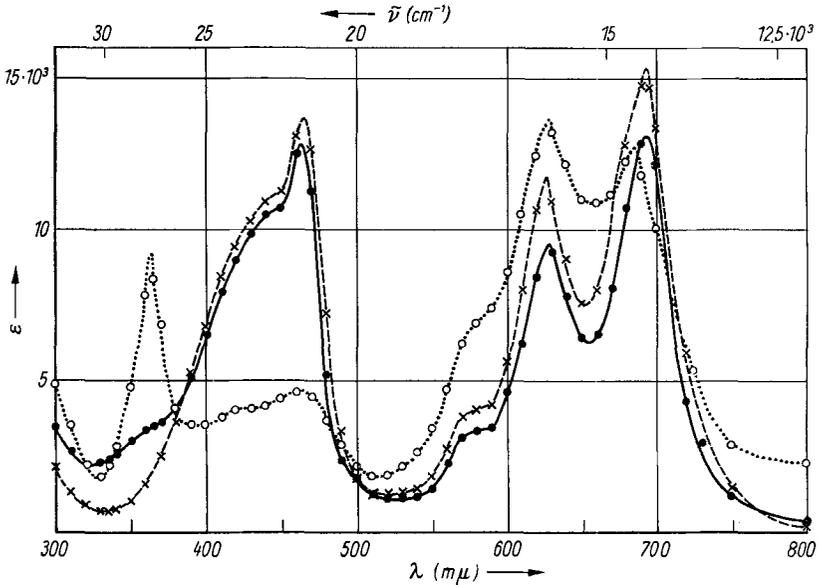
$C_{15}H_{11}NO_5$ ist demnach die Bruttoformel des Abbauproduktes, d. h., es ist isomer mit Despeptido-actinomycin.

Actinocinin unterscheidet sich in seinem Absorptionsspektrum — im Gegensatz zum Despeptido-actinomycin — nur wenig von den Desamino-actinomycinen, den ersten, noch den intakten Peptidteil enthaltenden Säureabbauprodukten der Actinomycine (Abbild. 1). Ebenso wie diese gibt es in Eisessig oder Chloroform mit Zinn(II)-chlorid ein tiefgrünes Reduktionsprodukt (Abbild. 2). Von Anfang an war daher kaum zweifelhaft, daß wir im Actinocinin den Chromophor



Abbild. 1. Absorptionskurven von Desamino-actinocinyl-threonin-dimethylester (x---x), Desamino-actinomycin C_3 (---) und Actinocinin (zwei Präparate verschiedener Herkunft —••— und —o—o—) in Methanol

des Desamino-actinomycins in Händen hatten. Da die Ausbeute — 30 bis 40 mg Actinocinin aus 1 g Actinomycin — gering war, haben wir uns zunächst darauf beschränkt, die funktionellen Gruppen zu ermitteln.



Abbild. 2. Absorptionskurven von Desamino-actinomycin C₃ (—●—●—), Desamino-actinomycinyl-threonin-dimethylester (---x---x---x) und Actinocinin (o··o··o··o··o··) in Chloroform nach Zugabe von überschüss. Zinn(II)-chlorid. Bei der Bewertung der Extinktionswerte ist zu berücksichtigen, daß die Reduktion bis zu einem noch unbekanntem Grade über die grüne Zwischenstufe hinausgegangen sein kann.

Actinocinin liefert bei der KUHN-ROTH-Oxydation 1.2—1.3 Moll. Essigsäure und enthält demnach zwei C-Methylgruppen. Seine Basizität ist so gering, daß es mit Perchlorsäure in Eisessig potentiometrisch nicht zu titrieren und mit verd. Salzsäure nicht aus Chloroform auszuschütteln ist; erst 20-proz. Salzsäure extrahiert das Abbauprodukt aus Chloroform. Das N-Atom kann demnach nicht als Amino- oder Iminogruppe vorliegen. Daß es einer Säureamidgruppe angehört, ist unwahrscheinlich, weil Actinocinin gegen Säuren recht beständig ist. Am besten läßt sich die geringe Basizität mit der Annahme vereinbaren, daß der Stickstoff Bestandteil eines heterocyclischen Ringes ist.

Actinocinin löst sich mit bräunlichgelber Farbe in wäßrigem Natriumhydrogencarbonat und zeigt bei potentiometrischer Titration in 50-proz. Dimethylformamid zwei saure Gruppen; eine etwa so acid wie Benzoesäure, die andere so wie die β -Hydroxygruppe des Alizarins. Daraus läßt sich auf Anwesenheit einer Carboxy- und einer phenolischen Hydroxygruppe schließen.

Wie schon erwähnt, wird Actinocinin durch Zinn(II)-chlorid zu einer tiefgrünen, beständigen Verbindung reduziert. Sie zeigt ein Absorptionsspektrum (Abbild. 2),

das dem des grünen Desamino-actinomycin-Reduktionsproduktes sehr ähnlich ist, und wird unter schärferen Bedingungen, z. B. durch Erhitzen mit Zinn(II)-chlorid, zu einem gelben Produkt weiterreduziert, das sich an der Luft wieder grün färbt. Redox-Titrationskurven¹³⁾, gemessen in 70-proz. Methanol mit Chrom(II)-acetat, sprechen dafür, daß das grüne Reduktionsprodukt ebenso wie das der Desamino-actinomycine ein Semichinon ist. Das bei diesen Titrationen für Actinocinin gefundene Mol.-Gew.¹³⁾ stimmt gut mit dem für $C_{15}H_{11}NO_5$ berechneten überein.

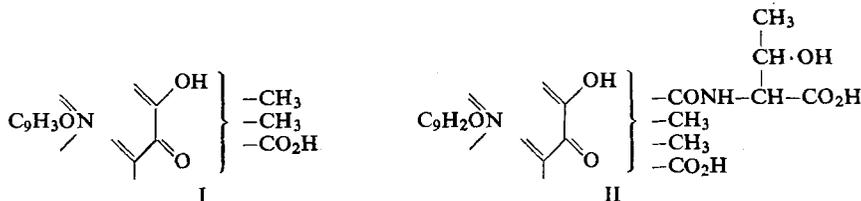
Mit Methyljodid/Silberoxyd erhielten wir aus Actinocinin ein krist., gelbes Dimethoxyderivat $C_{17}H_{15}NO_5$ vom Schmp. 210–211°. Es ist im Gegensatz zum Ausgangsmaterial in wäßrigem Alkali unlöslich und liefert mit Zinn(II)-chlorid *kein* grünes Reduktionsprodukt. In konz. Salz- und Schwefelsäure löst es sich rot.

Das IR-Spektrum des Actinocinins und seines Methylierungsproduktes bestätigt die auf chemischem Wege ermittelte Funktion von drei Sauerstoffatomen (phenolische und Carboxy-OH-Gruppe durch eine Bande bei 2.95 μ , die im Methylierungsprodukt fehlt; Carbonylbande der freien und veresterten Carboxygruppe bei 5.75 μ , Fehlen dieser Bande im Natriumsalz). Über die Funktion eines weiteren Sauerstoffatoms gibt eine scharfe, bei 6.1 μ liegende Bande des Actinocinin-Methylierungsproduktes Aufschluß, die einer $\alpha,\beta;\alpha',\beta'$ -ungesättigten Carbonylgruppe zugeordnet werden kann.

Bemerkenswert ist, daß Actinocinin mit *o*-Phenylendiamin ein Kondensationsprodukt bildet. Da Actinocinin seinem Oxydationspotential nach kein *o*-Chinon sein kann, kommt als Reaktionspartner für das *o*-Phenylendiamin nur eine hydroxychinoide Gruppierung (vgl. Formel I) in Betracht, die offenbar auch für die Bildung des grünen Zinn(II)-chlorid-Reduktionsproduktes verantwortlich ist; denn das Kondensationsprodukt gibt mit Zinn(II)-chlorid nicht mehr die grüne Farbreaktion. Ebenso bleibt, wie schon erwähnt, die Farbreaktion beim Dimethoxyderivat des Actinocinins aus, in dem die Hydroxygruppe der chinoiden Gruppierung (vgl. Formel I) methyliert sein muß.

Ob das fünfte und letzte Sauerstoffatom des Actinocinins ebenfalls einer $\alpha,\beta;\alpha',\beta'$ -ungesättigten Carbonylgruppe angehört, mit anderen Worten, ob Actinocinin ein Chinon ist, kann auf Grund der vorstehend geschilderten Ergebnisse nicht entschieden werden. Bei Versuchen, Actinocinin reduzierend zu acetylieren, erhielten wir in geringer Menge eine krist. farblose Substanz, die an der Luft schnell grün und später rot wurde.

Ebenso unbefriedigend war das Ergebnis der Zinkstaubdestillation. Das nur in kleiner Menge entstandene, zunächst farblose, an der Luft schnell braun werdende Destillat gab ein amorphes Pikrat und Perchlorat und zeigte ein uncharakteristisches UV-Spektrum.



Den vorstehenden Befunden nach kann die Summenformel $C_{15}H_{11}NO_5$ des Actinocinins nach I aufgelöst werden.

¹³⁾ K. VOHWINKEL, Diplomarbeit, Univ. Göttingen 1955.

DESAMINO-ACTINOCINYL-THREONIN

Der Butanolextrakt des salzsauren Actinomycin C-Hydrolysates enthielt ein Gemisch gelbroter, saurer Abbauprodukte, das mit Petroläther ausgefällt wurde. Da sich diese „Butanolfraktion“ durch Verteilungschromatographie (Butanol/Phosphatpuffer p_{H} 7.8) nur unvollständig trennen ließ und in den zur Adsorptionschromatographie geeigneten Solvenzien zu wenig löslich war, haben wir sie, um ihre Löslichkeit in diesen Solvenzien zu erhöhen, verestert. Das gelang in guter Ausbeute mit Methanol/Chlorwasserstoff und schonender noch mit Methyljodid/Silberoxyd. Als die so veresterte Butanolfraktion aus Benzol/Butanol (99:1) an einer Säule aus saurem, aktiviertem Kieselgel adsorbiert wurde, bildete sich eine Vielzahl scharf abgesetzter Zonen, unter ihnen einige, deren Inhaltstoffe kristallisierten.

Auch die Verteilungschromatographie eignet sich zur Auftrennung der veresterten Butanolfraktion. Für die *analytische* Zerlegung im Ringchromatogramm bewährte sich Butylacetat/Dibutyläther (3:1)/10-proz. wäßriges Natrium-*m*-kresotinat, für *präparative* Trennungen an der Cellulosesäule: Butylacetat/Chloroform (4:1)/10-proz. wäßriges Natrium-*m*-kresotinat. Trennschärfe und Kapazität der Cellulosesäule waren geringer als die der Kieselgelsäule, so daß wir diese bevorzugten.

Während unserer Arbeit gelang es, auch die Verteilungschromatographie der unveresterten Butanolfraktion zu verbessern, und zwar durch Verwendung des Systems n-Butanol/Butylacetat/n-Dibutyläther (4:3:1 oder 2:1:1)/10-proz. wäßriges Natrium-*m*-kresotinat (2 Vol.-% konz. Ammoniak enthaltend). Dieses Verfahren empfiehlt sich, wenn man einheitliche, *unveresterte* Abbauprodukte gewinnen will; denn sie durch Verseifung aus den Methylestern zu bereiten, ist unzulässig, weil dabei Chromophor und Peptidteil angegriffen werden können.

Unter den Abbauprodukten, die bei der Chromatographie der veresterten Butanolfraktion anfielen, war eines, das in derben, roten Kristallen vom Schmp. 236–240° isoliert wurde und bei energischer Säurehydrolyse als einzige Aminosäure *Threonin* lieferte. In seinem Absorptionsspektrum sowie im Spektrum seines grünen Zinn(II)-chlorid-Reduktionsproduktes (Abbild. 2) unterscheidet es sich wenig von Actinocinin. Offenbar ist es ein Zwischenprodukt auf dem Wege vom Desamino-actinomycin C zum Actinocinin, oder, anders ausgedrückt, ein Derivat des Actinocinins und damit des Desamino-actinomycin-Chromophors.

Die Analysenzahlen und das durch Redox-Titration mit Chrom(II)-acetat ermittelte Mol.-Gew.¹³⁾ passen gut auf die Formel $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_9$ mit zwei Methoxygruppen. Diese beiden Gruppen müssen, da Actinomycin C methoxylfrei ist, bei der Methylierung der Butanolfraktion entstanden sein, d. h., das Abbauprodukt, so wie es bei der Hydrolyse anfällt, hat die Zusammensetzung $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_9$. Dieser Formel entsprechend kann es, wenn es ein Actinocininderivat ist, nur 1 Mol. Threonin enthalten, denn das eine seiner beiden Stickstoffatome gehört zum Actinocininteil der Molekel. Wir bezeichnen das Abbauprodukt im folgenden als *Desamino-actinocinyl-threonin*¹⁴⁾.

Die Frage, wie das Threonin mit dem Actinocininteil verbunden ist, hat sich durch folgende Befunde klären lassen. Das Dimethoxyderivat des Desamino-actinocinyl-

¹⁴⁾ Zur Nomenklatur vgl. die folgende Mitteilung. In unserer vorläufigen Mitteilung. (H. BROCKMANN und H. GRÖNE, Angew. Chem. 68, 66 [1956]) als Desamino-actinocinyl-threonin bezeichnet.

threonins kann weder mit 30-proz. Salzsäure aus Chloroform ausgeschüttelt, noch potentiometrisch mit Perchlorsäure in Eisessig titriert werden, d. h., es ist ebenso schwach basisch wie Actinocinin. Die Aminogruppe des Threoninrestes kann demnach nicht frei sein. Dieses Ergebnis zusammen mit der Tatsache, daß man Threonin mit Salzsäure ebenso wie mit wäßrigem Alkali aus Desamino-actinocinyl-threonin abspalten kann, wird verständlich, wenn man annimmt, daß der chromophore Teil über eine Carboxygruppe säureamidartig mit der Aminogruppe des Threoninrestes verknüpft ist. Dafür spricht auch eine starke, dem Actinocinin fehlende IR-Bande des Desamino-actinocinyl-threonin-dimethoxy-Derivates bei 6.5μ , die als Amid-II-Bande eines monosubstituierten Amides angesprochen werden kann.

Bestünde Desamino-actinocinyl-threonin aus 1 Mol. Actinocinin, das über seine Carboxygruppe mit der Aminogruppe einer Threoninmolekel verbunden ist, so wäre seine Bruttoformel $C_{19}H_{18}N_2O_7$, während $C_{20}H_{18}N_2O_9$ gefunden wurde. Die Differenz CO_2 läßt sich am besten durch die Annahme erklären, daß im Ringsystem des Actinocininrestes eine freie Carboxygruppe steht, die zusammen mit der Carboxygruppe des Threoninrestes das Desamino-actinocinyl-threonin zu einer Dicarbonsäure macht. Das kristallisierte Dimethoxyderivat, das bei der Umsetzung der Butanolfraktion mit Methyljodid/Silberoxyd entsteht, müßte dann ein Dimethylester sein, d. h., die Hydroxygruppe der im Actinocinin teil vorliegenden Hydroxy-carbonylgruppierung (vgl. Formel I) wäre, anders als beim Actinocinin, nicht methyliert worden. Daß dies zutrifft, zeigten 1. die grüne Zinn(II)-chlorid-Reaktion des Dimethylesters und 2. seine potentiometrische Titration in 90-proz. Dimethylformamid, bei der eine saure Gruppe gefunden wurde.

Mit Acetanhydrid/Pyridin erhielten wir aus Desamino-actinocinyl-threonin-dimethylester ein krist., sich oberhalb 240° zersetzendes Derivat, das der Acetylbestimmung nach einen Acetylrest enthält. Auf Grund der bisher vorliegenden Ergebnisse kann die Bruttoformel $C_{22}H_{22}N_2O_9$ des Desamino-actinocinyl-threonin-dimethylesters nach II aufgelöst werden.

Der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT, dem FONDS DER CHEMIE und den FARBEN-FABRIKEN BAYER, Werk Elberfeld, danken wir für großzügige Förderung unserer Arbeiten.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Saures Kieselgel: Kieselgel (Gebr. HERRMANN, Köln-Ehrenfeld, Em, DIN 60/80 B) schlammte man in 20-proz. Salzsäure auf, dekantierte nach kurzer Zeit und wusch unter wiederholtem Dekantieren säurefrei. Sehr feinkörnige Bestandteile wurden dabei entfernt, was der Durchlaufgeschwindigkeit der Chromatogrammsäulen zugute kam. Das so erhaltene Präparat schlammte man in n HCl auf, saugte ab, trocknete ohne zu waschen an der Luft und erhitzte dann in 3 cm dicker Schicht 45 Min. auf 120° .

Salzsäure-Hydrolyse von Actinomycin C: Eine Lösung von 2 g Actinomycin C in 400 ccm 20-proz. Salzsäure (p. a.) erhitzte man 120 Stdn. unter Stickstoff auf 80° , verdünnte die dunkelbraune Lösung mit dem doppelten Vol. Wasser und extrahierte sie erschöpfend mit Chloroform und dann mit Butanol.

Der 2mal mit je 250 ccm Wasser gewaschene Butanolauszug wurde bei 50° i. Vak. auf 15 ccm eingengt und mit dem 4–5fachen Vol. Petroläther versetzt. Aus dem dabei aus-

fallenden Niederschlag isolierte man, wie unten angegeben, das Desamino-actinocinyl-threonin.

Actinocinin: Den Chloroformauszug des Actinomycin-Hydrolysates gab man auf eine Säule von saurem Kieselgel (65 × 3 cm) und wusch mit Chloroform/Aceton (9:1) nach. Dabei bildeten sich 2 rote Hauptzonen (obere als A, untere als B bezeichnet), über und unter denen weitere, rote bzw. gelbe Zonen lagen. Aus dem stark eingeeengten Acetoneluat von Zone B kristallisierte das *Actinocinin* in roten Blättchen. Es ist mäßig löslich in Aceton, Chloroform und Methanol, gut löslich in Pyridin, wäbr. Alkali (gelbbraun), Natriumhydrogencarbonat, konz. Salzsäure und konz. Schwefelsäure (Lösungsfarbe in beiden Säuren braun).



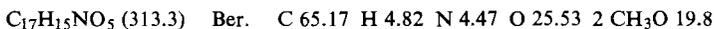
Ber. C 63.16 H 3.89 N 4.91 O 28.05 2 C-CH₃ 10.5 2 akt. H 0.70

Gef.*) C 62.98 H 3.96 N 4.78 O 27.75 C-CH₃ 10.1 0.47**), 0.84***)

*) getrocknet bei 80° i. Hochvak. **) bei 21° ***) bei 95°

Potentiometrische Titration: 28.5 mg Subst. verbrauchten bis zum ersten Potentialsprung 0.90 ccm 0.1 n NaOH. Mol.-Gew. ber. 285, gef. 317.

Methylierung von Actinocinin: Eine Lösung von 50 mg *Actinocinin* in einer Mischung aus 8 ccm Chloroform und 2.5 ccm Methanol wurde mit 1 ccm *Methyljodid* und 150 mg Silberoxyd versetzt und solange (etwa 30 Min.) erhitzt, bis eine mit Chloroform verdünnte Probe der Reaktionslösung keinen Farbstoff mehr an wäbr. Alkali abgab. Die filtrierte Reaktionslösung wurde durch eine kleine Aluminiumoxydsäule (Akt.-Stufe II) filtriert, das Filtrat verdampft und der Rückstand aus Methanol/Wasser umkristallisiert. Gelbe Nadeln vom Schmp. 210–211° (die krist. erstarrte Schmelze schmolz, nochmals erhitzt, bei 227–228°).

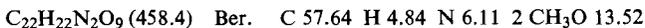


Gef.*) C 66.00 H 5.01 N 4.52 O 25.23 CH₃O 20.0

*) getrocknet bei 80° i. Hochvak.

Desamino-actinocinyl-threonin: 630 mg der aus dem Butanolextrakt des Actinomycin-Hydrolysates gewonnenen Fällung löste man in 30 ccm Chloroform/Methanol (1:1), gab 8 ccm *Methyljodid* und 600 mg Silberoxyd hinzu und schüttelte bei Raumtemperatur, bis nach etwa 6 Stdn. eine mit Benzol verdünnte Probe nur noch wenig Farbstoff an wäbr. Natriumhydrogencarbonat abgab. Die filtrierte Reaktionslösung hinterließ, auf dem Wasserbad verdampft, einen roten lackähnlichen Rückstand. Eine Lösung von 540 mg dieses Rückstandes in 200 ccm Benzol (1% Butanol enthaltend) gab man auf eine mit der gleichen Mischung ins Chromatogrammrohr eingeschlammte Säule von saurem Kieselgel (32 × 5 cm, Durchlaufgeschwindigkeit 12–15 Tropfen pro Min.). Durch Nachwaschen mit Benzol, das 2% Butanol enthielt, ließ sich die zunächst am oberen Säulenrand hängende rote Zone innerhalb 24 Stdn. in mehrere Haupt- und Nebenzonen auseinanderziehen.

Die in der Säule am weitesten oben liegende Hauptzone wurde herausgeschnitten und mit Chloroform/Methanol (9:1) eluiert. Beim Einengen des Eluates schied sich *Desamino-actinocinyl-threonin-dimethylester* in derben, roten Kristallen vom Schmp. 236–240° ab.



Gef.*) C 57.13 H 4.76 N 6.11 CH₃O 12.5

*) getrocknet i. Vak. (8 Stdn. bei 130°).

Acetyl-desamino-actinocinyl-threonin-dimethylester: Eine Lösung von 30 mg *Desamino-actinocinyl-threonin-dimethylester* in einer Mischung aus 5 ccm Pyridin und 5 ccm *Acetanhydrid* wurde 24 Stdn. bei Raumtemperatur aufbewahrt und dann i. Vak. zur Trockne verdampft. Den im Exsikkator über Kaliumhydroxyd und konz. Schwefelsäure getrockneten,

roten, krist. Rückstand löste man in 5 ccm Benzol (1.5% Butanol enthaltend) und gab die Lösung durch eine kleine Säule von saurem Kieselgel, wobei geringe Mengen von Nebenprodukten als braune Zone hängenblieben. Der Verdampfungsrückstand des Filtrates kristallisierte aus Chloroform in feinen, gelben Nadeln, die sich oberhalb 240° zersetzten. Ausb. 26 mg. Im Gegensatz zum Ausgangsmaterial zog das Acetylderivat nach dem Trocknen keine Feuchtigkeit an.

$C_{24}H_{24}N_2O_{10}$ (500.5) Ber. C 57.60 H 4.83 N 5.60 1 CH_3CO 8.62
Gef. C 57.28 H 4.97 N 5.55 CH_3CO 9.5*)

*) Desamino-actinocinyl-threonin-dimethylester gab bei der Acetylbestimmung einen Blindwert von 4.0 bis 4.5%, der abgezogen wurde.

Säureabbau von Desamino-actinocinyl-threonin-dimethylester: Eine Lösung von 30 mg Desamino-actinocinyl-threonin-dimethylester in 10 ccm 50-proz. Eisessig wurde 24 Stdn. lang gekocht. Papierchromatographisch ließen sich in der dunkelrot gewordenen Reaktionslösung geringe Mengen Threonin nachweisen. Nach Zugabe von 2 ccm konz. Salzsäure kochte man weitere 5 Stdn. Das dunkelbraune Hydrolysat zeigte nunmehr im Papierchromatogramm (Butanol/Eisessig) eine starke *Threonin*-Zone.

Die mit dem 4fachen Vol. Wasser verdünnte Reaktionslösung extrahierte man mit Chloroform, gab den Chloroformauszug durch eine kleine Säule von saurem Kieselgel und wusch mit Chloroform/Aceton (9:1) nach. Aus dem Filtrat erhielt man etwa 2 mg *Actinocinin*, das durch Zinn(II)-chlorid-Reaktion, IR-Spektrum und R_F -Wert identifiziert wurde.

HANS HERLOFF INHOFFEN, GERHARD QUINKERT, SIEGISMUND SCHÜTZ, GERHARD FRIEDRICH und EDITH TOBER

Studien in der Vitamin D-Reihe, XXV¹⁾

Abbau der Vitamine D₂ und D₃ zum 8-Methyl-*trans*-hydrindanol-(4)-on-(1)

Aus dem Institut für Organische Chemie der Technischen Hochschule Braunschweig
(Eingegangen am 17. Januar 1958)

Durch Mehrstufen-Abbau des Vitamins D₂ sowie durch 2-stufigen Abbau des Vitamins D₃ konnte das 8-Methyl-*trans*-hydrindanol-(4)-on-(1) gewonnen werden; die auf beiden Wegen erhaltenen Präparate waren identisch. SARETT-Oxydation lieferte das 8-Methyl-*trans*-hydrindandion-(1.4) und dessen Isomerisierung das *cis*-Dion.

Unsere partialsynthetischen Reaktionen haben in den letzten Jahren insgesamt das Ergebnis gezeigt, daß als Restproblem einer Totalsynthese der Vitamine D₂ und D₃ der Aufbau der sogenannten Abbaualkohole I und II (bzw. deren Ketone) übrig

¹⁾ XXIV. Mittell.: H. H. INHOFFEN, G. QUINKERT, H.-J. HESS und H. HIRSCHFELD, Chem. Ber. 90, 2544 [1957].