

CHEMISCHE BERICHTE

Fortsetzung der
BERICHTE DER DEUTSCHEN CHEMISCHEN
GESELLSCHAFT

99. Jahrg. Nr. 3

S. 717–1088

*Hans Brockmann, Helmut Lackner, Rolf Mecke, Gerhard Troemel und
Hans-Siegward Petras*

Actinomycine, XXVI¹⁾; Synthesen von Actinomycinen und actinomycin-
ähnlichen Chromopeptiden, I

Actinocinyl-bis-L-threonin

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen

(Eingegangen am 3. August 1965)

Die Synthese der Actinomycin-Abbauprodukte Actinocinyl-bis-L-threonin und Desamino-actinocinyl-bis-L-threonin wird beschrieben.

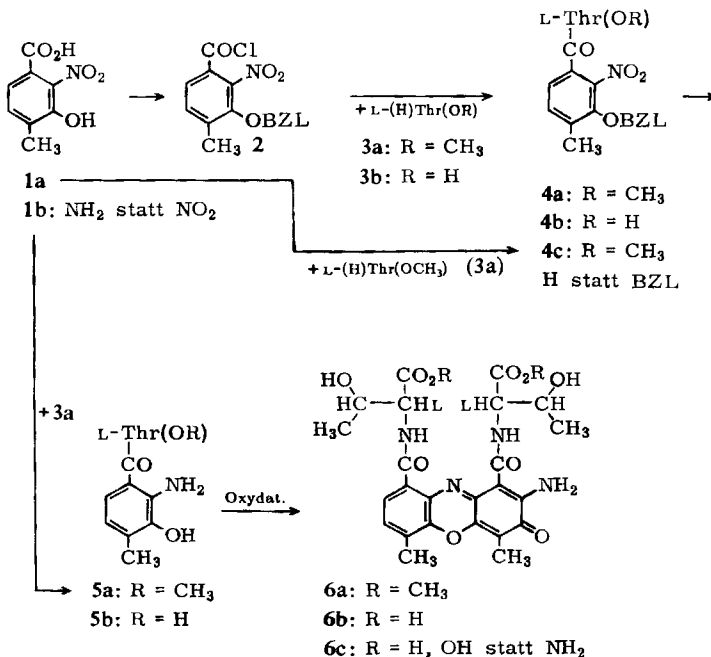
Bei Vorarbeiten zur Totalsynthese der Actinomycine, die bisher auf drei Wegen gelungen ist^{2,3)}, haben wir eine Reihe von Actinocinyl-aminosäuren und Actinocinyl-peptiden dargestellt; einige von ihnen als Synthese-Zwischenprodukte, andere, um sie mit Actinomycin-Abbauprodukten zu vergleichen und deren Konstitution zu beweisen. Mit zwei Arbeiten über diese Verbindungen beginnen wir eine Reihe von Mitteilungen über Actinomycin-Synthesen und berichten im folgenden über Actinocinyl-bis-L-threonin und einige seiner Derivate und in der nächsten Mitteilung über Actinocinyl-peptide.

Actinocinyl-bis-L-threonin (**6b**) und dessen Methylester **6a** sowie Desamino-actinocinyl-bis-L-threonin (**6c**) brauchten wir, um durch Vergleich mit ihnen Abbauprodukte von Actinomycin C₁, C₂ und C₃ als **6a**, **6b** und **6c** zu identifizieren^{4,5,6)} und

- 1) XXV. Mittel.: *H. Brockmann* und *J. H. Manegold*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **343**, 86 (1965).
- 2) *H. Brockmann* und *H. Lackner*, Naturwissenschaften **47**, 230 (1960); **48**, 555 (1961); **51**, 384, 407, 435 (1964).
- 3) *H. Brockmann* und *H. Lackner*, Tetrahedron Letters [London] **1964**, 3517, 3523.
- 4) *H. Brockmann* und *H.-S. Petras*, Naturwissenschaften **46**, 400 (1959).
- 5) *H. Brockmann*, *P. Boldt* und *H.-S. Petras*, Naturwissenschaften **47**, 62 (1960).
- 6) *H. Brockmann* und *P. Boldt*, Naturwissenschaften **46**, 262 (1959).

so zu beweisen, daß in allen drei Actinomycinen und damit auch in den Actinomycinen $X_{0\beta}$, $X_{0\delta}$ und X_2 ⁷⁾ die beiden Peptidlacton-Ringe über L-Threonin mit Actinocin, dem Chromophor der Actinomycine⁸⁾, verknüpft sind. Außerdem sollten von **4b** ausgehend verschiedene Actinocinyl-peptide als Zwischenprodukte von Actinocin-Synthesen aufgebaut werden.

An Actinocinyl-bis-aminosäuren war zu Beginn unserer Arbeit nur Actinocinyl-bis-glycin als Methylester bekannt. Durch dessen Darstellungsweise⁸⁾ war für die Synthese von Actinocinyl-bis-L-threonin (**6b**) und des Methylesters **6a** folgender Weg vorgezeichnet: 1. Benzilylierung von 2-Nitro-3-hydroxy-4-methyl-benzoesäure (**1a**) und anschließende Chlorierung zu **2**. 2. Kupplung von **2** mit Threonin (**3b**) bzw. dessen Methylester **3a** zu **4b** bzw. **4a**. 3. Katalytische Hydrierung von **4a** bzw. **4b** zu **5a** bzw. **5b**. 4. Oxydative Kondensation von zwei Moll. **5a** bzw. **5b** zu **6a** bzw. **6b**.



Um uns den ersten Syntheseschritt zu ersparen, haben wir anfangs statt **2** die 2-Nitro-3-hydroxy-4-methyl-benzoesäure (**1a**) selbst — unter Verwendung von Dicyclohexylcarbodiimid — mit L-Threonin-methylester (**3a**) gekuppelt. Zusammen mit vielen Nebenprodukten entstand dabei *N*-[2-Nitro-3-hydroxy-4-methyl-benzoyl]-L-threonin-methylester (**4c**) in 60-proz. Ausbeute. In gleicher Weise ließ sich die durch Reduktion von **1a** gewonnene luftempfindliche 2-Amino-3-hydroxy-4-methyl-benzoesäure (**1b**) mit **3a** zu **5a** verknüpfen, obwohl die Schwerlöslichkeit von **1b** Schwierigkeiten bereitete.

⁷⁾ Denn diese drei Actinomycine lassen sich in Actinomycin C_1 überführen, vgl. *H. Brockmann und J. H. Manegold*, Chem. Ber. **93**, 2971 (1960).

⁸⁾ *H. Brockmann und H. Muxfeldt*, Chem. Ber. **91**, 1242 (1958).

Wie sich später ergab, sind die Ausbeuten besser, wenn man **1a** zunächst in **2** überführt⁹⁾ und dieses dann mit L-Threonin-methylester (**3a**) bzw. L-Threonin (**3b**) kuppelt. Aus **2** und **3a** erhielten wir so zu 87% kristallisierten *N*-[2-Nitro-3-benzyloxy-4-methyl-benzoyl]-L-threonin-methylester (**4a**). In gleicher Ausbeute entstand die Säure **4b**, als **2** nach *Schotten-Baumann* in 0.5*n* wäßr. Alkali/Äther mit L-Threonin (**3b**) gekuppelt wurde. **4b** ist Ausgangsprodukt für verschiedene Actinomycin-Synthesen.

Für die vierte Synthesestufe, die Reduktion der Nitrobenzoyl-Derivate **4a**, **4b** und **4c** zu **5a** bzw. **5b** bewährte sich die Hydrierung in Methanol mit Palladium-A-Kohle. Da **5a** und **5b** luftempfindlich sind, wurden sie nicht isoliert, sondern sofort in der Reaktionslösung oxydativ kondensiert. Oxydation mit Luftsauerstoff in schwach alkalischer Lösung bewährte sich hier nicht so wie bei der Darstellung des Actinocinyl-bis-glycinmethylesters⁸⁾; aus **5a** entstand nur wenig **6a**. Mit 94-proz. Ausbeute dagegen gelang die Kondensation von **5a** zu Actinocinyl-bis-L-threoninmethylester (**6a**) mit Kaliumhexacyanoferrat(III) in wäßr. Methanol bei pH 7.2. **6a** kristallisierte in roten, bei 256–259° unter Zers. schmelzenden Nadeln mit $[\alpha]_D^{20}$: +131 ± 3° (Chlf.). **6a** aus dem Vorprodukt **4a** zeigte eine innerhalb der Fehlergrenze gleiche spezif. Drehung wie das aus **4c** gewonnene.

Für die Actinomycin-Synthesen war von Interesse, ob sich die Hydroxylgruppen von **6a** unter milden Bedingungen mit guter Ausbeute acylieren lassen. Das ist der Fall, denn Umsetzen von **6a** und von dessen Racemat mit Acetanhydrid/Pyridin bei Raumtemperatur gab in 80-proz. Ausb. das kristallisierte, rote Diacetat von **6a** mit Schmp. 199–200° sowie das bei 181–182° schmelzende Diacetat des racemischen **6a**.

Actinocinyl-bis-L-threonin (**6b**), rote, bei 249–251° schmelzende Nadeln mit $[\alpha]_D^{20}$: –35 ± 4° (Dimethylformamid) erhielten wir zu 86%, als **5b** unter den gleichen Bedingungen wie **5a** mit Kaliumhexacyanoferrat(III) oxydiert wurde. **6b**, das in den gebräuchlichen organischen Solvenzien viel schwerer löslich ist als sein Methylester **6a**, konnte in Dimethylformamid mit Methyljodid/Silberoxid fast quantitativ zum Dimethylester **6a** methyliert werden.

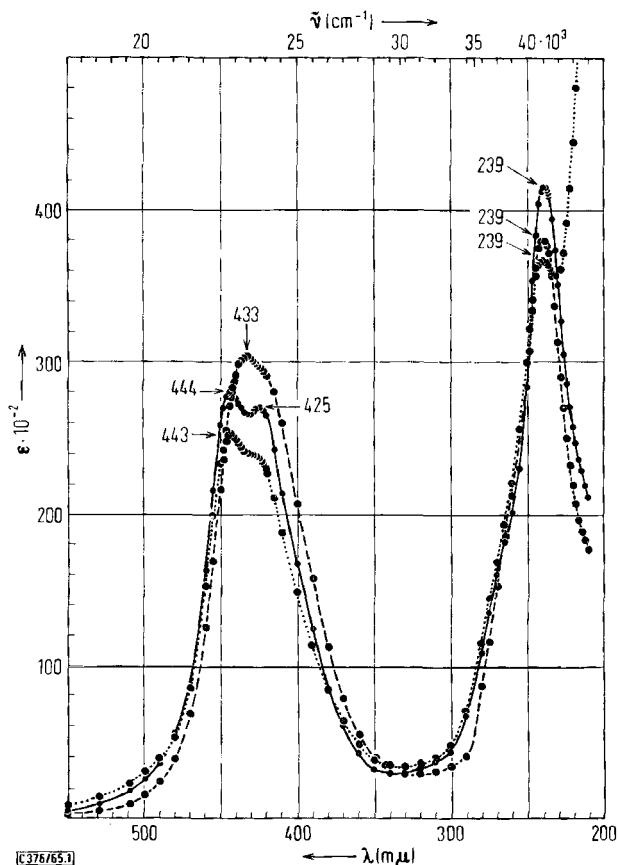
Für Arbeiten im präparativen Maßstab empfiehlt es sich nicht, **6a** durch Methylierung von **6b** darzustellen oder **6b** durch Verseifung von **6a**. Denn 1. ist die Bereitung von **6b** umständlicher als die von **6a**, 2. können bei zu langer Einwirkung des Silberoxides Verluste bei der Methylierung eintreten und 3. entstehen bei der Verseifung von **6a** schlecht abtrennbare Nebenprodukte, auch wenn es als Dihydroverbindung eingesetzt wird.

Desamino-actinocinyl-bis-L-threonin (**6c**) haben wir durch Desaminierung und Verseifung von Actinocinyl-bis-L-threoninmethylester (**6a**) gewonnen. Desaminiert wurde **6a** durch 4–5stdg. Kochen mit 50-proz. Essigsäure. Den entstandenen Desamino-actinocinyl-bis-L-threoninmethylester haben wir — da Phenoxazone gegen Alkali nicht beständig sind — zunächst durch katalytische Hydrierung zur stabileren Dihydroverbindung reduziert und diese unter Wasserstoff bei 40° mit *n* NaOH ver-

⁹⁾ Benzyliert wurde nach dem Verfahren von *W. G. Hanger, W. C. Howell* und *A. W. Johnson*, *J. chem. Soc. [London]* **1958**, 496, das einfacher ist als das früher von uns (vgl. Zitat⁸⁾) benutzte.

seift. Aus dem mit n HCl neutralisierten und mit Luft oxydierten, uneinheitlichen Reaktionsprodukt ließ sich **6c** durch Chromatographie an Cellulose im System Methylpropylketon/Butylacetat/Essigsäure-Ameisensäure-Puffer vom pH 2.0 abtrennen. Das zu 14% angefallene **6c** kristallisierte in mikroskopisch kleinen, gelbroten Nadeln mit Schmp. 214° und $[\alpha]_D^{20}$: $+103 \pm 5^\circ$ (Methanol).

Die Absorptionskurve von **6a** in Methanol (Abbild.) ist in ihrem Verlauf den Kurven der Actinomycine sehr ähnlich, lediglich die ϵ_{\max} -Werte sind höher und liegen zwischen denen von Actinomycin C_1 und Actinocinyl-bis-glycinmethylester⁸⁾. Das langwellige Maximum des aminosäurefreien Actinocin-dimethylesters hingegen ist um $10 \text{ m}\mu$ kürzerwellig.



Absorptionskurven von Actinomycin C_1 (●····●),
Actinocinyl-bis-L-threoninmethylester (**6a**) (●—●)
und Actinocin-dimethylester (●- - -●) in Methanol

6a stimmte in Analysenzahlen, R_F -Werten, Schmp., Misch-Schmp., im UV- und IR-Spektrum sowie in der spezif. Drehung mit dem kristallisierten Dimethylester

eines Abbauproduktes überein, das durch kombinierte Säure- und Alkalihydrolyse aus den Actinomycinen C₁⁵⁾, C₂⁵⁾ und C₃⁶⁾ gewonnen war. Das gleiche gilt für 6c und ein kristallisiertes Hydrolyseprodukt aus einem Actinomycin C-Gemisch⁴⁾.

Beschreibung der Versuche¹⁰⁾

N-[2-Nitro-3-hydroxy-4-methyl-benzoyl]-*L*-threonin-methylester (4c): Zu einer Lösung von 1.79 g *L*-Threonin-methylester-hydrochlorid und 1.45 ccm Triäthylamin in 30 ccm Methylenchlorid gab man 1.97 g 2-Nitro-3-hydroxy-4-methyl-benzoesäure (1a), kühlte auf 0°, versetzte mit einer Lösung von 2.16 g Dicyclohexylcarbodiimid in wenig Methylenchlorid, rührte 2 Stdn. bei 0° und dann 10 Stdn. bei 20°. Nach Abfiltrieren des *N,N'*-Dicyclohexyl-harnstoffs wurde das Filtrat mit 0.1 *n* HCl, *n*NaHCO₃ und Wasser gewaschen, das Lösungsmittel i. Vak. verdampft, der Rückstand in wenig Aceton aufgenommen und der beim Abkühlen auf 0° noch ausfallende *N,N'*-Dicyclohexyl-harnstoff wiederum abfiltriert. Die Lösung des roten Eindampfrückstandes in wenig Äthylacetat filtrierte man durch eine 3 × 20-cm-Säule aus saurem Kieselgel¹¹⁾ (mit Chloroform eingeschlämmt), wusch mit Äthylacetat nach, dampfte das Eluat i. Vak. ein und extrahierte das hinterbliebene rote Öl (ca. 3 g) unter Zusatz von etwas Aktivkohle zweimal mit 100 ccm kochendem Wasser, aus dem sich 4c beim Abkühlen in gelben Kristallen (1.7 g) abschied. Die Mutterlauge ergab weitere 0.2 g. Gesamtausb. 60%. Nach Umkristallisieren aus Benzol oder Chloroform/Cyclohexan und Trocknen bei 55° i. Hochvak. lag der Schmp. bei 84–87°. $[\alpha]_D^{20}$: $-82 \pm 2^\circ$ ($c = 0.6$, in Chlf.).

C₁₃H₁₆N₂O₇ (312.3) Ber. C 50.00 H 5.16 N 8.97 1 OCH₃ 9.9

Gef. *) C 50.27 H 5.09 N 9.18 OCH₃ 9.9

*) Getrocknet 6 Stdn. bei 55° i. Hochvak.

Actinocinyl-bis-L-threoninmethylester (6a) aus 4c¹²⁾: 100 mg 4c wurden, wie im übernächsten Abschnitt beschrieben, hydriert, oxydiert und aufgearbeitet.

6a kristallisierte aus Chloroform/Cyclohexan oder Methanol in roten Nadeln vom Schmp. 256–259° (Zers.). Ausb. 94%. $[\alpha]_D^{20}$: $+131 \pm 3^\circ$ ($c = 0.1$, in Chlf.).

C₂₆H₃₀N₄O₁₀ (558.5) Ber. C 55.91 H 5.41 N 10.03 2 OCH₃ 11.1

Gef. *) C 56.01 H 5.53 N 10.10 OCH₃ 11.1

*) Fein zerrieben und 4 Stdn. bei 100° i. Hochvak. getrocknet.

N-[2-Nitro-3-benzyloxy-4-methyl-benzoyl]-*L*-threonin-methylester (4a): Eine Lösung von 2.3 g 2-Nitro-3-benzyloxy-4-methyl-benzoesäure⁸⁾ in 10 ccm Thionylchlorid kochte man 10 Min. unter Rückfluß, entfernte das Thionylchlorid i. Vak. durch Abdampfen mit wasserfreiem Chloroform, hielt das Säurechlorid 2–30 Min. über festem Kaliumhydroxid i. Vak. und löste dann in wenig Chloroform. Nach langsamer Zugabe einer Lösung von 1.7 g *L*-Threonin-methylester-hydrochlorid und 2.7 ccm Triäthylamin in 25 ccm absol. Chloroform hielt man die Mischung 10 Stdn. bei 20°, wusch mit angesäuertem Wasser sowie *n*NaHCO₃ und dampfte i. Vak. ein. Der hinterbliebene Ester 4a kristallisierte aus Äthylacetat/Cyclohexan. Ausb. 87%. Nach nochmaligem Umkristallisieren aus Chloroform/Cyclohexan gelbliche Kristalle vom Schmp. 116–117°. $[\alpha]_D^{20}$: $-32 \pm 2^\circ$ ($c = 0.6$, in Chlf.).

C₂₀H₂₂N₂O₇ (402.4) Ber. C 59.69 H 5.51 N 6.96 1 OCH₃ 7.7

Gef. *) C 59.73 H 5.60 N 7.17 OCH₃ 8.1

*) Getrocknet 10 Stdn. bei 90° i. Hochvak.

¹⁰⁾ Schmp. auf dem Kofler-Block bestimmt und korrigiert.

¹¹⁾ Neutrales Kieselgel in 0.1 *n* HCl aufgeschlämmt, abgesaugt und bei 110° bis zur Fließfähigkeit getrocknet.

¹²⁾ G. Troemel, Diplomarbeit, Univ. Göttingen 1959. Da später B. Weinstein, O. P. Crews, M. A. Leafer, B. R. Baker und L. Goodman, J. org. Chemistry 27, 1389 (1962), für 6a $[\alpha]_D^{20}$: $+90^\circ$ (Chloroform) und ϵ_{445} : 20300 (Äthanol) angaben, haben wir unsere Werte^{5,6)} überprüft und bestätigt.

Actinocinyl-bis-L-threoninmethylester (6a): Eine Lösung von 0.5 g **4a** in 20 ccm Methanol wurde mit Palladium-A-Kohle aushydriert, filtriert und mit der gleichen Menge 0.07 *m* Phosphatpuffer vom pH 7.2 versetzt. Zur Mischung gab man portionsweise eine Lösung von 1.3 g *Kaliumhexacyanoferrat(III)* in 5 ccm 0.07 *m* Phosphatpuffer, hielt dabei den pH-Wert durch Zugabe von *n* NaOH stets auf 7.2 und rührte 10 Stdn. bei 20°. Nach Verdünnen mit der dreifachen Menge Wasser wurde erschöpfend mit Chloroform extrahiert, der Extrakt mit angesäuertem Wasser und *n* NaHCO₃ gewaschen, das Lösungsmittel i. Vak. verdampft und das hinterbliebene **6a** aus Chloroform/Cyclohexan kristallisiert. Ausb. 94%. Nach Umkristallisieren aus Chloroform/Cyclohexan rote, unter Zers. bei 253–259° schmelzende Nadeln. $[\alpha]_D^{20}$: +128 ± 3° (*c* = 0.1, in Chlf.).

C₂₆H₃₀N₄O₁₀ (558.5) Ber. C 55.91 H 5.41 N 10.03 2 OCH₃ 11.1
Gef. *) C 55.44 H 5.55 N 10.19 OCH₃ 11.0

*) Fein zerrieben und 10 Stdn. bei 100° i. Hochvak. getrocknet.

Actinocinyl-bis-DL-threoninmethylester: Diese Verbindung, rote, bei 255–268° unter Zers. schmelzende Kristalle, wurde so dargestellt wie **6a**.

C₂₆H₃₀N₄O₁₀ (558.5) Ber. C 55.91 H 5.41 N 10.03 Gef. *) C 55.82 H 5.47 N 9.95

*) Getrocknet 4 Stdn. i. Hochvak. bei 60°.

Actinocinyl-bis-DL-threoninmethylester-acetat: Zu einer Lösung von 50 mg *Actinocinyl-bis-DL-threoninmethylester* in 3 ccm Pyridin gab man 2 ccm *Acetanhydrid* und verdampfte nach 5 Stdn. i. Hochvak. zur Trockne. Das hinterbliebene *Acetat* kristallisiert aus heißem Chloroform/Methanol (1 : 2) in roten Nadeln vom Schmp. 182°. Ausb. 80%.

C₃₀H₃₄N₄O₁₂ (642.6) Ber. C 56.07 H 5.33 N 8.72 2 CH₃CO 13.4
Gef. *) C 55.87 H 5.30 N 8.65 CH₃CO 13.8

*) Getrocknet 5 Stdn. bei 90° i. Hochvak.

Der Schmp. des auf gleiche Weise hergestellten *Actinocinyl-bis-L-threoninmethylester-acetates* lag bei 199–200°.

Actinocinyl-bis-DL-threoninmethylester aus 2-Amino-3-hydroxy-4-methyl-benzoessäure (1b): Zur Lösung von 20 mg der aus **1a** durch Reduktion mit *Natriumdithionit*⁸⁾ gewonnenen *Säure 1b* in 20 ccm Acetonitril gab man 30 mg *DL-Threonin-methylester* und 25 mg *Dicyclohexylcarbodiimid*. Nach 12 Stdn. wurde der *N,N'*-Dicyclohexyl-harnstoff abfiltriert, das Lösungsmittel i. Vak. verdampft, der Rückstand in 20 ccm Methanol und 5 ccm 2-proz. wäßr. Ammoniumcarbonat aufgenommen und eine Lösung von 100 mg *Kaliumhexacyanoferrat(III)* in wenig Wasser hinzuge tropft. 1 Stde. später extrahierte man die mit viel Wasser verdünnte Reaktionsmischung mit Chloroform und chromatographierte den roten Eindampfrückstand an einer 1.5 × 15-cm-Cellulosesäule im System Butanol-Dibutyläther/10-proz. wäßr. Natrium-*m*-kresotinat, mit *m*-Kresotinsäure gesättigt, (2 : 3 : 5). Nach Zerschneiden der Säule wurde die schnellaufende Hauptzone mit Methanol/Chloroform eluiert, das Eluat nach Verdünnen mit viel Wasser mit angesäuertem Wasser sowie *n* NaHCO₃ gewaschen und der Eindampfrückstand aus Chloroform/Cyclohexan kristallisiert. Man erhielt *Actinocinyl-bis-DL-threoninmethylester* als rote Nadeln vom Schmp. 257–268° (Zers.). Ausb. 35%, bez. auf **1b**.

C₂₆H₃₀N₄O₁₀ (558.5) Ber. C 55.91 H 5.41 N 10.03 Gef. *) C 56.11 H 5.34 N 10.70

*) Getrocknet 8 Stdn. bei 100° i. Hochvak.

N-[2-Nitro-3-benzyloxy-4-methyl-benzoyl]-L-threonin (4b): 12 g *2-Nitro-3-benzyloxy-4-methyl-benzoessäure*⁸⁾ kochte man in 30 ccm *Thionylchlorid* 10 Min. unter Rückfluß, verdampfte das *Thionylchlorid* und entfernte Reste davon durch Abdampfen mit Benzol i. Vak. Die Lösung des kristallin gewordenen *Säurechlorides 2* in 60 ccm Benzol versetzte man mit der

gleichen Menge Äther und bei 0° mit einer Lösung von 4.8 g *L*-Threonin in 81 ccm 0.5 *n* NaOH, tropfte unter Rühren (Vibromischer) innerhalb 30 Min. weitere 40 ccm *n* NaOH ein und rührte noch 3 Stdn. bei 0°.

Nach Ansäuern der abgetrennten und mit Äthylacetat gewaschenen wäbr. Phase mit 2 *n* HCl wurde mit Äthylacetat extrahiert, der Extrakt mit Wasser gewaschen und das Lösungsmittel i. Vak. abgedampft. Der Rückstand ergab — aus Aceton-Benzol/Cyclohexan kristallisiert — **4b** als gelbliche, am Licht dunkelnde Kristalle vom Schmp. 173—175°. $[\alpha]_D^{20}$: $-58 \pm 2^\circ$ ($c = 1.6$, in absol. Äthanol). Ausb. 87%.

$C_{19}H_{20}N_2O_7$ (388.4) Ber. C 58.76 H 5.19 N 7.21

Gef.*) C 58.49 H 5.34 N 7.25 Äquiv.-Gew.***) 396 ± 8

*) Fein zerrieben und 6 Stdn. bei 120° i. Hochvak. getrocknet.

**) Bestimmt durch Titration mit 0.1*n* NaOH in Methanol/Wasser (1 : 1).

Actinocinyl-bis-L-threonin (**6b**): Eine Lösung von 3 g *N*-[2-Nitro-3-benzyloxy-4-methylbenzoyl]-*L*-threonin in 80 ccm Methanol wurde mit Palladium-A-Kohle aushydriert, filtriert, i. Vak. auf 40 ccm eingengt und mit der gleichen Menge 0.07 *m* Phosphatpuffer pH 7.2 versetzt. In die stets mit *n* NaOH wieder auf pH 7.2 eingestellte Mischung gab man portionsweise eine Lösung von 8 g Kaliumhexacyanoferrat(III) in 25 ccm Puffer, rührte 12 Stdn. bei 20° und verdampfte das Methanol i. Vak. Die rote, wäbr. Lösung wurde nach Verdünnen mit der dreifachen Menge Wasser und Zugabe von bei 50° gesätt. Natriumsulfatlösung erschöpfend mit Butanol extrahiert und der Butanolauszug nach Waschen mit angesäuertem Wasser i. Vak. eingengt. Das kristallin ausgefallene **6b**, nach Umkristallisieren aus Dimethylformamid/Wasser (1 : 1) rote Nadeln mit Schmp. 249—251° (Zers.) und $[\alpha]_D^{20}$: $-35 \pm 4^\circ$ ($c = 0.1$, in Dimethylformamid), ist in Methanol und Chloroform schwer löslich. Ausb. 86%.

$C_{24}H_{26}N_4O_{10}$ (530.5) Ber. C 54.34 H 4.94 N 10.56 Gef.*) C 54.15 H 5.22 N 10.61

*) Fein zerrieben und 10 Stdn. bei 90° i. Hochvak. getrocknet.

Methylierung von Actinocinyl-bis-L-threonin (**6b**): Eine Mischung von 50 mg **6b**, 5 ccm Dimethylformamid, 1 ccm Methyljodid, 50 mg zerriebenem Silberoxid und einigen Glasperlen wurde 20—25 Min. geschüttelt. Nach Filtrieren und Eindampfen der Lösung i. Vak. hinterblieb in fast quantitat. Ausb. ein rotes, kristallisierendes, papierchromatographisch fast reines Produkt, dessen R_F -Wert im System Butanol-Dibutyläther/10-proz. wäbr. Natrium-*m*-kresotinatlösung, mit *m*-Kresotinsäure gesättigt, (2 : 3 : 5) mit dem von **6a** übereinstimmte.

Desamino-actinocinyl-bis-L-threonin (**6c**): Zu einer auf 110° erwärmten Lösung von 1.5 g *Actinocinyl-bis-L-threoninmethylester* (**6a**) in 100 ccm Essigsäure gab man tropfenweise 100 ccm Wasser, kochte 4 Stdn. unter Rückfluß und verdampfte das Lösungsmittel i. Vak. Die Lösung des Rückstandes in 100 ccm Isopropylalkohol wurde mit Platinoxid aushydriert, unter Wasserstoff in eine Mischung aus 100 ccm Wasser und 22 ccm *n* NaOH filtriert und 4 Stdn. unter Wasserstoff auf 40° erwärmt. Nach Neutralisieren mit 2 *n* HCl leitete man 1 Stde. Luft durch die Lösung, verdampfte i. Vak. zur Trockne und chromatographierte den Rückstand im System Methylpropylketon/Butylacetat/Essigsäure-Ameisensäure-Puffer vom pH 2.0 (2 : 3 : 5) an einer 4.8 × 100-cm-Cellulosesäule. Die untere der beiden Hauptzonen enthielt *Actinocinyl-bis-L-threonin*, das durch R_F -Wert, Schmp. und Analysenzahlen charakterisiert wurde.

Das aus der oberen Hauptzone eluierte **6c** kristallisierte aus mit Dibutyläther gesättigtem Wasser in mikroskopisch kleinen roten Nadeln vom Schmp. 214°. Ausb. 14%. $[\alpha]_D^{20}$: $+103 \pm 5^\circ$ ($c = 0.12$, Methanol).

$C_{24}H_{25}N_3O_{11}$ (531.5) Ber. C 54.24 H 4.72 N 7.91 Gef.*) C 54.26 H 5.03 N 7.98

*) Getrocknet 5 Stdn. bei 110° i. Hochvak.