

164. Stoffwechselprodukte von Actinomyceten

18. Mitteilung¹⁾

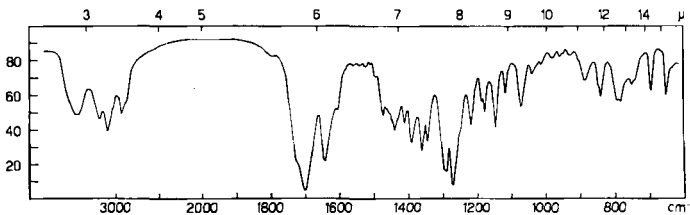
Actiphenol

von R. J. Hight und V. Prelog

(9. VI. 59)

Aus dem Kulturfiltrat eines Actidion (Cycloheximid) produzierenden Actinomyceten-Stammes, ETH. 7796²⁾, wurde vor einiger Zeit das Nonactin³⁾ erhalten. Bei einer Wiederholung der Isolierung von Nonactin aus den Kulturfiltraten des Stammes ETH. 7796 konnte ein weiteres, in Benzol schwer lösliches Stoffwechselprodukt dieses Mikroorganismus abgetrennt werden, das von uns wegen seiner phenolischen Eigenschaften *Actiphenol* benannt wurde.

Das optisch inaktive Actiphenol (IR.-Absorptionsspektrum in KBr Fig.) besitzt die Formel $C_{15}H_{17}O_4N$, es weist keine CH_2O - und keine $CH_3(N)$ -Gruppen nach ZEISEL auf. Nach KUHN-ROTH liessen sich darin 2 $CH_3(C)$ nachweisen.



Bei der Mikrohydrierung mit Palladium-Calciumcarbonat in Feinsprit wird kein Wasserstoff aufgenommen. Durch saure Hydrolyse liefert das Actiphenol unter Abspaltung von Ammoniak eine stickstoff-freie Dicarbonsäure $C_{15}H_{18}O_6$. Diese besitzt zwei pK_{MCS}^* -Werte⁴⁾: 6,41 und 7,88; unter gleichen Bedingungen wurde für die Glutarsäure pK_{MCS}^* 6,53 und 7,79, und für die β -Methylglutarsäure pK_{MCS}^* 6,44 und 7,93 gefunden. Das Actiphenol selbst löst sich in verd. Natronlauge, nicht dagegen in Natriumhydrogencarbonat-Lösung und zeigt mit Eisen(III)-chlorid eine grüne Farbreaktion. Das UV.-Absorptionsspektrum mit λ_{max} 215, 264 und 354 μ in Feinsprit und λ_{max} 229, 300 und 375 μ in 0,1-n. Natronlauge weist auf eine Teilstruktur hin, in der ein Phenol-Rest mit einer Carbonyl-Gruppe konjugiert ist. Nach

¹⁾ 17. Mitt.: Helv. **42**, 563 (1959).

²⁾ Herr Dr. R. HÜTTER vom Institut für spezielle Botanik der ETH teilt uns mit, dass der Stamm ETH. 7796, welcher das Nonactin und das Actiphenol produziert, ebenso wie die meisten anderen Actidion-Produzenten, entgegen der früheren Vermutungen³⁾, doch in die Art *Streptomyces griseus* (KRAINSKY) WAKSMAN *et* HENRICI zu stellen sind.

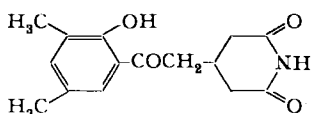
³⁾ R. CORBAZ, L. ETTLINGER, E. GÄUMANN, W. KELLER-SCHIERLEIN, F. KRADOLFER, L. NEIPP, V. PRELOG & H. ZÄHNER, Helv. **38**, 1445 (1955).

⁴⁾ Methodik nach W. SIMON, E. KOVÁTS, L. H. CHOPARD-DIT-JEAN & E. HEILBRONNER, Helv. **37**, 1872 (1954). Wir verdanken die pK_{MCS}^* -Werte Hrn. Dr. W. SIMON.

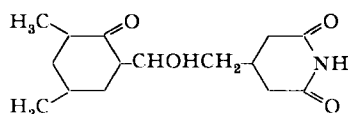
Reduktion mit Lithiumborhydrid erhält man λ_{\max} 284 $m\mu$ in Feinsprit und λ_{\max} 305 $m\mu$ in 0,1-n. Natronlauge, entsprechend einem nichtkonjugierten Phenol-Rest.

Alle diese Ergebnisse führten zur Annahme, dass es sich bei Actiphenol wahrscheinlich um das Phenol-Derivat I mit dem Kohlenstoff-Stickstoff-Gerüst des Actidions (III) handelt. Diese Annahme konnte durch die experimentelle Verknüpfung der beiden Verbindungen gestützt werden. Das Actidion liess sich durch Behandlung mit N-Bromsuccinimid, wenn auch mit schlechter Ausbeute, in das Actiphenol überführen. Das partialsynthetische Produkt wurde sowohl durch Misch-Smp. und IR.-Absorptionsspektrum als auch durch die Hydrolyse zur Dicarbonsäure II mit dem natürlichen Actiphenol identifiziert.

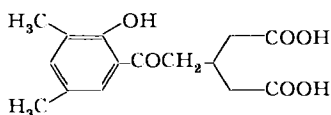
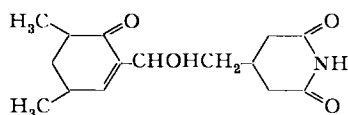
In der letzten Zeit wurden mehrere Verbindungen beschrieben, welche das Kohlenstoff-Stickstoff-Gerüst des Actidions aufweisen wie z. B. das *Inacton* (IV)⁵⁾, die *Verbindung E 73* (V)⁶⁾ und die *Streptovitacine A, B, C₂* (VI) und D⁷⁾. Die fünf letzterwähnten Verbindungen sollen bemerkenswerte tumorhemmende Eigenschaften besitzen.



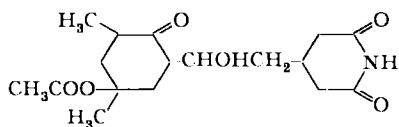
I Actiphenol



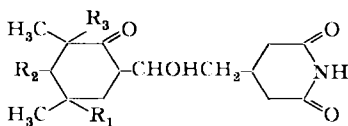
III Actidion

II Dicarbonsäure C₁₅H₁₈O₆

IV Inacton



V E 73



VI Streptovitacine

A $R_1 = \text{OH}$; $R_2 = R_3 = \text{H}$

B $R_2 = \text{OH}$; $R_1 = R_3 = \text{H}$

C₂ $R_3 = \text{OH}$; $R_1 = R_2 = \text{H}$

Gleichzeitig mit der Verbindung E 73 wurde in einem Vortrag die *Verbindung C 73* erwähnt⁶⁾, deren Eigenschaften, soweit angegeben, vermuten lassen, dass es sich um eine mit dem Actiphenol identische Verbindung handeln könnte.

R. J. H. dankt der *American Cancer Society* für ein Stipendium, das ihm den Aufenthalt in Zürich ermöglichte.

⁵⁾ R. PAUL & S. TCHELITCHEFF, Bull. Soc. chim. France **1955**, 1316; s. auch Referatenband XIV. Intern. Kongress für reine und angew. Chemie, Zürich 1955, S. 196.

⁶⁾ K. V. RAO, W. P. CULLEN & J. L. SMITH, Abstracts of Papers, 134th Meeting Amer. chem. Soc., Chicago, September 1958, 22-0, 23-0.

⁷⁾ R. R. HERR, Antibiotics Annual **1958/59**, 560; J. Amer. chem. Soc. **81**, 2595 (1959).

Experimenteller Teil⁸⁾

Isolierung von Actiphenol. 40 g roher Extrakt aus dem Kulturfiltrat des Stammes ETH. 7796 wurden in Methanol gelöst und über Nacht im Kühlschrank stehengelassen, wobei 9,1 g rohes Nonactin ausfielen, das in einem weiten Intervall schmolz. Beim Auflösen in Benzol blieben 0,35 g des in farblosen Nadeln kristallisierenden Actiphenols ungelöst. Die Verbindung ist löslich in 0,1-n. Natronlauge und unlöslich in gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung. Zur Analyse wurde aus Alkohol umkristallisiert, Smp. 199–200°, $[\alpha]_D = \pm 0^\circ$ ($c = 1,89$, Tetrahydrofuran).

$C_{15}H_{17}O_4N$	Ber. C 65,44	H 6,22	O 23,25	N 5,09	1 $CH_3(C)$	5,46	akt. H 0,36%
	Gef. „ 65,27	„ 6,07	„ 23,49	„ 5,07	„	10,93	„ 0,87%

UV.-Absorptionsspektrum in Feinsprit: λ_{max} (log ϵ) 215 (4,36), 264 (4,11), 354 (3,65) $m\mu$; in 0,1-n. Natronlauge λ_{max} (log ϵ) 229 (4,10), 300 (3,44), 375 (3,33) $m\mu$. IR.-Absorptionsspektrum in KBr s. Fig.

CH_3O - und $CH_3(N)$ -Gruppenbestimmung nach ZEISEL: negativ. Eisen(III)-chlorid: dunkelgrüne Färbung.

Mikrohydrierung: 4,1 mg Substanz nahmen mit 4 mg 5-proz. Palladium-Calciumcarbonat-Katalysator in Feinsprit während 3 Std. keinen Wasserstoff auf und das Ausgangsmaterial konnte regeneriert werden.

Reduktion mit Lithiumborhydrid. 12 mg Actiophenol wurden in 3 ml trock. Tetrahydrofuran 6 Std. mit 1,5 mg Lithiumborhydrid unter Rückfluss gekocht. Das Reaktionsgemisch wurde mit 5 ml n. Salzsäure versetzt und mit Chloroform extrahiert. Aus den Chloroform-Auszügen erhielt man nach Eindampfen im Vakuum und Umlösen aus Äthylacetat Kristalle vom Smp. 166–168°, welche noch Spuren eines höher schmelzenden Materials enthielten: λ_{max} (log ϵ) in Feinsprit: 284 $m\mu$ (3,40); λ_{max} (log ϵ) in 0,1-n. Natronlauge 305 $m\mu$ (3,85).

Dicarbonsäure $C_{15}H_{18}O_6$ (II). 20 mg Actiphenol wurden im Einschmelzrohr 18 Std. mit 2 ml 6-n. Salzsäure auf 110° erhitzt. Die Säure, die aus dem Hydrolysenprodukt durch Extraktion mit Äther erhalten wurde, schmolz nach Umlösen aus Benzol bei 125,5–126,5°, pK_{MCS}^* 6,41 und 7,88.

$C_{15}H_{18}O_6$	Ber. C 61,21	H 6,16%	Gef. C 61,00	H 6,30%
-------------------	--------------	---------	--------------	---------

Überführung von Actidion (III) in Actiphenol (I). 4 g Actidion⁹⁾ und 6,1 g N-Bromsuccinimid wurden in trockenem Tetrachlorkohlenstoff 7 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach der Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum löste man den Rückstand in Alkohol und verdünnte mit Chloroform. Die mit Wasser gewaschene Lösung lieferte nach Eindampfen im Vakuum 3,9 g eines dunklen Rückstandes. 0,975 g davon wurden mit heissem Benzol ausgezogen, wobei 0,364 g ungelöst blieben. Die benzolische Lösung chromatographierte man an 27 g Fluorisil. Zur Eluierung wurden dem Benzol steigende Mengen Äthylacetat zugegeben. Die ersten Eluate lieferten 75 mg eines halogenhaltigen Harzes. Nach einer Zwischenfraktion von 59 mg wurden 40 mg einer kristallinen Verbindung eluiert, welche nach Umlösen aus Aceton oder Methanol bei 200–201° schmolz und mit Actiphenol keine Smp.-Erniedrigung gab. Das IR.-Absorptionsspektrum war mit demjenigen des Actiphenols praktisch identisch.

$C_{15}H_{17}O_4N$	Ber. C 65,44	H 6,22%	Gef. C 65,55	H 6,20%
--------------------	--------------	---------	--------------	---------

5,4 mg des teilsynthetischen Präparates wurden mit 1 ml 6-n. Salzsäure im Einschmelzrohr über Nacht auf 110° erhitzt. Nach dem Eindampfen der Reaktionsmischung im Vakuum wurde aus Benzol umgelöst, wodurch man eine Verbindung vom Smp. 128–128,5° erhielt, welche mit der authentischen Dicarbonsäure II keine Smp.-Erniedrigung zeigte.

$C_{15}H_{18}O_6$	Ber. C 61,21	H 6,16%	Gef. C 61,33	H 6,44%
-------------------	--------------	---------	--------------	---------

Die Mikroanalysen wurden in unserem mikroanalytischen Laboratorium (Leitung W. MANSER) und von J. F. ALICINO, Metuchen, N. J., ausgeführt.

⁸⁾ Alle Smp. sind korrigiert.

⁹⁾ Das verwendete Actidion schmolz bei 112,5–113,5°. In seinem IR.-Absorptionsspektrum war die für Actiphenol typische Bande bei 1645 cm^{-1} abwesend.

Zusammenfassung

Aus den Kulturfiltraten des Streptomyceten-Stammes ETH. 7796 wurde als Nebenprodukt von Nonactin ein neues Stoffwechselprodukt, das *Actiphenol* $C_{15}H_{17}O_4N$ isoliert, für welches auf Grund von physikalischen und chemischen Eigenschaften sowie der Partialsynthese aus Actidion (III) die Formel I vorge schlagen wird.

Organisch-chemisches Laboratorium
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich

165. Der Färbemechanismus neutralziehender Metallkomplexfarbstoffe: II. Der Lösungsmechanismus

3. Mitteilung über textilchemische Untersuchungen¹⁾

von **G. Back** und **Hch. Zollinger**

(4. VI. 59)

1. Graphische Ermittlung des Lösungsmechanismus

In der 1. Mitteilung²⁾ dieser Reihe wurde gezeigt, dass der Färbemechanismus der neutralziehenden Metallkomplexfarbstoffe vor allem durch eine stöchiometrische Beziehung zwischen Farbstoffanionen und Aminogruppengehalt der Polyamidfasern bestimmt wird, die dem sogenannten Salzbindungsmechanismus beim Färben mit Säurefarbstoffen entspricht. Ausserdem ist diesem Vorgang aber ein weiterer überlagert, den wir als Lösungsmechanismus bezeichnet haben.

Unsere Resultate sind kürzlich von GILES & MACEWAN³⁾ auf ganz anderer experimenteller Grundlage (Messungen an monomolekularen Schichten) bestätigt worden.

In der vorliegenden Mitteilung besprechen wir eine Reihe von Untersuchungen, die über den Charakter des Lösungsmechanismus Aufschluss geben. Der Anteil des Lösungsvorganges lässt sich rechnerisch oder graphisch aus der experimentell ermittelten Adsorptionsisotherme bestimmen. Wir haben dazu das bereits in der 1. Mitteilung²⁾ beschriebene Färbgleichgewicht des 1:2-Chromkomplexes aus diazotiertem 2-Aminophenol-4-methylsulfamid und 8-Acetylamino-2-naphtol («Farbstoff I») zwischen einem Phosphatpuffer («Puffer A») ($pH_{90^\circ} = 7,03^4)$) und Nylon 66 verwendet. Beim Eintragen der nach der LANGMUIR-Gleichung für den Salzbindungsmechanismus berechneten Adsorptionsisotherme im Diagramm entspricht die Differenz zwischen experimenteller und theoretischer Isotherme dem Anteil des Lösungsmechanismus unter den gewählten Bedingungen (vgl. Fig. 1a). Dabei wird vorausgesetzt, dass beide Färbemechanismen voneinander unabhängig sind und

¹⁾ 2. Mitt.: G. BACK & HCH. ZOLLINGER, *Chimia* **13**, 100 (1959).

²⁾ G. BACK & HCH. ZOLLINGER, *Helv.* **41**, 2242 (1958).

³⁾ C. H. GILES & T. H. MACEWAN, *J. chem. Soc.* **1959**, 1791.

⁴⁾ Sämtliche pH-Angaben beziehen sich im folgenden auf 90°, falls nicht anders angegeben. Zur Bestimmung vgl. ²⁾.