

187. Stoffwechselprodukte von Actinomyceten

19. Mitteilung¹⁾

N-Acetyl-tyramin

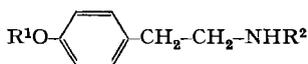
von J. Comin und W. Keller-Schierlein

(27. VI. 59)

Aus den Mutterlaugen des Antibioticums Holomycin²⁾, eines Stoffwechselproduktes von *Streptomyces griseus* (KRAINSKI) WAKSMAN *et* HENRICI, Stamm ETH. 17474, haben wir eine farblose neutrale, optisch inaktive, kristalline Verbindung C₁₀H₁₃O₂N isoliert, die sich bei der weiteren Untersuchung als *N*-Acetyltyramin (II) erwies.

Das UV.-Absorptionsspektrum in Feinsprit weist auf ein substituiertes Benzolderivat hin. Der phenolische Charakter der Substanz geht aus der violetten Farb-reaktion mit wässrigem Ferrichlorid hervor. Da die LIEBERMANN-Reaktion negativ ausfiel, wurde ein Substituent in p-Stellung zum phenolischen Hydroxyl vermutet.

Im 6 μ -Gebiet des IR.-Absorptionsspektrums ist eine starke Bande bei 1637 cm⁻¹ vorhanden, die für eine Säureamid-Gruppierung charakteristisch ist. Bei der energischen sauren Hydrolyse wurde unter Abspaltung von Essigsäure eine kristalline Base C₈H₁₁ON erhalten, die durch Misch-Smp. und IR.-Absorptionsspektrum mit Tyramin (I)³⁾ identifiziert werden konnte. Die Acetylierung der Verbindung lieferte ein Acetyl-Derivat, das mit dem bekannten N,O-Diacetyltyramin (III)⁴⁾ völlig übereinstimmte.



- I R¹ = R² = H
 II R¹ = H, R² = CH₃CO
 III R¹ = R² = CH₃CO

Das N-Acetyltyramin konnte in Anlehnung an die Arbeiten von BARGER & WALPOLE⁵⁾ synthetisch hergestellt werden. Diese erhielten durch Kochen von diazotiertem 1-p-Aminophenyl-2-acetylamino-äthan mit 30-proz. Schwefelsäure unter gleichzeitiger hydrolytischer Abspaltung von Essigsäure das Tyramin. Die gleiche Reaktion gibt unter milderen Bedingungen in einer Ausbeute von 57% das N-Acetyltyramin, das in allen Eigenschaften mit der aus *Streptomyces griseus* gewonnenen Verbindung übereinstimmte.

Das als Ausgangsprodukt benötigte 1-p-Aminophenyl-2-acetylamino-äthan ist bisher aus der entsprechenden Nitroverbindung mittels Aluminiumamalgam herge-

¹⁾ 18. Mitt. Helv. **42**, 1523 (1959).

²⁾ L. ETLINGER, E. GÄUMANN, R. HÜTTER, W. KELLER-SCHIERLEIN, F. KRADOLFER, L. NEIPP, V. PRELOG & H. ZÄHNER, Helv. **42**, 563 (1959).

³⁾ M. GUGGENHEIM, Die biogenen Amine, 3. Aufl., S. Karger, Basel, 1940, S. 423, 512.

⁴⁾ M. CLOETTA & F. WÜNSCHE, Arch. exp. Pathol. Pharmacol. **96**, 307 (1923); C. **1923**, III, 87.

⁵⁾ G. BARGER & G. S. WALPOLE, J. chem. Soc. **95**, 1720 (1909).

⁶⁾ T. B. JOHNSON & H. H. GUEST, Amer. chem. J. **43**, 310 (1909); Chem. Abstr. **4**, 1616 (1910).

stellt worden und nur als dickes Öl beschrieben⁶⁾. Wir haben die Reduktion der Nitrogruppe durch katalytische Hydrierung durchgeführt und das Amin leicht in kristalliner Form gewinnen können (vgl. den exper. Teil).

Das N-Acetyltyramin ist u. W. erst vor kurzem aus Kulturen von *Mycobacterium tuberculosis* zum ersten Male isoliert und durch partielle Hydrolyse aus dem O,N-Diacetyl-Derivat hergestellt worden⁷⁾.

Der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel, danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit. Der eine von uns (J. C.) dankt dem *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas* von Argentinien für ein Stipendium.

Experimenteller Teil⁸⁾

Isolierung und Charakterisierung von N-Acetyltyramin. Die Mutterlaugen der Kristallisation von Holomycin aus Methanol-Äthylacetat wurden mit Aktivkohle kurz zum Sieden erhitzt, nach halbstündigem Stehen durch Celit filtriert und das braune Filtrat auf ein kleines Volumen eingengt. Beim Stehen kristallisierte das rohe N-Acetyltyramin in bräunlichen Kristallen aus. Nach weiteren Umkristallisationen aus Äthylacetat wurden farblose Nadelchen erhalten, die bei 135° schmolzen (nach Sintern bei ca. 128°). Die erhaltenen Mengen betragen ca. 1/4 bis 1/3 derjenigen des Holomycins. Zur Analyse wurde ein dreimal umkristallisiertes Präparat im Hochvakuum bei 120° sublimiert. Der Smp. blieb dabei unverändert.

$C_{10}H_{13}O_2N$	Ber. C 67,02	H 7,31	N 7,82	O 17,86	1 $CH_3-(C)$ 8,39	1 CH_3-CO 24,00%
	Gef. „ 66,97	„ 7,08	„ 7,88	„ 18,18	„ 8,38	„ 19,10%

UV.-Absorptionsspektrum in Feinsprit: λ_{max} in $m\mu$ ($\log \epsilon$) 225 (3,94), 279 (3,25), 285 (3,17, Schulter). IR.-Absorptionsspektrum in KBr: $\nu(CO)$ -Bande bei 1637 cm^{-1} . Eine 0,5-proz. Lösung in Feinsprit war optisch inaktiv. Mit 1-proz. wässriger $FeCl_3$ -Lösung trat eine violette Färbung auf. Die Farbreaktion mit dem MILLON'schen Reagens war purpurrot. Die LIEBERMANN-Reaktion war negativ.

Acetylierung. 104 mg N-Acetyltyramin wurden zusammen mit 2 ml Essigsäureanhydrid und 2 ml Pyridin 18 Std. bei 20° stehengelassen. Darauf wurde das überschüssige Reagens im Vakuum abgetrieben und der Rückstand viermal aus Benzol-Petroläther umkristallisiert. Farblose glänzende Nadelchen, Smp. 104–104,5°⁴⁾. Zur Analyse wurde 20 Std. bei 60° im Hochvakuum getrocknet.

$C_{12}H_{15}O_3N$	Ber. C 65,17	H 6,83	N 6,33	2 CH_3-CO 38,9%
	Gef. „ 65,03	„ 6,90	„ 6,30	„ 37,8%

UV.-Absorptionsspektrum in Feinsprit: λ_{max} in $m\mu$ ($\log \epsilon$) 217 (3,90 S), 258 (2,46 S), 262 (2,55 S), 265 (2,58), 271 (2,51). (S = Schulter). – Das IR.-Absorptionsspektrum in KBr besitzt u. a. Banden bei 1760 (s), 1645 (s) und 1235 (s) cm^{-1} .

Tyramin. 300 mg N-Acetyltyramin wurden mit 3 ml konz. Salzsäure und 3 ml Wasser in ein Rohr eingeschmolzen und 17 Std. auf 110° erhitzt. Die klare Reaktionslösung wurde im Vakuum eingengt und der Rückstand in 50 ml 1-n. Natriumcarbonatlösung aufgenommen. Durch kontinuierliche Extraktion mit Äther und Eindampfen des Extraktes wurde das rohe Tyramin erhalten, das nach Umkristallisieren aus 2 ml Alkohol bei 157–158° schmolz. Zur weiteren Reinigung wurde das Produkt im Hochvakuum bei 120° sublimiert, noch zweimal aus Alkohol umkristallisiert und 20 Std. bei 60° im Hochvakuum getrocknet; Smp. 159–160°, keine Depression im Gemisch mit käuflichem Tyramin. Das IR.-Absorptionsspektrum stimmte mit dem eines authentischen Präparates überein.

$C_8H_{11}ON$	Ber. C 70,04	H 8,08	N 10,22%	Gef. C 70,17	H 7,97	N 10,30%
---------------	--------------	--------	----------	--------------	--------	----------

⁷⁾ Y. SHIRAI, Kekkaku (Tuberculosis) **30**, 628 (1955); Chem. Abstr. **50**, 5839 (1956).

⁸⁾ Die Smp. wurden unter dem Mikroskop bestimmt und sind korrigiert. Die UV.-Absorptionsspektren wurden mit einem BECKMAN-Spectrophotometer Mod. DK 1, die IR.-Absorptionsspektren mit einem PERKIN-ELMER-Zweistrahls-Spectrophotometer, Mod. 21, gemessen.

Das Hydrolyseprodukt gab mit Essigsäureanhydrid und Pyridin bei 20° ein kristallines Diacetat (Smp. 104°), das mit authentischem Diacetyltyramin keine Smp.-Erniedrigung zeigte⁴⁾.

Herstellung von N-Acetyl-tyramin. — 1-*p*-Aminophenyl-2-acetylamino-äthan. 5 g *p*-Nitro-N-acetyl- β -phenethylamin⁶⁾ wurden in 50 ml Feinsprit gelöst und mit 150 mg PtO₂ (ADAMS) bei 20° in einer Wasserstoffatmosphäre geschüttelt. Die Wasserstoffaufnahme war nach 5 Std. beendet. Der Katalysator wurde abfiltriert und das Filtrat zur Trockene verdampft. Der kristalline Rückstand (4,3 g, Smp. 82–84°) wurde ohne Reinigung für die weitere Synthese verwendet.

Für die Analyse wurde eine Probe des schwach gelblichen Produktes in verd. Salzsäure gelöst, mit etwas Aktivkohle versetzt und durch Celit filtriert. Das Filtrat wurde mit Natriumhydroxyd alkalisiert, mit Chloroform extrahiert und der Eindampfrückstand zweimal aus Äthylacetat umkristallisiert. Es wurden farblose Stäbchen mit Smp. 89° erhalten. Zur Analyse wurde bei 35° im Hochvakuum getrocknet.

C₁₀H₁₄ON₂ Ber. C 67,38 H 7,92 N 15,83% Gef. C 67,36 H 7,85 N 15,59%

N-Acetyltyramin. 3 g des rohen Hydrierungsproduktes wurden in 50 ml 10-proz. Schwefelsäure gelöst und bei 0° tropfenweise mit 1,15 g Natriumnitrit in 3 ml Wasser versetzt. Nach 1/2 Std. Stehen bei 20° wurde eine kleine Menge Harnstoff zugefügt und auf 70–75° erwärmt. Nach 90 Min. war die Stickstoffentwicklung beendet. Nach dem Erkalten kristallisierte das N-Acetyltyramin aus. Das getrocknete Kristallinat wog 1,70 g (57%); Smp. 130–132°. Das Analysenpräparat wurde dreimal aus Äthylacetat umkristallisiert und im Hochvakuum bei 120° sublimiert. Smp. 134–135°. Das Präparat war nach Misch-Smp. und IR.-Absorptionsspektrum identisch mit dem aus *Streptomyces griseus* gewonnenen.

C₁₀H₁₃O₂N Ber. C 67,02 H 7,31 N 7,82% Gef. C 67,00 H 7,29 N 7,86%

Die Mikroanalysen wurden in unserem mikroanalytischen Laboratorium (Leitung W. MANSER) ausgeführt.

Zusammenfassung

Aus den Kulturen eines Holomycin produzierenden Stammes von *Streptomyces griseus* wurde eine antibiotisch unwirksame, farblose kristalline Substanz isoliert, die durch Abbau und Synthese mit N-Acetyltyramin identifiziert werden konnte.

Organisch-chemisches Laboratorium
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich