

TOTALSYNTHESE VON ACTINOMYCIN C₂

Hans Brockmann und Helmut Lackner

Organisch-Chemisches Institut der Universität Göttingen

(Received 1 October 1964)

Auf einem kürzlich beschriebenen, dritten Syntheseweg ¹⁾ für Actinomycine erhielten wir durch Lactonisierung von IIIb zu IVa, Reduktion von IVa zu VI und oxydative Kondensation von zwei Moll. VI kristallisiertes Actinomycin C₁ (VIIIa). Diese Synthese beweist, daß Actinomycin C₁ zwei Peptidlactonringe enthält; vorausgesetzt, das aus IIIb gewonnene Lactonisierungsprodukt ist - in Einklang mit der osmometrisch ermittelten Mol.-Gew.-Zahl - das Penta-peptidlacton IVa und nicht ein aus 2 Moll. IIIb entstandenes Dekapeptidlacton. Daß diese Voraussetzung erfüllt ist, hat die Synthese des Actinomycins C₂ (VIII) aus den beiden Peptidlactonen V (s. unten) und VI ¹⁾ bewiesen.

Katalytische Hydrierung äquimolarer Mengen von IV und IVa, Oxydation des entstandenen V, VI-Gemisches mit Kalium-hexacyanoferrat-(III) und Chromatographie des Reaktionsproduktes an Cellulose (Butanol/Dibutyläther/10 proz. wäßr. Lösung von Natrium-m-kresotinat, mit m-Kresotinsäure gesättigt, 1 : 4 : 5) lieferte kristallisiertes Actinomycin C₁ (VIIIa) und Actinomycin C₃ (VIIa) in gleichen Mengen und in doppelt so großer Ausbeute eine gelbrote, kristallisierte Fraktion vom Schmp. 244-246°. Diese stimmt in spezif. Drehung ($[\alpha]_D^{21}$: - 325° ± 10°; c = 0.23, Methanol), Analysenzahlen, Molekulargewicht (Ber. 1269.5, gef. 1267 ± 3% - Osmometer), NMR-Spektrum, R_F-Werten, Absorptionsspektrum

(λ_{\max} : 445 m μ , ϵ = 25400, Methanol) und bakteriostatischer Wirksamkeit (Wachstumshemmung von *Bac. subtilis* bis zur Verdünnung $1 : 6.4 \times 10^6$) mit Actinomycin C₂ (VIII)²⁾ überein.

Ferner isolierten wir aus einer Chromatogrammzone mit dem R_F-Wert von Actinomycin C_{2a}³⁾ ein das Wachstum von *Bac. subtilis* bis zur Verdünnung $1 : 11.8 \times 10^6$ hemmendes Actinomycin, dessen Ausbeute etwa hundertmal kleiner war als die der vorstehenden, dem Actinomycin C₂ gleichenden Fraktion. Das Mengenverhältnis beider entsprach somit etwa dem der Actinomyce C₂ und C_{2a} in nativen Actinomycin C-Gemischen.

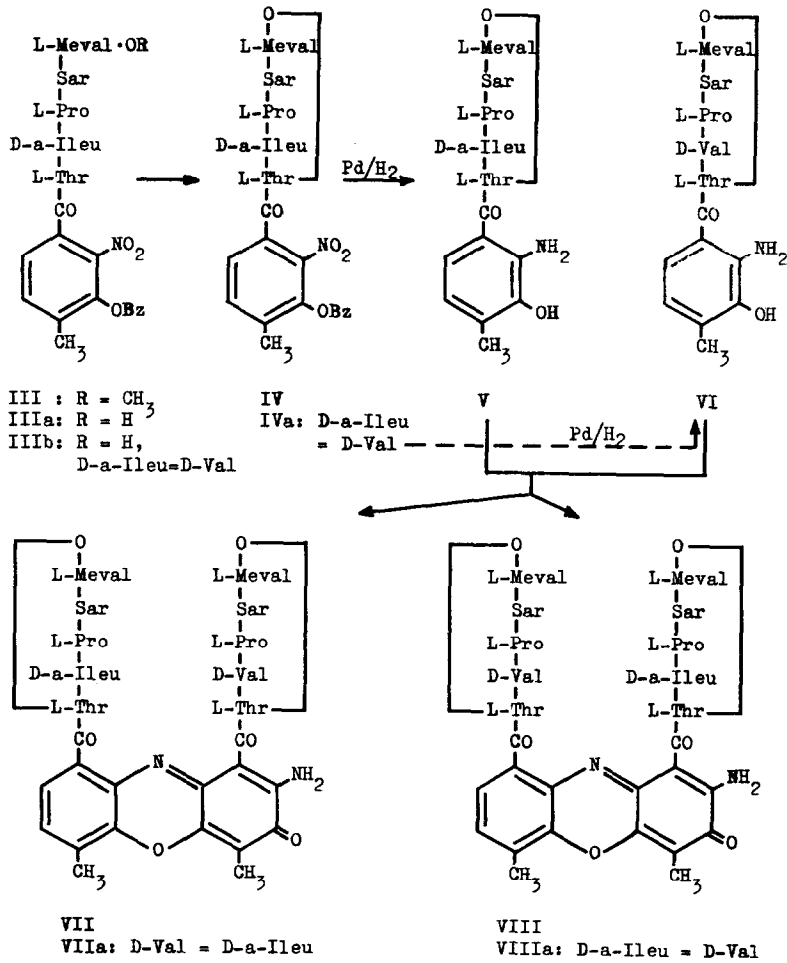
Sind die Geschwindigkeitskonstanten der zu VII, VIIa, VIII und VIIa führenden Kondensationen gleich, so sollten aus einem äquimolaren V, VI-Gemisch gleiche Mengen der vier Actinomyce entstehen. Unseren Ausbeuten nach (Syntheseprodukt mit den Eigenschaften des Actinomyce C₂/Actinomycin C₁/Actinomycin C₃ = 2 : 1 : 1) wäre dann das dem Actinomycin C₂ gleichende Syntheseprodukt ein nicht trennbares, äquimolares Gemisch aus Actinomycin C₂ (VIII) und dessen Isomeren VII. In diesem Fall könnte VII – entgegen einer früher geäußerten Vermutung³⁾ – nicht mit Actinomycin C_{2a} identisch sein.

Ist dagegen unser dem Actinomycin C₂ gleichendes Syntheseprodukt reines Actinomycin C₂ (VIII) und das mit dem R_F-Wert des Actinomyce C_{2a} das Isomere VII, so wäre die Kondensation $V + VI \rightarrow VIII$ gegenüber $V + VI \rightarrow VII$ stark bevorzugt; d. h. die Geschwindigkeitskonstanten hingen davon ab, ob derjenige Reaktionspartner, der zur benzoiden bzw. chinoiden Actinomycinhälfte wird, D-Valin oder D-allo-Isoleucin enthält.

Unsere Befunde lassen somit offen, ob das dem Actinomycin C₂ gleiche Syntheseprodukt reines oder mit seinem Isomeren VII vermischtes Actinomycin C₂ ist^{*)}. Dagegen gestatten sie – unabhängig

*) Diese Frage – wie beim nativen Actinomycin C₂ – durch oxydativen Abbau zu entscheiden²⁾, verbot die Kostbarkeit des Materials.

von den Mol.-Gew.-Bestimmungen - die Frage zu beantworten, ob die synthetischen Actinomycine zwei Pentapeptidlactonringe enthalten oder einen Dekapeptidlactonring, in den der Chromophor (Actinocin) als Brücke eingefügt ist. Denn wären die als IV und IVa formulierten Zwischenprodukte - im Widerspruch zu ihren



Mol.-Gew.-Zahlen - Dekapeptidlactone, so könnte zwar aus jedem von ihnen durch Reduktion und anschließende Oxydation ein Dekapeptidlacton mit Actinocin-Brücke entstehen, nicht aber aus einem äquimolaren Gemisch beider Produkte eine analog gebaute Verbindung, die - wie Actinomycin C₂ und sein Isomeres VII - sowohl einen D-Valin- als auch einen D-allo-Isoleucinrest enthält. Da sich weiterhin VII bzw. VIII in nahezu theoretischer Ausbeute bilden, haben die Kondensationspartner die mit der Mol.-Gew.-Zahl ihrer Vorprodukte IV und IVa in Einklang stehende Konstitution V bzw. VI und demnach die aus ihnen entstehenden Actinomycine C₁, C₂ und C₃ die Formeln VIIIa, VIII und VIIa. Damit ist auch durch Synthese, in Übereinstimmung mit den Ergebnissen des oxydativen Abbaus ^{2) **)}, das Vorliegen von zwei Pentapeptidlactonringen bewiesen.

Das Zwischenprodukt IV wurde über die im folgenden beschriebenen Zwischenprodukte I - III analog dargestellt wie IVa ¹⁾. Formyl-D-allo-isoleucyl-L-prolyl-sarkosin ¹⁾, unter Verwendung von N,N'-Dicyclohexyl-carbodiimid mit L-N-Methylvalinmethylester gekuppelt, gab Formyl-D-allo-isoleucyl-L-prolyl-sarkosyl-L-N-methylvalinmethylester (I). Farbloses Pulver, $[\alpha]_D^{22}$: -99° ± 3° (c = 2.0, Methanol). C₂₂H₃₈N₄O₆ (454.6) Ber. C 58.13 H 8.43 N 12.33. Gef. C 58.44 H 8.49 N 12.21.

Entformylierung von I mit 1.5 n methanolischem HCl lieferte farbloses, amorphes D-allo-Isoleucyl-L-prolyl-sarkosyl-L-N-methylvalinmethylester-hydrochlorid (II), $[\alpha]_D^{22}$: -140° ± 4° (c = 0.6, Methanol). C₂₁H₃₈N₄O₅ · HCl (463.0) Ber. C 54.47 H 8.49 N 12.11 Cl 7.66. Gef. C 54.51 H 8.64 N 12.10 Cl 7.56.

***) Aus nativem Actinomycin C₂ z. B. wurde der D-allo-Isoleucin enthaltende Ring als kristallisiertes Oxalyl-pentapeptidlacton gefaßt.

Verknüpfung von II mit 2-Nitro-3-benzyloxy-4-methylbenzoyl-L-threonin ¹⁾ unter Verwendung von N-Äthyl-5-phenyl-isoxazolium-3'-sulfonat ⁴⁾ (WOODWARD's Reagenz) führte zu gelblichem, amorphen III, $[\alpha]_D^{21} : - 59^\circ \pm 2^\circ$ (c = 0.9, Methanol). $C_{40}H_{56}N_6O_{11}$ (796.9) Ber. C 60.29 H 7.08 N 10.55. Gef. C 60.49 H 7.09 N 10.65. Mol.-Gew. Gef. 750 (Osmometer).

Verseifung von III mit 0.2 n NaOH in 80 proz. Aceton lieferte IIIa, $[\alpha]_D^{21} : - 50^\circ \pm 2^\circ$ (c = 0.75, Methanol). $C_{39}H_{54}N_6O_{11}$ (782.9) Ber. C 59.83 H 6.95 N 10.74. Gef. C 59.92 H 6.94 N 10.39. Äquival.-Gew. Ber. 782.9, gef. 780 (Potentiometrische Titration mit 0.1 n NaOH).

Lactonisierung von IIIa mit Acetyl-imidazol/Acetylchlorid ¹⁾ führte in 17 proz. Ausb. zum Peptidlacton IV. Gelbliches Pulver, $[\alpha]_D^{22} : + 7.7^\circ \pm 1^\circ$ (c = 0.7, Methanol). $C_{39}H_{52}N_6O_{10}$ (764.9) Ber. C 61.24 H 6.85 N 10.99. Gef. C 60.93 H 6.98 N 11.08. Mol.-Gew. Gef. 720 (Osmometer).

Frau Margitta Köppler danken wir für geschickte Mitarbeit.

References

- 1) H. Brockmann und H. Lackner : *Naturwissenschaften* 51, 384 (1964).
- 2) H. Brockmann und P. Boldt : *Naturwissenschaften* 50, 19 (1963).
- 3) H. Brockmann und B. Franck : *Naturwissenschaften* 47, 15 (1960).
- 4) R. B. Woodward, R. F. Olofson und H. Mayer : *J. Amer. chem. Soc.* 83, 1010 (1961).