sierten Präparaten) fanden wir: C 59,05, H 7,07 und N 12,26. Nach verschiedenen Methoden durchgeführte Molekulargewichtsbestimmungen hatten kein eindeutiges Ergebnis. Kryoskopisch in Phenol sowie nach Barger-Rast fanden wir Werte zwischen 800 und 900, denen wir aber keine endgültige Bedeutung zumessen. Nimmt man ein Molekulargewicht dieser Größe an (die sicher als Mindestgröße anzusehen ist), so passen unsere Analysenzahlen auf die Formel $C_{40}H_{57}O_{11}N_7$. Die hierauf berechneten Analysenzahlen eines aus Actinomycin C mit Perchlorsäure erhaltenen roten krystallisierten, leichthydrolysablen Salzes vom Schmp. 192° (korrig.) stimmen auf ein Diperchlorat.

Actinomycin C nimmt bei der katalytischen Hydrierung (Pt/Eisessig) auf die obige Formel berechnet 0,8 Mol H_2 auf, was vielleicht ein Hinweis dafür ist, daß das Molekulargewicht doch größer ist als dieser Formel entspricht. Die gelbe Farbe der Lösung wird im Verlauf der Wasserstoffaufnahme blaßgelb und bei Luftzutritt wieder gelb.

Obgleich unser Produkt auf Grund der Zerewitinoff-Bestimmung 5 aktive Wasserstoffatome enthält, gelang es bisher nicht, ein Acetylierungs- oder Methylierungsprodukt darzustellen. Dagegen erhielten wir bei der acetylierenden Reduktion eine krystallisierte Verbindung vom Schmp. 253° korrig.

Unter milden Bedingungen entstehen bei saurer Hydrolyse des Actinomycins C zwei orangerote, wasserlösliche Basen, die nicht mehr antibiotisch und toxisch sind. Die eine wird bei der chromatographischen Adsorption aus Wasser an Aluminiumoxyd als gelbe Zone adsorbiert (Zonenbase), die andere geht dabei ins Filtrat (Elutbase). Zunächst entsteht nur die Elutbase, im weiteren Verlauf der Hydrolyse nimmt ihre Menge zugunsten der Zonenbase ab. Die oberflächenaktiven wäßrigen Lösungen beider Basen trüben sich beim Erhitzen. Durch Salze werden die Basen ausgefällt. Durch starke Reduktionsmittel gehen beide in hellgelbe Leukoverbindungen über, die sich an der Luft über eine grüne, anscheinend semichinoide Zwischenstufe wieder gelb färben. Zonen- und Elutbase bilden Pikrolonate (von der Elutbase wurde auch ein Chloraurat dargestellt), deren Analysen dafür sprechen, daß bei der milden Hydrolyse kein oder nur ein geringfügiger Abbau des Moleküls stattfindet. Beide Basen geben bei der Aminostickstoffbestimmung nach Van Slyke nur geringe Mengen N_2. Durch die Einwirkung der salpetrigen Säure bilden sich saure, wasserunlösliche Verbindungen, die mit Phenol und Schwefelsäure die Liebermann-Reaktion auf Nitroso-Verbindungen geben, und die nach kurzem Erwärmen mit konz. HCl wieder die Eigenschaften der Ausgangsstoffe annehmen. Wahrscheinlich besteht der erste Schritt der Hydrolyse in der Aufspaltung eines Ringes unter Freisetzung einer Carboxyl- und sekundären Aminogruppe. Das Nitrosamin der Elutbase löst sich in Natriumcarbonatlösung, wird im Gegensatz zum Ausgangsprodukt fest an Aluminiumoxyd adsorbiert und geht mit Diazomethan in eine gelbe, neutrale Verbindung über.

Bei energischer Hydrolyse mit 30%iger Schwefelsäure wird aus Actinomycin C NH_3 und CO_2 im Verhältnis 2 : 1 abgespalten. Der Chromophor wird dabei in eine schwarze, wasserunlösliche Substanz verwandelt, während nach Ausweis des Papierchromatogrammes 5 Aminosäuren freigesetzt werden, von denen l-Threonin, l-Prolin, d-Alloisoleucin (oder d-Isoleucin) sowie eine N-Methyl-aminosäure (Schmp. 160°, R_F-Wert wie Valn) krystallisiert erhalten wurden. Die fünfte Aminosäure konnte von Herrn Kaß krystallisiert gewonnen und als N-Methyl-valin indentifiziert werden.

Für die antibiotische Wirkung des Actinomycins C wurden folgende Grenzkonzentrationen gefunden: *St. aureus* 1 : 20 000 000; *B. subtilis* 1 : 100 000 000; *Bact. coli* 1 : 10 000. Die innerhalb 24 Stdn. tödlich wirkende Dosis pro kg Maus betrug oral 50 mg, intraperitoneal 5 mg.

Die folgende Tabelle bringt einen Vergleich zwischen den drei Actinomycinen.

Actinomycin A	*Actinomycin B*	*Actinomycin C*
Schmp. 250° (zers.)	Schmp. 252° (zers.)	Schmp. 254° (zers.) korrig.
$[\alpha]_D^{25} = -320° \pm 5$ (c=0,25 % in Äthanol)	$[\alpha]_D^{25} = -332°$ (c = 0,25 % Äthanol)	$[\alpha]_D^{19} = -310° \pm 3°$ (c = 0,25 % Äthanol)
C 59.1, H 6.81, N 13.35 $C_{41}H_{55}O_{11}N_8$	C 57.87, H 6.40, N 13.17 $C_{41}H_{54}O_{12}N_8$	C 59.08, H 7.07, N 12.26 $C_{40}H_{57}O_{11}N_7$
Aceton: Mäßig löslich		Aceton: Sehr leicht löslich
Diacetylderivat mit dem gleichen Schmp. wie Actinomycin A		Kein Acetylderivat
Leukoacetylderivat Schmp. 241° C 58.52, H 6.45, N 12.04		Leukoacetylderivat Schmp. 253° C 59.50, H 6.95, N 11.14

Wir halten es für möglich, daß die Unterschiede zwischen den drei Actinomycinen auf einer Verschiedenheit in der Konstitution der Polypeptidkette beruhen, die vielleicht cyclisch mit dem Chromophor verknüpft ist. Für dessen Konstitutionsermittlung sehen wir einen wichtigen Hinweis in der Beobachtung, daß die Reduktion und Reoxydation der Zonen- und Elutbase im Gegensatz zum Actinomycin selber über eine grüne Zwischenstufe führt.

Göttingen, Organisch-chemisches Institut der Universität.

Hans Brockmann und Nikolaus Grubhofer.

Eingegangen am 30. September 1949.

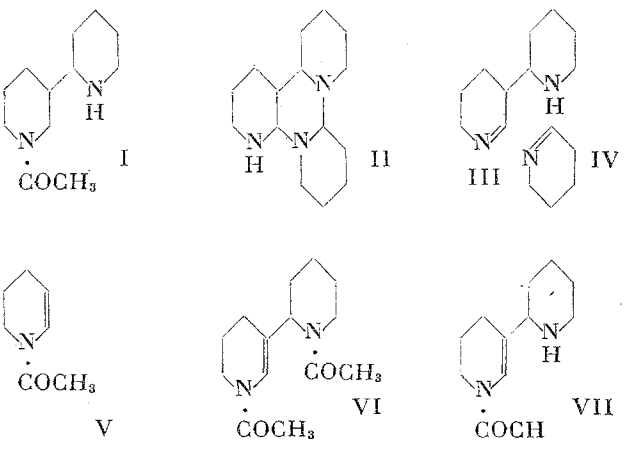
[1]) Waksman, S. A. u. Tishler, M. J. Biol. Chem. **142**, 519 (1942).
[2]) Dalgliesh, C. A. u. Todd, A. R., Abstracts of Communication des I. Internationalen Kongresses für Biochemie in Cambridge, August 1949, S. 246.

Konstitution und Synthese des Ammodendrins.

Das Ammodendrin der Summenformel $C_{12}H_{20}ON_2$ ist ein kristallisiertes, optisch-inaktives Alkaloid, das von A. Orechoff und N. Proskurnina in dem zu den Leguminosen gehörenden Baum Ammodendron conollyi Bge. aufgefunden wurde[1]). Es enthält eine N-Acetylgruppe; das zweite, basische Stickstoffatom ist sekundär. Durch katalytische Hydrierung wurde das Vorliegen einer Doppelbindung nachgewiesen.

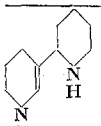
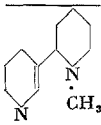
Durch die Verseifung des so gewonnenen Dihydro-ammodendrins zu α,β-Dipiperidyl und die experimentelle Verknüpfung des N-Methyl-ammodendrins mit dem N-Methyl-anabasin haben Orechoff und Proskurnina weiter nachgewiesen[2]), daß dem Dihydro-ammodendrin die Konstitution I zukommt. Es ist unbekannt, an welcher Stelle des Moleküls die Doppelbindung sich im Ammodendrin befindet.

Wir haben nun vor einiger Zeit gezeigt[3]), daß dem Isotripiperidein die Konstitution II eines aus Δ^1-Piperidein (IV) und Tetrahydro-anabasin der Formel III aufgebauten cyklischen Aldehydammoniaks zukommt, der schon beim Lösen in Mineralsäuren von Zimmertemperatur rasche Hydrolyse zu den Komponenten III und IV erleidet. Beim Kochen mit Essigsäureanhydrid tritt gleichfalls Zerfall unter Bildung der Acetylverbindungen V und VI ein, die sich jeweils von der Enaminform von IV bzw. III ableiten.



Acetyliert man jedoch Isotripiperidein (II) im indifferenten Lösungsmittel mit Keten, so wird eine ölige Monoacetylverbindung (analog II; :N·$COCH_3$ statt :NH) erhalten, die mit Jodwasserstoffsäure in Δ^1-Piperidein und die Monoacetylverbindung der Enaminform des Tetrahydroanabasins (VII) zerfällt. Die Konstitution dieser Verbindung ist durch die Synthese eindeutig gegeben.

Das so erhaltene Jodhydrat zeigt den Schmelzpunkt des Ammodendrin-Jodhydrats, die daraus dargestellte kristallisierte Base den des *Ammodendrins*. Da auch alle anderen von Orechoff und Proskurnina beschriebenen Derivate und Salze des Ammodendrins und N-Methyl-ammodendrins mit denselben Schmelzpunkten von uns aus der Verbindung VII erhalten wurden, kann kaum ein Zweifel darüber bestehen, daß auf dem geschilderten einfachen Wege die Synthese des Ammodendrins gelungen und damit auch die bisher noch unbekannte Lage der Doppelbindung festgelegt ist. Die folgende Gegenüberstellung der Schmelzpunkte der in der Literatur beschriebenen Ammodendrin-Derivate und der von uns dargestellten Verbindungen zeigt die Identität der synthetischen Verbindung VII mit Ammodendrin.

Verbindung:		Schmelzp.	Schmelzp. der Literatur für die entsprechenden Derivate des Ammodendrins
	Base (Monohydrat)	73— 74°	73— 74°
	Hydrojodid	221—222°	218—220°
	Perchlorat	208—209°	199—200°
	Base	65— 66°	65— 66°
	Hydrojodid	184—185°	183—185°
	Jodmethylat	164—165°	163—165°

Die einzige geringfügige Abweichung findet sich beim Perchlorat des Ammodendrins; wir möchten annehmen, daß das in der Literatur beschriebene Salz noch nicht ganz rein war. Die Analysen der von uns dargestellten Verbindungen stimmen mit den theoretischen Werten überein.

Nimmt man an, daß die Ammodendrin erzeugenden Pflanzenzellen ein enzymatisches System besitzen, das Tetrahydroanabasin (IV) spezifisch in der Enaminform nur am Enaminstickstoff acetyliert, wofür allerdings noch kein Hinweis vorliegt, so könnte folgender Reaktionsweg in der Zelle vom Lysin zum Ammodendrin führen: Lysin geht durch Neubauer-Knoop-Abbau in ω-Amino-valeraldehyd und dieser spontan in Δ^1-Piperidein (IV) über[3]), das sich, wie wir gefunden haben, in physiologischen p_H-Bereich in rascher Reaktion von selbst zu Tetrahydroanabasin (III) dimerisiert[4]), das seinerseits durch spezifische— enzymatische — Monoacetylierung der Enaminform Ammodendrin ergeben kann.

Darmstadt, Institut für organische Chemie der Technischen Hochschule.

Clemens Schöpf, Franz Braun.

Eingegangen am 27. Juni 1949.

[1]) B. **68**, 1807 (1935).
[2]) Bl. [5] **5**, 29 (1938) = C 1938 I 2550.
[3]) Schöpf, C., Komzak, A., Braun, F. und Jacobi, E.. A. **569**, 1 (1948).
[4]) Angew. Chem. **59**, 29 (1947).

Der Einfluß von Eiweißen auf ein Cholesterinsol.

Das System Cholesterin-Eiweiß beansprucht einiges biologische Interesse, da beide Stoffgruppen gemeinsam auftreten. Am innigsten ist die Berührung im Gallensekret. Ein Zusammenhang zwischen einer Störung der Eukolloidalität der Galle mit der Konkrementbildung in derselben durch Eiweiß ist namentlich durch Naunyn und Lichtwitz angenommen worden. Seitdem jedoch eigene Untersuchungen Eiweiß auch in der gesunden Galle ergaben, scheint es nicht die Gegenwart von Eiweiß schlechthin zu sein, die die Eukolloidalität aufhebt, sondern eine qualitative Verschiebung. Bei Leber- und Gallenerkrankungen, die erfahrungsgemäß häufig Gallensteinbildung im Gefolge haben, fand sich ein Absinken der Albumine und Zunahme der Globuline in der Gallenflüssigkeit.

Dieser Befund gab Veranlassung, in den folgenden Versuchen den Einfluß verschiedener Eiweißkörper auf ein Cholesterinsol zu untersuchen. Das Sol wurde durch Verdünnung von 5 ccm gesättigter Cholesterinlösung in Methanol mit 95 ccm 0,9%iger Kochsalzlösung hergestellt. Zu 5 ccm dieses Sols wurden je 2 ccm der 3%igen Eiweißlösung gegeben: Humanalbumin, Humanglobulin, Humanfibrinogen, Eieralbumin. Nach einstündigem Stehen wurde im Photozellenkolorimeter die Trübung abgelesen. Die Ergebnisse sind in der Tabelle zusammengestellt.

Eiweißlösung 3%	Trübung nach 1 Stunde	Flockung
Cholesterinsol	0	—
,, + 2 ccm Albumin	0	—
,, + 2 ccm Globulin	20%	+
,, + 2 ccm Fibrinogen	44%	+++
,, + 2 ccm Eiereiweiß	28%	++
,, + 1 ccm Albumin + 1 ccm Fibrinogen	12%	+
,, + 1 ccm Albumin + 1 ccm Eiereiweiß	0	—
,, + 1 ccm Albumin + 1 ccm Globulin	0	—

Keines der Eiweiße wurde durch 5%ige Methanollösung gefällt. Zusätze von Bilirubin und Gallensäuren waren ohne Einfluß auf den Flockungsvorgang. Das Cholesterinsol flockt nach etwa 40 Stunden spontan. Diese Spontanflockung läßt sich durch Albuminzusatz verhindern. Die Summe der Ergebnisse ist, daß Albumin in dem beschriebenen Cholesterinsol eine Schutzkolloidfunktion übernimmt, während die übrigen geprüften Eiweißkörper in der Reihe Globulin < Eiereiweiß < Fibrinogen eine fällende Wirkung zeigen.

Das System Cholesterin-Eiweiß scheint folgenden Aufbau zu haben: Die Stabilität des reinen Sols ist nicht sehr groß. Eine Zeitlang vermögen sich die Cholesterinteilchen vermittels der durch ihre geringe negative Ladung hervorgerufenen gegenseitigen Abstoßung in Schwebe zu halten. Dann agglomerieren und sedimentieren sie. Bei gleichzeitiger Gegenwart von Albuminen als Schutzkolloiden haften diese hoch negativ geladenen Moleküle auf der Oberfläche des Cholesterins und bilden so stark negativ geladene mit einer Hülle von Solvatationswasser umgebene Teilchen, die sich gegenseitig abstoßen und in der Schwebe halten. Das System ähnelt dann dem der Milch. Andere weniger negativ geladene Eiweißkörper mit einer geringeren Solvathülle wie die Globuline haben diese Schutzfunktionen nicht, da ihre Ladung geringer ist und, falls sie gestreckt sind, infolge weiten Abstands der freien Gruppen auch die elektrostatischen Kräfte unter denen des Albumins liegen. Offenbar führt der Ladungsausgleich mit dem Cholesterin zu dessen Instabilisierung und zur Flockung. In besonders starkem Maße besitzt diese Wirkung das Fibrinogen mit seinem hohen Gehalt an basischen Gruppen des Serins und das basische Eialbumin. Dieses wurde auch von Lichtwitz in seinen Versuchen verwandt. Allerdings führten seine Ergebnisse zu dem irrigen Schluß, die Gegenwart von Eiweißen allgemein führe zu einer Ausfällung durch Cholesterin. Die Untersuchungen über den Eiweißgehalt der Gallenflüssigkeit und das Verhalten von Eiweiß und Cholesterinsolen lassen folgende Vorstellung als wahrscheinlich zu: In der normalen Galle wird das Cholesterin durch die Gegenwart von Albuminen als Schutzkolloiden vor dem Ausfallen geschützt. Abnahme der Albumine, z. B. bei Schädigungen des Leberparenchyms oder Zunahme der Globuline und des Fibrinogens, z. B. bei Entzündungen der Gallenblase, kann zur Destabilisierung des Kolloidsystems mit Ausfällung des Cholesterins und zur Konkrementbildung führen. Die Übertragung