

82
DIE
ANTIBIOTICA

Band III

DIE
KLEINEN
ANTIBIOTICA

DIE ANTIBIOTICA

Herausgegeben von

Dipl.-Ing. Dr. RICHARD BRUNNER
o. Professor an der Technischen Hochschule Wien und

Dr. GUIDO MACHEK
tit. ao. Professor an der Universität Innsbruck

BAND III

DIE KLEINEN ANTIBIOTICA

bearbeitet von

Dr. HELGA BLANK, Kundl, Tirol, und Dr. HEIMO STRUHAL, Wien

1970

VERLAG HANS CARL NÜRNBERG

Alle Rechte am Gesamtwerk und an den einzelnen Beiträgen, auch die des auszugsweisen Nachdrucks, der photomechanischen Wiedergabe sowie der Übersetzung, sind dem Verlag vorbehalten. © Copyright 1970 by Verlag Hans Carl, Nürnberg. Printed in Germany 1970.

Druck C. Brügel & Sohn, Ansbach.

VORWORT

Im Vorwort des ersten Bandes unseres Werkes »Die Antibiotica« ist angeführt, daß bezüglich der Anordnung des Stoffes anstelle des mitunter angewandten botanischen Prinzipes eine Reihung der behandelten Antibiotica annähernd nach ihrer Bedeutung vorgenommen wird. Demzufolge brachte also der zweiteilige erste Band die großen Antibiotica, der zweite Band behandelte die mittleren Antibiotica, während der nun vorliegende dritte Band die kleinen Antibiotica zum Inhalt hat.

Im ersten und zweiten Band wurde der Stoff bei den einzelnen angeführten Antibiotica gleichartig unterteilt, wobei jeweils dieselben Kapitel, nämlich Historie, Chemie und Eigenschaften, Gewinnung, Bestimmungsverfahren, Pharmakologie, Pharmazeutische Präparationen und Medizinische Anwendung, angeführt werden. Im zweiten Band, der auch die Anwendung der Antibiotica auf nichttherapeutischem Sektor (Tierfütterung, Konservierung und Pflanzenschutz) bringt, sind die einzelnen Wirkstoffe nach chemischen Gesichtspunkten angeordnet, also in besondere chemische Gruppen, wie Lactone, Aminosäuren und Oligopeptide, Polypeptide usw., zusammengefaßt, wodurch eine bessere Übersicht ermöglicht wird, sowie gewisse Ähnlichkeiten im Verhalten und in der Wirkungsweise der betreffenden mittleren Antibiotica hervorgehoben sind.

Wie wir bereits im Vorwort zum Band I hervorgehoben haben, sollte in der Unterteilung in große, mittlere und kleine Antibiotica keine strenge Trennung geschaffen werden, »weil ein heute noch kleines Antibioticum vielleicht schon morgen eine wesentlich stärkere Bedeutung, als dem Wort klein entspricht, erlangen kann«. Dieser Fall ist schon deshalb, weil der zeitliche Zeitraum zwischen dem Erscheinen des ersten Bandes und des vorliegenden dritten Bandes ein großer war, bei manchen Antibiotica tatsächlich eingetroffen, obwohl die überwiegende Mehrzahl das Prädikat »klein« noch zu Recht trägt. Beispielsweise sind die Cephalorine vor allem in ihren jüngsten Gliedern, so wie Cephaloridin, Cephalothin usw., sicher nicht mehr zu den kleinen Antibiotica zu rechnen, wie dies aus ihrer vielfachen Anwendung in der Therapie hervorgeht. Trotzdem mußten sie, wie auch einige andere Antibiotica, aus den angegebenen Gründen in diesem Band ihre Einreihung finden, wofür wir um Verständnis bitten.

Die Mannigfaltigkeit und Vielartigkeit der also meist unbedeutenden kleinen Antibiotica rechtfertigt keine irgendwie verständliche und vertretbare Einteilung nach irgendwelchem anderem Prinzip als dem des Alphabetes. So

werden die im dritten Band zusammengefaßten kleinen Antibiotica mithin ungeachtet ihrer Herkunft, ihrer Natur und ihrer Art rein alphabetisch aufgereiht, und damit erübrigt sich auch ein eigenes Inhaltsverzeichnis, das im vorliegenden Band also fehlt bzw. am Ende des Bandes in Form des Sachregisters vorliegt.

Im Hinblick auf die vor allem in den letzten Jahren gemachten und gefestigten neuen Kenntnisse über die Resistenzentstehung haben wir im Anhang ein kurzes Kapitel über »Resistenzprobleme in neuer Sicht« eingeschaltet.

Nach Beendigung der Arbeiten für den dritten Band fühlen wir uns verpflichtet, dem Verlag für Hilfe und Unterstützung bei der Abfassung des Werkes sowie für die gute Ausstattung aller drei Bände unseren besten Dank zum Ausdruck zu bringen.

Die Herausgeber

A 228

Streptomyces species, Stamm Ds 41, bildet ein Gemisch zweier nahe verwandter Komponenten mit gleichartiger antibiotischer Wirksamkeit, A-228a und A-228b^{1,2}. Es handelt sich um neutral reagierende Verbindungen, welche sich durch Gegenstromverteilung trennen lassen und Stickstoff sowie Schwefel enthalten. In Alkoholen lösen sich beide Stoffe leicht, in Wasser sind sie nur wenig löslich. Chloroform löst sie ebenfalls, zerstört aber ihre biologische Aktivität. Alkoholische, weniger auch wäßrige Lösungen sind stabil, ebenso die trockenen Substanzen. Wäßrige Lösungen fluoreszieren kräftig gelbbäulich im UV-Licht. In konzentrierter Schwefelsäure lösen sich beide Komponenten mit dunkelvioletter Farbe; sie entfärben Bromwasser.

Die beiden Antibiotica sind wirksam gegen Hefen, Fadenpilze, *Trichomonas vaginalis* und *Entamoeba histolytica*, unwirksam gegen Bakterien, Mykobakterien und Aktinomyceten. Sie werden im Intestinaltrakt nicht resorbiert. Über den Mechanismus der Wirkung gegen Hefen siehe³.

Literatur

¹ D. B. P. 942 047 WALKER, A. D. et al., (Glaxo)

² PEYNAUD, E. und LAFOURCADE, S., Rev. Ferm. Ind. Aliment. 8 228 (1953)

³ RIBERAU-GAYON, J. et al., Bull. Soc. Chim. Biol. 40 189 (1958)

A 9828

Dieses Antibioticum wird von *Streptomyces species*, Stamm A 9828, produziert. Das genannte Patent behandelt dessen Eigenschaften und Kultur sowie die Isolierung und die Eigenschaften der Verbindung, die in nadelförmigen, farblosen Kristallen (F. = 65 bis 67° C) erhalten wurde. Sie ist schwach rechtsdrehend.

Patent

D.A.S. 1 075 800 (1959) Ciba (GÄUMANN, E. et al.)

A 22765

Das Antibioticum entsteht durch aerobe Züchtung von *Streptomyces aureofaciens* NRRL 2858. Es ist ein hellbraunes Pulver, das sich in Wasser, Methanol und Dimethylformamid gut löst. Es besitzt basische Eigenschaften

und gehört zu den Sideromycinen. In vitro ist Antibioticum A 22765 wirksam gegen *Micrococcus pyogenes* var. *aureus*, *Streptococcus viridans*, *Str. faecalis*, *Bacillus megatherium*, *B. subtilis*. In vivo war A 22765 in mit *Micrococcus pyogenes* var. *aureus*, *Str. haemolyticus* und *Pneumococcus Typ III* infizierten Mäusen wirksam. Die Toxizität ist gering. Mäuse vertrugen 1000 mg/kg ohne Schädigung¹.

Patent

D.A.S. 1 129 259 (1962) Ciba (GÄUMANN, E., VISCHER, E. und BICKEL, H.)

Literatur

¹ KNÜSEL, F. und NÜESCH, J., Nature 206 674 (1965)

ABIKOVIROMYCIN

1951 isolierten H. UMEZAWA et al.^{1,3} aus *Streptomyces abikoensum* und *Str. rubescens* ein neues Antibioticum, das sie Abikoviromycin nannten. 1958 gewannen Y. SAKAGAMI et al.⁴ aus *Str. reticuli* var. *latumcidicus* das Antibioticum Latumcidin, von dem sich aber bald herausstellte, daß es mit Abikoviromycin identisch ist⁵.

Die Isolierung mußte unter Stickstoffatmosphäre bei tiefen Temperaturen (0 bis 2° C) vorgenommen werden. In leicht alkalischem Milieu wurde mit Methylisobutylketon extrahiert und der Auszug dann bei stark saurer Reaktion mit Wasser im Gegenstromverfahren behandelt. Nach wiederholter Reinigung wurde aus Methylisobutylketon, dem mittels Calciumchlorids das Wasser entzogen worden war, mittels konzentrierter Schwefelsäure gefällt und durch mehrfaches Umkristallisieren gereinigt. Erhalten wurde das Sulfat; das freie Antibioticum konnte nicht dargestellt werden.

Das Sulfat, $C_{11}H_{13}O_2N \cdot H_2SO_4$, kristallisiert in weißen Nadeln, die bei 140 bis 140,5° C schmelzen. Es ist rechtsdrehend, $[\alpha]_D^{21} = +148,9^\circ$ (c = 0,1; 0,1n Natriumhydroxyd), und zeigt in saurer Lösung Absorptionsmaxima bei 231 bis 236 bzw. 334 bis 338 mμ.

Das Antibioticum ist stark wirksam gegen Viren. Jene der Westlichen und Östlichen Pferdeencephalitis werden bereits in Konzentrationen von 1:8000000 gehemmt, Viren der Venezuelischen Pferdeencephalitis und der Japanischen Encephalitis erst bei höheren Dosen. H. UMEZAWA et al. fanden, daß Poliomyelitis-Viren durch einen Rohextrakt, der Abikoviromycin enthält, inaktiviert werden. Ein vorgereinigtes Produkt erwies sich in der Konzentration von 1:25000 als wirksam.

Gehemmt werden ferner auch Bakterien, Pilze und Protozoen. 62,5 bis 250 $\mu\text{g/ml}$ wirken z. B. gegen *Shigella dysenteriae*, *Salmonella paratyphi*, *S. typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus anthracis*, *Mycobacterium phlei* und *Candida albicans*.

Die letale Dosis lag für Mäuse bei intravenöser Gabe bei etwa 6,6 mg/kg, bei subcutaner Zufuhr bei 66 mg/kg Körpergewicht; nach Y. SAKAGAMI et al. bei 17,3 mg/kg intravenös.

Patent

Jap. A.S. 6200 (1954) Nippon Antibiotic Subst. (UMEZAWA, H. et al.)

Literatur

¹ UMEZAWA, H. et al., Japan Med. J. 4 331 (1951)

² UMEZAWA, H. et al., J. Antibiotics (Japan) Ser. A 5 469 (1952)

³ UMEZAWA, H. et al., J. Antibiotics (Japan) Ser. A 6 38 (1953)

⁴ SAKAGAMI, Y. et al., J. Antibiotics (Japan) Ser. A 11 6 (1958)

⁵ SAKAGAMI, Y. et al., J. Antibiotics (Japan) Ser. A 11 231 (1958)

ABURAMYCIN

H. NISHIMURA et al.¹ isolierten diese Substanz aus *Streptomyces aburaviensis* n. sp., den sie bei etwa 30° C vier Tage lang gezüchtet hatten. Maisquellwasser, Sojamehl, Stärke und Kochsalz in Wasser dienten als Nährmedium.

Aburamycin findet sich in der Kulturflüssigkeit. In stark saurer Lösung wird mit Äthylacetat extrahiert und der Wirkstoff in Wasser übernommen (p_H 9). Durch Gegenstromverteilung mit Chloroform erhält man ein Rohprodukt, das an Aluminiumoxyd weiter gereinigt und mit Methanol gewonnen werden kann. Beim Konzentrieren des Eluats und Zusatz von Wasser fällt das Aburamycin kristallin an.

Die gelben Kristalle schmelzen bei 163 bis 165° C. Sie lösen sich in Alkohol, Aceton, Äthylacetat, Butylacetat, Butanol und Chloroform. Stickstoff, Schwefel und Halogene sind im Molekül nicht enthalten. Die schwach saure Verbindung ist rechtsdrehend, $[\alpha]_D^{20} = +24,56^\circ$ ($c = 1$; Methanol), und zeigt Absorptionsmaxima bei 230, 276 und 410 $m\mu$ sowie schwächere bei 320, 330 und 350 $m\mu$. Die Verfasser diskutieren auch das IR-Spektrum. Positiv sind folgende Reaktionen: Molisch-, Fehling-, Benedict-, Tollens-, Orcin-, Seliwanoff- und der Test mit Anthron-Reagenz, die Tests mit Biuret-, Ninhydrin-, Tollens-Phloroglucin, Ferrichlorid- und Folin-Reagenz verlaufen negativ, ebenso die Nachweise auf Tyrosin.

Aburamycin ist nahe verwandt zu Olivomycin, kann aber von diesem chromatographisch getrennt werden².

Aburamycin hat nur ein enges Wirkungsspektrum. Grampositive Keime sprechen schon auf Dosen von 0,2 bis 2,0 $\mu\text{g/ml}$ an, während gramnegative Bakterien nicht gehemmt werden. Unter den säurefesten Mikroorganismen wird nur *Mycobacterium phlei* gehemmt (1 $\mu\text{g/ml}$). Pilze beeinflußt Aburamycin nicht. Gegen das Ehrlich-Carzinom der Maus und gegen das Crocker-Sarkom wirkt die Verbindung hemmend und lebensverlängernd, doch liegen die kurative und die toxische Dosis sehr nahe beieinander.

Mäuse wurden intravenös durch 2 mg Aburamycin/kg Körpergewicht getötet, 2,5 mg/kg wirkten nach subcutaner Injektion letal, 20 mg/kg bei oraler Zufuhr.

Patent

Jap. A.S. 12 650 (1960) Shionogi (NISHIMURA, H. und KIMURA, T.)

Literatur

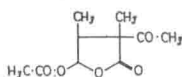
¹ NISHIMURA, H. et al., J. Antibiotics (Japan) Ser. A 10 205 (1957)

² KRUGLJAK, F. V., BORISOVA, V. N. und BRAŽNIKOVA, M. G., Antibiotiki (USSR) 8 1064 (1963)

ACETOMYCIN

Dieses Antibioticum isolierten L. ETLINGER et al.¹ und W. KELLER-SCHIERLEIN et al.² aus *Streptomyces ramulosus* n. sp., der in einem Medium mit 2% Sojabohnenmehl und 2% Glucose 48 Stunden bei 27° C gezüchtet wurde. Seine morphologischen und physiologischen Eigenschaften wurden ausführlich behandelt. Die Extraktion des Acetomycins wurde aus der Kulturlösung mittels Essigesters vorgenommen, der Auszug konzentriert und die aktive Substanz mit Petroläther gefällt.

Acetomycin, $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{O}_5$, reagiert neutral und bildet aus Alkohol kräftige Prismen, die bei 115 bis 116° C schmelzen und im Hochvakuum bei 70° C sublimieren. Chemisch handelt es sich um ein 2,3-Dimethyl-2-acetyl-4-acetoxy- γ -butyrolacton; die Form des Enantiomeren, von denen acht denkbar sind, konnte nicht fixiert werden. Die Verbindung ist stark linksdrehend, $[\alpha]_{\text{D}} = -167^\circ$ ($c = 1,47$; Alkohol).



Die IR-Analyse bestätigte die Struktur. Zudem konnte von E. BOSSHARD und Mitarbeitern³ das Hydrolyseprodukt, α , β -Dimethylacetaldehyd, synthetisiert werden. Es ist insofern interessant, da es gegen manche Keime aktiver ist als das Acetomycin selbst.

Acetomycin bildet ein 2,4-Dinitrophenylhydrazon (F. = 205 bis 208° C), das in dunkelgelben Plättchen kristallisiert. Die Jodoform- und die Ferri-chloridprobe sind positiv.

Acetomycin ist nur gegen *Mycobacterium tuberculosis* var. *hominis*, *Entamoeba histolytica* und *Trichomonas foetus* wirksam, sein Aldehyd hemmt auch *Micrococcus pyogenes* var. *aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Candida vulgaris*, *Saccharomyces cerevisiae* und *Ustilago sphaerogena* in vitro in ausreichendem Maße.

Literatur

¹ ETTLINGER, L. et al., Helv. Chim. Acta 41 216 (1958)

² KELLER-SCHIERLEIN, W. et al., Helv. Chim. Acta 41 220 (1958)

³ BOSSHARD, E., Helv. Chim. Acta 42 2 746 (1959)

DIE ACHORICINE

Man kennt bisher drei Verbindungen dieser Art, welche chemisch ähnlich sind. Sie wurden bei der Untersuchung von Dermatophyten aufgefunden und von J. URI, I. SZILAGYI und G. SZABO¹ aus Kulturen von *Achorion gypseum* isoliert. J. URI² faßte die bisher bekannten Eigenschaften in einer späteren Arbeit zusammen.

Die Kultur der Pilze (Schüttelkultur) wurde nach vierzehn Tagen unterbrochen, die Fermentationsflüssigkeit mit Äther extrahiert und das Lösungsmittel verdampft. Das verbleibende ölige Produkt wurde bei Atmosphärendruck (758 mm Hg) der fraktionierten Destillation unterworfen und lieferte drei Komponenten.

Es handelt sich um farblose, volatile, ölige Verbindungen mit typischem Geruch und einem spezifischen Gewicht unter 1. Wahrscheinlich sind es Ester, doch ist die Konfiguration noch nicht bekannt. Schwefel oder Stickstoff konnten nicht nachgewiesen werden. Die Siedepunkte der drei Verbindungen liegen bei 69 bis 71°, 97 bis 99° bzw. 106 bis 106,5° C.

Die Achoricine hemmen grampositive und gramnegative Bakterien, wobei die Fraktion C am wirksamsten ist. Erstere sprechen meist auf Konzentrationen von 1:200 bis 1:400 an, eine Ausnahme machen Sarcinen, die wenig empfindlich sind. Pilze, darunter auch *Achorion gypseum* selbst, werden ebenfalls gehemmt. Die drei Komponenten wirken auch in Gasform antimikrobiell. Beim Einreiben in die rasierte Kaninchenhaut kommt es zu

einer starken Hyperämie. Die Autoren nehmen an, daß sich der die Haut besiedelnde Produzent damit günstige Lebensbedingungen schafft. Toxisch wirken die Achoricine nicht. Ratten vertrugen 5 g/kg subcutan ohne Schädigung.

Literatur

¹ URI, J., SZILAGYI, I. und SZABO, G., Acta Physiol. Hung. 5 49 (1954)

² URI, J., Arzneimittelforschung 8 53 (1958)

ACHROMOVIROMYCIN

H. UMEZAWA et al.^{1,2} gewannen aus *Streptomyces achromogenes* n. sp. (Stamm 7-4-1) das Achromoviromycin, indem sie den Wirkstoff nach der Filtration der Kulturflüssigkeit mittels Essigesters bei einem p_H von 2 extrahierten und den Rückstand bei 40° C im Vakuum konzentrierten.

Achromoviromycin ähnelt den Antibiotica Abikoviromycin und Sarcidin, ist aber nicht mit ihnen identisch. Es hemmt das Virus der Japanischen Encephalitis B und der Pferdeencephalitis in Konzentrationen von 1:8000 bis 1:16000.

Seine Toxizität ist gering, Mäuse vertrugen subcutan 100 mg/kg Körpergewicht ohne schädliche Folgen.

Literatur

¹ UMEZAWA, H. et al., J. Antibiotics (Japan) Ser. A 6 38 (1953)

² UMEZAWA, H. et al., Japan. J. Med. Sci. Biol. 6 261 (1953)

DIE ACTIDUINE

In Erdproben aus Malaya fand H. S. BURTON¹ einen nicht näher identifizierten Streptomyceten, der eine Gruppe nahe verwandter, bakteriostatischer Substanzen produziert. Sie erhielten die Bezeichnung Actiduin I bis VI.

Zur Kultur des Pilzes diente ein Gemisch aus Fischmehl, Trockenhefeautolysat und Saccharose in Wasser. Die Wirkstoffe finden sich sowohl im Medium als auch im Mycel des Produzenten und können mit Hilfe von Säuren extrahiert werden. Nach Adsorption können die Komponenten durch Säulenchromatographie oder Gegenstromverteilung gereinigt werden.

Die Actidine sind Substanzen mit gelber oder roter Farbe und starker gelber Fluoreszenz in organischen Lösungsmitteln. Ihre Schmelzpunkte sind nicht exakt festlegbar; sie schwärzen sich über 280° C, schmelzen aber bis

350° C nicht. Die Trennung gelingt aufgrund der Löslichkeitsunterschiede. In Wasser und Äther lösen sie sich kaum, gut dagegen in Butanol, Äthanol, Pyridin, Essigsäure und anderen organischen Medien; ferner in Mineralsäuren, aus denen sie durch Verdünnen gefällt werden können.

In saurem oder neutralem Milieu sind die Actidine kurzfristig haltbar, in alkalischer Lösung werden sie sofort zerstört. Gegen Fermente (Penicillinase, Cephalosporinase, Trypsin) sind sie unempfindlich, ebenso gegen Cystein und Humanserum; zweiwertige Zink- und noch mehr Kupferionen vermindern die biologische Aktivität.

Zur quantitativen Bestimmung eignen sich *Corynebacterium xerosis* oder *Micrococcus pyogenes* var. *aureus* als Testkeim (Plattentest).

In Konzentrationen von 1:60000000 bis 1:360000000 werden grampositive Bakterien, insbesondere *Micrococcus pyogenes* var. *aureus*, gehemmt. Gramnegative Bakterien und Mykobakterien sind unempfindlich.

Literatur

¹ BURTON, H. S., Chem. and Ind. (London) 442 (1955)

ACTININ

G. DEANGELIS¹ berichtete über ein tumorhemmendes Prinzip aus *Streptomyces jelix*. Die Konstitution der Verbindung ist noch nicht geklärt. Wahrscheinlich handelt es sich um ein basisch reagierendes Polypeptid.

Actinin hemmt das Ehrlich-Carzinom der Ratte, die Tumoren verschwinden oft völlig. Andere Neoplasmen sprechen weniger oder gar nicht darauf an. Einem Krebskranken konnte durch intraperitoneale Zufuhr Erleichterung verschafft werden, weitere klinische Ergebnisse liegen noch nicht vor. Die Verbindung zeigte keine toxischen Nebenwirkungen.

Literatur

¹ DEANGELIS, G., Ateneo Parmense 28 248 (1957)

ACTINOBOLIN

Das Antibioticum Actinobolin wurde aus einer Streptomycetenart *P-D 05000* gewonnen, die aus Erdproben in Georgia isoliert worden war¹. S. A. FUSARI und H. E. MACHAMER² berichteten über die submerse Fermentation und Reinigung der Substanz. Sie machten Angaben über die Zusammensetzung des Nährbodens für halbtechnische und technische Anlagen. Für letztere

empfehlen sie ein Medium folgender Zusammensetzung: 2 % Cerelese, 1 % Sojamehl, 0,5 % Protopepton 159, 0,167 % Ammoniumchlorid, 0,5 % Kochsalz und 0,25 % Calciumcarbonat. Das Medium wurde nach Impfung bei 26° C inkubiert, der p_H zwischen 6,4 und 6,7 gehalten. Das Maximum der Antibiotica-Produktion setzte etwa 60 bis 72 Stunden nach Inkubationsbeginn ein. R. F. PITILLO und seine Mitarbeiter¹ betonen, daß die Ausbeute sehr vom verwendeten Nährboden abhängig sei. In einer Tabelle stellten sie ihre Ausbeuten den Nährböden gegenüber.

S. A. FUSARI und H. E. MACHAMER² sowie TH. H. HASKELL und QU. R. BARTZ³ schilderten die Methodik der Reindarstellung des Actinobolins ausführlich. Die Verfahren sind einander ähnlich und beruhen im wesentlichen auf der säulenchromatographischen Trennung an Darco G 60 und Dowex 50 (Na^+). Eluiert wird mit Natriumsulfat und Aceton. Wichtig ist die Entfernung von Metallionen, in erster Linie Eisen, mit Cu^{++} Terron in einem Gemisch von *n*-Butanol und Chloroform (50:50), da Actinobolin zu gewissen Metallen sehr affin ist.

Das isolierte Actinobolinsulfat hat eine Milligrammaktivität von etwa 80 E. Die Ausbeuten liegen bei 80 bis 90 %.

Actinobolin wurde als kristallines Acetat, als kristallines Sulfat und in Form der freien, hydrophilen Base isoliert, für welche die Summenformel $C_{13}H_{10-22}O_6N_2$ angenommen wurde³.

Sowohl die Base als auch ihre Salze sind gut wasserlöslich und können mit den gewöhnlichen organischen Medien aus der wäßrigen Lösung nicht vollständig isoliert werden. Die Base ist amphoter, die sauren Eigenschaften sind aber nur schwach. Ein Stickstoffatom kann bei der Van Slyke-Reaktion freigemacht werden, das zweite ist nicht basisch.

Das Actinobolinsulfat zeigt in 0,1*n* HCl ein Maximum bei 263 $m\mu$, in 0,1*n* NaOH ein Maximum bei 288 $m\mu$ und in 0,1*n* Phosphatpuffer (p_H 7,0) ein Maximum bei 264 $m\mu$. Im IR-Bereich zeigt es breite Absorption zwischen 3,0 und 3,8 μ , typisch für Amine; nachweisbar sind ferner Hydroxyl- und Aminogruppen (2,90 μ), Funktionen der Carbonylgruppe (5,90 μ) und Amidfunktionen (6,00 μ , 6,18 μ).

Actinobolin reagiert positiv mit Ninhydrin (Purpurfärbung) und Ferri-chlorid (rot), bildet mit Pauly-Diazo-Reagenz eine orangegefärbte Lösung, entfärbt Permanganatlösung bereits in der Kälte, reduziert Fehlingsche Lösung und gibt positive Reaktionen mit Jodoform und nach FOLIN-CIOCALTEAU. Die Proben nach MOLISCH, EHRLICH und ELSON-MORGAN sind negativ. Es enthält keine aktive Carbonylgruppe und nimmt mit Nickelkatalysatoren keinen Wasserstoff auf. Die Oxydation mit Jod in Natriumbicarbonatlösung führt unter Aktivitätsverlust und Änderung der Absorptionen im UV zur Abgabe von acht Elektronen.

Mit Metallen, insbesondere Eisen und Aluminium, bildet Actinobolin leicht Komplexe. Erstere sind tiefrot gefärbt, sie können mittels Cupferrons gelöst werden. Die Verwendung von Kationenaustauschern (Decalso, Na-Aluminiumsilikat) bei der Reinigung führt zur Bindung an Aluminiumionen und damit zu Schwierigkeiten bei der Reindarstellung (Kristallisation). Durch Oxinfällung und Adsorption an Dowex 50 kann das Aluminium entfernt werden.

Der Aluminiumchlorid-Komplex ist antibakteriell wirksam (70 E/mg, *Sarcina lutea*), er zeigt das gleiche UV-Spektrum; die optische Drehung ist aber stärker als bei Actinobolinsulfat [$\alpha_D^{26} = +138^\circ$ gegenüber $+54,5^\circ$].

In wäßriger Lösung ist Actinobolin bei p_H 3 am stabilsten (bei 37° C etwa eine Woche). Bei neutraler oder alkalischer Reaktion ist die wäßrige Lösung unbeständig und verliert bei Zimmertemperatur binnen 72 Stunden mehr als 70 % der Aktivität, was sich auch im UV-Spektrum verfolgen läßt.

Actinobolin wurde mit *Sarcina lutea* PCI 1001 W im Papierscheibentest geprüft^{1, 2, 3}.

Bacillus subtilis, *Escherichia coli*, *Mycobacterium phlei*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella typhimurium*, *Sarcina lutea* und *Micrococcus pyogenes* var. *aureus* werden durch Actinobolin in vitro gehemmt¹. Ebenso zeigten sich manche Protozoen empfindlich, gewisse Tumorformen werden gehemmt⁴. J. H. BURCHENAL et al.⁴ prüften unter anderem auch die Wirkung von Actinobolin auf *Streptococcus faecalis*. Im Plattentest zeigten sich Hemmzonen von 3 cm Durchmesser. Eisenchlorid (25 mg/ml) oder Aluminiumchlorid (16 mg/ml) hoben diese Hemmwirkungen infolge Komplexbildung auf, ebenso Magnesiumsulfat (gesättigte Lösung) und Ammoniummolybdat (133 mg/ml). Eisensulfat, Calciumgluconat, Cadmiumchlorid, Kupferacetat, Kobaltchlorid, Zinkacetat und Bariumchlorid inaktivieren Actinobolin nicht.

Wurden diese Salze in eben noch tolerierten Mengen mit Standard Dosen des Actinobolins intraperitoneal appliziert, so wurde die antileukämische Wirkung nicht beeinträchtigt. Die Kombination mit Eisenchlorid war toxischer als die anderen Verbindungen.

Actinobolin dürfte demnach nicht wie verschiedene andere Antibiotica und Antileucämica als Chelatbildner funktionieren.

R. F. PITILLO et al.⁸ stellten fest, daß die Wirkung des Actinobolins auf der Beeinflussung des Purinstoffwechsels beruht. Im Tierversuch war das Antibioticum gegen experimentelle Staphylokokkeninfektionen der Maus in hohen Dosen wirksam, ebenso gegen *Salmonella typhimurium*. *Diplococcus pneumoniae*, *Proteus vulgaris* und *Mycobacterium tuberculosis* sprachen dagegen nicht an.

Beim Küken wirkte es in Dosen von 125 bis 500 mg intraperitoneal rasch gegen Infektionen mit *Plasmodium lophurae*.

Wurminfektionen der Maus (*Schistosoma mansoni*, *Nematospiroides dubius*, *Syphacia obvelate*, *Apicularis tetraptera*, *Hymenolepis nana*) blieben unbeeinflusst.

R. F. PITILLO und Mitarbeiter¹ testeten Staphylokokken und Streptokokken hinsichtlich ihrer Resistenzentwicklung gegen Actinobolin. Sie tritt ziemlich rasch auf. Vorteilhaft ist jedoch, daß gegen die heute meist gebrauchten Antibiotica keine Kreuzresistenz besteht und Keime, welche gegen jene bereits resistent sind, mit Actinobolin bekämpft werden können. Keine Resistenz besteht ferner gegen Cytostatica, wie Amethopterin oder Mercaptopurin.

J. H. BURCHENAL et al.⁴, PH. C. MERKER und G. W. WOOLLEY⁵, K. SUGIURA und H. C. REILLY⁶ sowie M. N. TELLER et al.⁷ berichteten über Versuche mit Actinobolin bei verschiedenen Tumorformen der Versuchstiere und des Menschen.

Das Sarkom 180 der Maus verkleinerte sich nach 0,5 bis 2 g Actinobolinsulfat pro kg und Tag wesentlich, andere leukämische Tumorformen wurden durch 800 mg/kg/Tag zumindest gehemmt. Allerdings entwickelte sich im Laufe wiederholter Tierpassagen eine Resistenz gegen Actinobolin, beginnend etwa mit der elften Passage, komplett nach der fünfunddreißigsten.

1000 mg Actinobolin pro kg Körpergewicht pro Tag hemmten Sarkom 180 und Ehrlich-Carzinom (beides Ascitesformen) völlig, Carzinom 1025, Gliom 26 und Walker-Carzinom 256 deutlich, das Jensen-Sarkom (halbe Dosis!) und das Murphy-Sturm-Lymphosarkom hingegen nur schwach. Ascitestumoren sprechen also wesentlich besser an als Solidtumoren. Als Versuchstiere dienten Mäuse und Ratten.

In Tierversuchen mit menschlichem Sarkom 1 und Epidermoidcarzinom 3 konnten gute Hemmeffekte (40 bis 75 %) erzielt werden, wenn 24 Stunden nach der Inokulation 1000 mg/kg des Antibioticums intraperitoneal injiziert wurden. Allerdings ergab diese Dosierung vor allem im Falle des Sarkom 1 bereits starke toxische Nebenwirkungen. Orale Applikation zeigt nur geringe Effekte. Bereits konsolidierte Tumoren sprechen nur mehr wenig an.

Subcutane Gaben von 50 oder 100 mg/kg an Ratten ergaben nach 30 Minuten Serumspiegel von 31 bzw. 64 µg/ml. Orale Applikation bewirkte keine nachweisbaren Mengen im Serum.

Während der ersten sieben Stunden erschienen 44 bis 49 % der subcutan injizierten Menge Actinobolin im Harn, nach oraler Zufuhr hingegen nur 2 bis 4 %. Das Actinobolin reichert sich rasch in den Nieren an und wird rasch ausgeschieden.

Actinobolin ist für Mäuse, Ratten, Hunde und Affen wenig toxisch¹. Nach intravenöser Zufuhr lag die LD₅₀ für Mäuse bei etwa 800 mg/kg, für Ratten bei etwa 1550 mg/kg. Es kam zu Koordinationsstörungen, tonischen Krämp-

fen und Dyspnoe. Binnen zweier Minuten erfolgte der Tod durch Versagen der Atmung. Überlebende Tiere waren nach 15 bis 30 Minuten wieder normal.

Bei sechswöchiger Zufuhr von 125 bzw. 250 bis 500 mg Actinobolin pro Tag an Ratten kam es bei den hohen Dosen zu Nebenerscheinungen von seiten des Magen-Darm-Traktes (Freßunlust, Gewichtsverlust, weiche Stühle, Meteorismus). Das Blutbild war nicht beeinflusst. Bei Hunden, die intramuskulär 25 bis 100 mg/kg/Tag erhalten hatten, kam es zu Speichelfluß und Erbrechen. Ähnliche Wirkungen hatten 100 bis 200 mg/kg/Tag bei Rhesusaffen.

Histologisch fanden sich Alterationen im Verdauungstrakt, die aber reversibel schienen. Bei hohen Dosen zeigen auch die Tubuluszellen der Nieren leichte Vakuolisierung.

Patent

D.A.S 1 034 819 (1957) Parke, Davis (ANDERSON, L. E., HASKELL, TH. H., EHRLICH, J. und PITILLO, R. F.)

Literatur

- ¹ PITILLO, R. F. et al., Antibiotics Annual 1958/1959, 497
- ² FUSARI, S. A. und MACHAMER, H. E., Antibiotics Annual 1958/1959, 510
- ³ HASKELL, TH. H. und BARTZ, QU. R., Antibiotics Annual 1958/1959, 505
- ⁴ BURCHENAL, J. H., HOHNBERG, E. A. D. und REILLY, H. C., Antibiotics Annual 1958/1959, 528
- ⁵ MERKER, PH. C. und WOOLLEY, G. W., Antibiotics Annual 1958/1959, 515
- ⁶ SUGIURA, K. und REILLY, H. C., Antibiotics Annual 1958/1959, 522
- ⁷ TELLER, M. N. et al., Antibiotics Annual 1958/1959, 518
- ⁸ PITILLO, R. F., SCHNABEL, F. M. und QUINELLY, B. G., Antibiotics Chemoth. II 501 (1961)

ACTINOGAN

Nocardia humifera ATCC 13748 bildet unter üblichen submersen aeroben Bedingungen ein Actinogan genanntes hochmolekulares Glykopeptid, das aus der Kulturbrühe durch Ausfällen mit Aceton oder Ammoniumsulfat gewonnen werden kann (H. SCHMITZ et al.¹, D. A. S 1197194 bzw. A. P. 3060099). Das Molekulargewicht beträgt etwa 134000.

Die Substanz reagiert neutral, sie ist löslich in Wasser, unlöslich in organischen Lösungsmitteln und verliert in Dimethylsulfoxyd ihre biologische Wirkung. Sie ist optisch aktiv: $[\alpha]_D = +15,6^\circ$. Im UV-Licht gibt es eine Schulter bei 260 bis 280 m μ , im IR Banden bei 2,9, 3,4 und 6,06 μ m. In wäßriger Lösung bei Zimmertemperatur und p_H 4 bis 8 bleibt das Antibioticum

mindestens 2 Stunden stabil, 10 Minuten währendes Kochen zerstört die Aktivität.

In vitro konnte keine Wirkung gegen Bakterien oder Pilze festgestellt werden, aber bei mit *Staphylococcus aureus* oder *Klebsiella pneumoniae* infizierten Mäusen fand man eine starke Präventivwirkung, wenn das Antibioticum intraperitoneal verabreicht wurde. Intramuskuläre, orale oder intravenöse Verabreichung zeigten nur geringen bzw. gar keinen Effekt. Eine Kombination mit Penicillin oder Tetracyclin wird sehr günstig beurteilt (K. E. PRICE et al.²).

Die cytostatische Wirksamkeit des Actinogan wurde an 28 Mäusetumoren überprüft; bei 17 waren die Ergebnisse positiv (W. T. BRADNER et al.³). Leber und Milz der Tiere waren nicht vergrößert, auch eine Veränderung der Granulopoese konnte nicht nachgewiesen werden.

Bei Arbeiten zur Strukturaufklärung von Actinogan (H. SCHMITZ et al.⁴) wurden der Kohlenhydratteil und der Peptidteil getrennt. Der Kohlenhydratteil war biologisch inaktiv. Der Polypeptidteil war aktiv gegen Sarkom 180; er wurde Peptinogan genannt. Peptinogan hat ein Molgewicht von etwa 15000 und zersetzt sich bei 240° C, ohne zu schmelzen. Mittels Hydrolyse wurden 17 verschiedene Aminosäuren im Molekül gefunden.

Patente

D.A.S. 1197 194 (1965) Bristol-Myers (SCHMITZ, H., et al.)
A.P. 3 060 099 (1962) Bristol-Myers (SCHMITZ, H. et al.)

Literatur

- ¹ SCHMITZ, H. et al., Cancer Res. 22 163 (1962)
- ² PRICE, K. E. et al., Antimicrob. Ag. Chemoth. 1962, 543
- ³ BRADNER, W. T. et al., Cancer Res. 22 167 (1962)
- ⁴ SCHMITZ, H. et al., J. Med. Chem. 6 613 (1963)

ACTINOIDIN

Proactinomyces actinoides liefert in stickstoffreichen Medien das Antibioticum Actinoidin (W. A. ŠORIN et al.¹, G. F. GAUSE et al.²). Die letzteren verwendeten als Stickstoffquellen Hottinger-Bouillon oder Pepton bzw. Ammoniumsulfat, Ammoniumchlorid oder Kaliumnitrat als anorganische Salze, wobei dann Maisquellwasser zugesetzt werden mußte. Mit Hilfe von Calciumcarbonat wurde der pH-Wert bei 7,5 bis 8 gehalten. Als Kohlenstoffquelle erwies sich Glucose besser geeignet als Stärke. Die Ausbeuten betrugen bis 5000 E/mg. G. V. GAVRILINA⁵ erzielte optimale Ausbeuten mit einem