

Das aus Methanol in gelben Plättchen auskristallisierende Pikrat schmolz bei 159–161° und gab mit Äthanolaminpikrat keine Schmelzpunktserniedrigung.

$C_8H_7ON \cdot C_8H_7O_2N_3$  (290.1) Ber. C 33.02 H 3.49 N 19.30  
Gef. C 33.06 H 3.45 N 19.45

Der alkal.-wäßr. Rückstand der Wasserdampfdestillation wurde mit Salzsäure angesäuert und nach Zugabe von 2 ccm konz. Salzsäure mit Äther erschöpfend extrahiert. Der Ätherrückstand (6.08 g, ber. 6.9 g) wurde aus Alkohol umgelöst und hatte dann den Schmp. 194–196°; Misch-Schmp. mit Phthalsäure 189–194°.

Hydrolyse mit Salzsäure: 1.24 g III wurden mit 8*n* HCl einige Stunden im Rohr auf 180° erhitzt, der Rohrinhalt nach dem Erkalten mit Wasser verdünnt und mit Äther erschöpfend extrahiert. Der Ätherrückstand wurde aus Alkohol umkristallisiert; Schmp. 190–193°. Im Gemisch mit Phthalsäure trat keine Schmelzpunktserniedrigung auf. Die saure extrahierte Lösung wurde i. Vak. zur Trockne eingedampft und der Rückstand (Hydrazin-dihydrochlorid) mehrmals aus absol. Alkohol umgelöst; Schmp. 200–202°.

$N_2H_4 \cdot 2HCl$  (105.0) Ber. H 5.72 N 26.66 Cl 67.62 Gef. H 5.85 N 27.19 Cl 67.14

### 37. Marie-Elisabeth Fernholz und Hans Fernholz: Notiz über die Darstellung einiger Isoalloxazine\*)

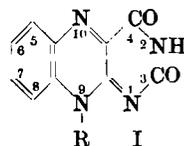
[Aus der Chemischen Abteilung des Allgemeinen Institutes gegen die Geschwulstkrankheiten im Rudolf-Virchow-Krankenhaus, Berlin]

(Eingegangen am 28. Oktober 1950)

Es wird die Darstellung einiger Derivate des Isoalloxazins beschrieben.

In einer früheren Mitteilung haben H. Lettré und M.-E. Fernholz eine Anzahl verschieden substituierter Isoalloxazine (Flavine) beschrieben<sup>1)</sup>. Bei der Austestung am Ascites-Tumor zeigten diese Verbindungen teilweise eine schwache hemmende Wirkung; an Tumorzellen in der Gewebekultur wurde eine starke Kernvergrößerung festgestellt<sup>2)</sup>.

H. Lettré berichtete neuerdings über die Ergebnisse der Prüfung einer Reihe von Isoalloxazinen auf den Mäuse-Ascites-Tumor<sup>3)</sup>, wobei Verbindungen Verwendung fanden, deren Darstellung bisher noch nicht beschrieben wurde. Für diese Untersuchungen wurden neben anderen die im Versuchsteil beschriebenen Derivate des Isoalloxazins (I) dargestellt. Es sind dies die 9-Phenyl-isoalloxazin-carbonsäure-(6) bzw. deren Methylester, das 7-Chlor- bzw. 7-Brom-9-phenyl-Derivat und das 7-Methoxy-9-phenyl-5.6-benzo-, 9-Methyl- bzw. 9-Äthyl-7.8-benzo-, 6.7-Dimethyl-9-äthyl- und 9-Phenyl-3-benzyl-5.6-benzo-isoalloxazin.



Die für die Kondensation mit Alloxan benötigten aromatischen *N*-monosubstituierten *o*-Diamine waren zum größten Teil schon bekannt oder wurden inzwischen beschrieben.

\*) Diese Arbeit wurde 1939–40 in Berlin durchgeführt. Jetzige Anschrift: Institut für experimentelle Krebsforschung der Universität Heidelberg. Hr. Prof. Dr. H. Lettré sind wir für die Anregung zu der vorliegenden Arbeit und seine Unterstützung bei ihrer Durchführung sehr zu Dank verpflichtet.

<sup>1)</sup> B. 73, 436 [1940].

<sup>2)</sup> H. Lettré, Angew. Chem. 53, 363 [1940].

<sup>3)</sup> Ztschr. f. Krebsforsch. 57, 1 [1950].

## Beschreibung der Versuche

## 9-Phenyl-isoalloxazin-carbonsäure-(6)

3.1 g 3-Amino-4-anilino-benzoesäure<sup>4)</sup>, in Eisessig gelöst, wurden zu einer heißen Lösung von 4.5 g Alloxan und 6 g Borsäure in Eisessig gegeben und bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach 1 Stde. wurde mit Wasser verdünnt und nach längerem Stehenlassen abgesaugt. Aus Eisessig kristallisierte das Reaktionsprodukt in feinen, gelben Nadeln, die bis 365° nicht schmolzen; Ausb. 3.3 g.

$C_{17}H_{10}O_4N_4$  (334.3) Ber. N 16.75 Gef. N 16.29

## 9-Phenyl-isoalloxazin-carbonsäure-(6)-methylester

1 g 3-Nitro-4-anilino-benzoesäure<sup>4)</sup> wurde 1 Stde. in 30 ccm mit Chlorwasserstoff gesättigtem Methanol auf dem Wasserbade unter Rückfluß gekocht. Nach dem Erkalten wurde abgesaugt und aus Äthanol umkristallisiert. 1 g des erhaltenen Methyl-esters vom Schmp. 126–128° wurde in äthanol. Lösung mit Natriumdithionit reduziert. Aus der eingeengten Lösung schied sich ein Gemisch zweier Substanzen ab. Durch Umkristallisieren aus Äthanol konnte daraus der gewünschte 3-Amino-4-anilino-benzoesäuremethylester in farblosen Nadeln vom Schmp. 101–103° rein erhalten werden.

0.75 g dieses Esters wurden wie oben mit 1 g Alloxan unter Zusatz von 1.5 g Borsäure kondensiert. Nach 1stdg. Stehenlassen wurde mit Wasser versetzt und der Niederschlag, der sich nach mehreren Stunden gebildet hatte, abgesaugt. Beim Erwärmen in Eisessig zersetzt sich die Verbindung. Aus Aceton gelbe Nadeln vom Schmp. 363° (Zers.); Ausb. 0.6 g.

$C_{15}H_{12}O_4N_4$  (348.3) Ber. N 16.08 Gef. N 15.82

## 7-Chlor-9-phenyl-isoalloxazin

2.5 g 5-Chlor-2-nitro-diphenylamin<sup>5)</sup> wurden in äthanol. Lösung mit Natriumdithionit reduziert. Der Alkohol wurde i. Vak. abgedampft und das ausgeschiedene ölige Diamin<sup>6)</sup> in Äther aufgenommen. Der nach dem Verdampfen des Äthers verbliebene Rückstand wurde in Eisessig gelöst und mit einer heißen Lösung von 3 g Alloxan und 4.5 g Borsäure in Eisessig vereinigt. Das Reaktionsprodukt kristallisierte schon in der Wärme aus. Nach Zugabe von Wasser wurde es abgesaugt und aus Eisessig umkristallisiert. Gelbe Nadeln, die bis 365° nicht schmolzen; Ausb. 0.7 g.

$C_{16}H_9O_2N_4Cl$  (324.7) Ber. Cl 10.93 Gef. Cl 10.36

## 7-Brom-9-phenyl-isoalloxazin

Diese Verbindung wurde in gleicher Weise wie das 7-Chlor-Derivat durch Vereinigung der Lösungen von 2 g 5-Brom-2-amino-diphenylamin-hydrochlorid<sup>7)</sup> und von 2 g Alloxan + 3 g Borsäure in Eisessig erhalten. Aus Eisessig kristallisierte sie in gelben Nadeln, die bis 365° nicht schmolzen; Ausb. 0.8 g.

$C_{16}H_9O_2N_4Br$  (369.2) Ber. N 15.17 Gef. N 14.77

## 7-Methoxy-9-phenyl-5.6-benz-isoalloxazin

Die Darstellung des 4-Amino-3-anilino-naphthol-(1)-methyläthers erfolgte analog der Beschreibung von H. Goldstein und Ph. Grandjean<sup>8)</sup>. 0.6 g des Diamin-hydrochlorids wurden in Eisessig gelöst und zu einer kochenden Lösung von 0.9 g Alloxan und 1.5 g Borsäure in Eisessig gegeben. Das Isoalloxazin-Derivat wurde daraus mit Wasser gefällt und aus Eisessig umkristallisiert. Gelbe, verfilzte Nadeln vom Schmp. 325°; Ausb. 0.4 g.

$C_{21}H_{14}O_3N_4$  (370.3) Ber. N 15.12 Gef. N 14.74

<sup>4)</sup> M. Schöpff, B. 22, 3281 [1889]. <sup>5)</sup> F. Ullmann, A. 332, 82 [1904].

<sup>6)</sup> Vergl. O. Ernst, B. 23, 3423 [1890]; P. Jacobson, A. 303, 82 [1898].

<sup>7)</sup> P. Jacobson, A. 303, 290 [1898]. <sup>8)</sup> Helv. chim. Acta 26, 468 [1943].

## 9-Methyl-7.8-benz-isoalloxazin

Das zur Synthese dieser Verbindung notwendige *N*<sup>1</sup>-Methyl-naphthylendiamin-(1.2) erhielten wir aus 2-Nitro-naphthylamin-(1), und zwar nach einer Methode, die zur Darstellung des isomeren *N*<sup>2</sup>-Methyl-diamins<sup>9)</sup> angewandt war. Der Weg erschien zunächst als umständlicher, da sich bei der Umsetzung des 2-Nitro-naphthylamins-(1) mit *p*-Toluolsulfochlorid stets die Disulfonyl-Verbindung bildete, die aber leicht zum Monosulfonat verseift werden konnte.

*N,N*-Bis-*p*-toluolsulfonyl-2-nitro-naphthylamin-(1): 3 g 2-Nitro-naphthylamin-(1)<sup>10)</sup> wurden mit 8 g *p*-Toluolsulfochlorid in 10 ccm Pyridin 8 Stdn. auf dem Wasserbade erwärmt. Die Lösung wurde danach in etwa 400 ccm Wasser eingegossen, wobei das Reaktionsprodukt sich zunächst ölig ausschied, aber nach einiger Zeit eine feste Masse bildete. Es wurde aus Eisessig umkristallisiert und in gelben Nadeln vom Schmp. 226° erhalten.

$C_{24}H_{20}O_6N_2S_2$  (496.5) Ber. C 58.05 H 4.07 N 5.64 Gef. C 58.07 H 3.97 N 5.76

*N-p*-Toluolsulfonyl-2-nitro-naphthylamin-(1): 3.8 g der Bistoluolsulfonyl-Verbindung wurden in einer Lösung von 3.2 g Natrium in 75 ccm Äthanol 1 Stde. gekocht. Danach wurde mit Essigsäure angesäuert und die Monotoluolsulfonyl-Verbindung mit Wasser gefällt. Aus Alkohol gelbe Nadeln vom Schmp. 164–165°<sup>11)</sup>; Ausb. 1.9 g.

$C_{17}H_{14}O_4N_2S$  (342.4) Ber. N 8.18 Gef. N 7.93

*N-p*-Toluolsulfonyl-*N*-methyl-2-nitro-naphthylamin-(1): 1.9 g Monotoluolsulfonyl-Verbindung wurden in 20 ccm *n* KOH und 5 ccm Alkohol gelöst, dann bei 60–70° mit 4.5 ccm Dimethylsulfat versetzt. Das ausgeschiedene Methyl-Derivat wurde aus Äthanol umkristallisiert. Farblose Nadeln vom Schmp. 151–152°; Ausb. 1.8 g.

$C_{18}H_{16}O_4N_2S$  (356.4) Ber. N 7.86 Gef. N 7.79

*N*-Methyl-2-nitro-naphthylamin-(1): 2,8 g der vorstehenden Verbindung wurden in 15 ccm Eisessig und 30 ccm konz. Schwefelsäure bis zur vollständigen Lösung auf dem Wasserbade erwärmt. Das erkaltete Reaktionsprodukt wurde in Wasser eingegossen und der Niederschlag aus Alkohol umkristallisiert. Rote Nadeln vom Schmp. 113°<sup>12)</sup>; Ausb. 1.3 g.

Zu einer heißen alkoholischen Lösung von 1.3 g des so erhaltenen *N*-Methyl-2-nitro-naphthylamins-(1) wurde bis zur Entfärbung eine wäbr. Natriumdithionit-Lösung gegeben. Danach wurde filtriert und der Alkohol i. Vak. unter Kohlendioxid verdampft. Das Reaktionsprodukt wurde ausgeäthert, der Äther verdampft, der Rückstand in Eisessig aufgenommen und zu einer heißen Lösung von 1.5 g Alloxan und 2 g Borsäure gegeben. Das 9-Methyl-7.8-benz-isoalloxazin kristallisierte schon in der Wärme aus. Es wurde durch Zugabe von Wasser vollständig gefällt und aus Eisessig umkristallisiert. Orangerote Nadeln vom Schmp. 282° (Zers.); Ausb 1.2 g.

$C_{18}H_{10}O_2N_4$  (278.3) Ber. C 64.74 H 3.62 Gef. C 65.02 H 3.84

In analoger Weise wurde das 9-Äthyl-7.8-benz-isoalloxazin dargestellt. Aus Eisessig + Alkohol (3 : 1) gelbe Nadeln vom Schmp. 278–280°.

$C_{16}H_{18}O_2N_4$  (292.3) Ber. N 19.16 Gef. N 18.73

## 6.7-Dimethyl-9-äthyl-isoalloxazin

Die Darstellung dieser Verbindung erfolgte analog der Synthese des Lumi-lactoflavins<sup>13)</sup>. Aus Eisessig + Methanol erbe, gelbe Kristalle vom Schmp. 322° (Zers.).

$C_{14}H_{14}O_2N_4$  (270.3) Ber. N 20.72 Gef. N 20.81

<sup>9)</sup> G. T. Morgan u. F. M. G. Micklethwait, Journ. chem. Soc. London **101**, 143 [1912].

<sup>10)</sup> E. Lellmann, B. **20**, 391 [1887].

<sup>11)</sup> Nach R. Condsen u. J. Kenyon (Journ. chem. Soc. London **1935**, 1591) besitzt die Verbindung den Schmp. 154°.

<sup>12)</sup> Vergl. A. P. J. Hoogeven, Rec. Trav. chim. Pays-Bas **50**, 37 [1931].

<sup>13)</sup> R. Kuhn u. K. Reinemund, B. **67**, 1932 [1934].

## 9-Phenyl-3-benzyl-5.6-benz-isoalloxazin

9-Phenyl-5.6-benz-isoalloxazin<sup>1)</sup> wurde in Wasser aufgeschwemmt und durch Zutropfen von verd. Natronlauge in Lösung gebracht. Die überschüss. Natronlauge wurde dann durch Zugabe von verd. Salpetersäure neutralisiert, bis eine geringe Trübung auftrat. Nach dem Filtrieren wurde mit Silbernitrat-Lösung im Überschuß versetzt, der entstandene Niederschlag zentrifugiert, zweimal mit Alkohol + Äther ausgewaschen und scharf getrocknet.

0.3 g dieses Silbersalzes wurden in überschüss. Benzylchlorid 6 Stdn. gekocht, dann das Benzylchlorid i. Vak. abdestilliert und der Rückstand mit Chloroform ausgezogen. Der nach dem Verdampfen des Chloroforms verbliebene Rückstand wurde wiederholt aus Benzol umkristallisiert. Orangefarbene Nadeln vom Schmp. 318–319°; Ausb. 0.14 g.

$C_{27}H_{18}O_2N_4$  (430.4) Ber. N 13.01 Gef. N 12.80

### 38. Hans Brockmann, Nikolaus Grubhofer, Wilhelm Kass und Hans Kalbe: Über das Actinomycin C (Antibiotica aus Actinomyceten, V. Mitteil. \*)

[Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen]  
(Eingegangen am 6. November 1950)

Aus einer bisher unbekanntem *Streptomyces*-Art, die als *Str. chrysomallus* bezeichnet ist, wurde Actinomycin C, ein rotes Antibioticum, isoliert, das Unterschiede gegenüber Actinomycin A und B aufweist. Durch energische Säurehydrolyse lassen sich aus Actinomycin C sechs Aminosäuren abspalten, die als *l*-Threonin, *d*-Valin, Sarkosin, *d*-Allo-isoleucin, *l*-Prolin und *N*-Methyl-*l*-valin identifiziert wurden. Bei der Hydrolyse mit Bariumhydroxyd entsteht eine rote, kristallisierte Verbindung, die dem chromophoren Teil des Actinomycins C entstammt. Die Actinomycine sind eine neuartige Gruppe von Naturstoffen, in denen eine chromophore Komponente wahrscheinlich peptidartig mit verschiedenen Aminosäuren verbunden ist.

#### I.) Einleitung

Bei unseren Untersuchungen über Antibiotica aus Actinomyceten stießen wir auf einen *Streptomyces*-Stamm<sup>1)</sup>, dessen gelbe Kulturlösung gegen *Staphylococcus aureus* bakteriostatisch stark wirksam war. Durch Extraktion der Nährlösung mit Butylacetat und chromatographische Adsorption von dessen Verdampfungsrückstand konnte eine gut kristallisierte, alizarinrote Verbindung mit dem Schmp. 252° und  $[\alpha]_D^{17}$ :  $-309^0 (\pm 3^0)$  isoliert werden, die bis zur Verdünnung 1:10000000 das Wachstum von *Staphylococcus aureus* und bis

\*) I.–IV. Mitteil.: Naturwiss. 36, 376 [1949], 37, 138, 492, 494 [1950].

Anm. d. Redaktion: Die in dieser Arbeit benutzten Bezeichnungen *d* und *l* bedeuten im Sinne von Wohl u. Freudenberg (B. 56, 309 [1923]) die Konfiguration bezogen auf *d*-(+)-Glycerinaldehyd.

<sup>1)</sup> Nach W. Lindenbein, der darüber an anderer Stelle berichten wird, ist dieser Stamm mit keiner der im Berges Manual of Determinative Bacteriology (6. Aufl. 1948) beschriebenen Spezies identisch. Insbesondere unterscheidet er sich erheblich von *Streptomyces antibioticus*, dem Actinomycinbildner S. A. Waksmans. Er wurde daher als neue Spezies mit dem Namen *Str. chrysomallus* belegt.