

Radikalartige (semichinoide) Zwischenstufen wurden bei der Reduktion heterocyclischer Stickstoffverbindungen schon mehrfach beobachtet. So schreibt *L. Michaelis*¹⁾ einer grünen Zwischenstufe, die sich bei der Reduktion des Pyocyanins bildet, Radikalnatur zu, *Elema* dem grünen Chlororafin²⁾ und auch eine rote Hydrierungsstufe des Lactoflavins wurde als Radikal aufgefasst³⁾. In diesen Fällen werden die genannten Zwischenstufen aber nur bei der Reduktion in stark saurem Medium, also eigentlich nicht in biologischem p_H -Bereich beobachtet⁴⁾. Im Gegensatz hierzu bildet sich die gelb-orange Reduktions-Zwischenstufe des Nicotinsäure-amid-jodmethylats und analoger Pyridiniumverbindungen bereits bei sehr schwach alkalischer Reaktion (z. B. $p_H = 8,0$); es ist daher möglich, dass analoge Reduktionsstufen der Cofermente bei Reduktionsprozessen in der Zelle gebildet werden und für die Atmungsprozesse Bedeutung haben.

Zu unserer ersten Mitteilung über Reduktionsprodukte des Nicotinsäure-amid-jodmethylats haben wir weiter nachzutragen, dass das N-Methyl-ortho-dihydro-nicotinsäure-amid (reversibles Reduktionsprodukt), welches wir früher nur als Öl erhielten, in einem Fall nach längerem Aufbewahren im Hochvakuum in Nadeln kristallisierte.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

126. Über ein Aminoflavin, das 9-[2'-Aminoäthyl]-iso-alloxazin

von P. Karrer und R. Naef.

(25. VIII. 36.)

Flavine mit Aminogruppen-haltigen Seitenketten waren bisher unbekannt. Ein Interesse für solche Verbindungen besteht im Zusammenhang mit der Frage der Ursache der Lichtempfindlichkeit der Flavine. Wir haben daher ein Aminoflavin dargestellt, was allerdings nur auf einem Umweg gelang.

o-Nitrochlorbenzol wurde mit Äthanolamin zum N-[o-Nitrophenyl]-colamin (I) kondensiert, in letzterem die Hydroxylgruppe mittelst Phosphorpentachlorid durch Chlor ersetzt und das gebildete N-[β -Chloräthyl]-o-nitranilin (II) mit Phtalimidkalium umgesetzt. Das N-[Phtalimidoäthyl]-o-nitranilin (III) reduzierten wir zum

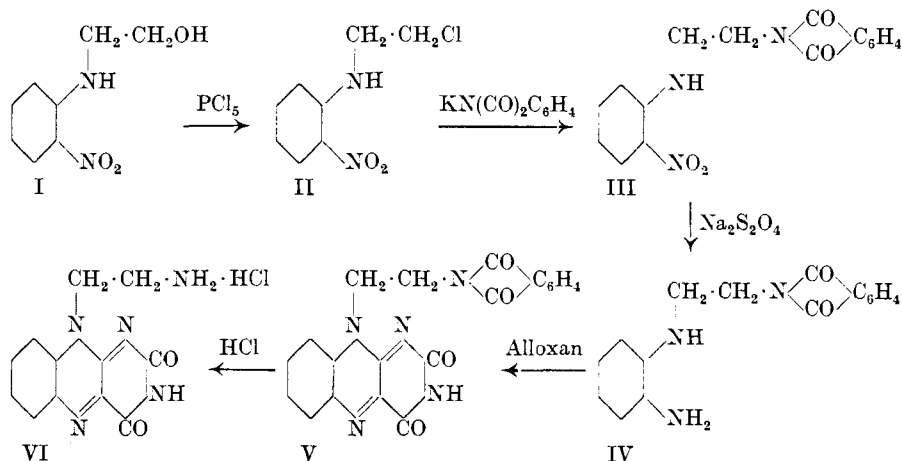
¹⁾ J. Biol. Ch. **92**, 211 (1931), Naturw. **19**, 461 (1931). *Friedheim* und *Michaelis*, J. Biol. Ch. **91**, 355 (1931).

²⁾ R. **52**, 569 (1933).

³⁾ *R. Kühn* und *Wagner-Jauregg*, B. **67**, 361 (1934).

⁴⁾ Vgl. dagegen den Erklärungsversuch der natürlichen Chlororafinbildung von *Elema*, R. **52**, 569 (1933).

N-[Phtalimido-äthyl]-o-phenylendiamin (IV) und kondensierten dieses mit Alloxan (oder Alloxanderivaten) zum 9-[2'-Phtalimido-äthyl]-iso-alloxazin (V). Dieses Phtalylderivat konnte schliesslich mit Salzsäure zum 9-[2'-Amino-äthyl]-iso-alloxazin (VI) verseift werden.



Alle Verbindungen dieser Reaktionsfolge krystallisieren sehr gut und wurden rein isoliert.

9-[2'-Aminoäthyl]-iso-alloxazin-chlorhydrat ist ein hellgelber, in heissem Wasser leicht, in kaltem schwerer löslicher Körper, krystallisiert in flachen, plättchenförmigen Krystallen. Der Zersetzungspunkt liegt sehr hoch.

Bei der Reduktion des 9-[2'-Aminoäthyl]-iso-alloxazins in verdünnter Salzsäure mit Zink bildet sich, ähnlich wie bei Lactoflavin¹⁾, ein tiefer gefärbtes Zwischenprodukt, das in unserem Fall eine rotbraune Färbung der Lösung hervorruft.

Besonderes Interesse kommt dem Verhalten des 9-[2'-Aminoäthyl]-iso-alloxazins im Licht zu. Bei der Bestrahlung der alkalischen Lösung durch Sonnenlicht wird die Farbe der Flüssigkeit allmählich dunkler, aber es bildet sich kein Chloroform-lösliches Pigment; der Lumiflavinabbau, der nach *Warburg* und *Christian* bei der alkalischen Photolyse des Lactoflavins erfolgt und auch bei anderen Flavinen mit hydroxylhaltigen Seitenketten beobachtet wird, tritt also beim 9-[2'-Amino-äthyl]-iso-alloxazin nicht ein.

Auch bei Belichtung in neutralem bzw. essigsäurem Medium bestehen Unterschiede zwischen unserem Aminoflavin und den bekannten Oxyflavinen mit hydroxylhaltiger Seitenkette in Stellung 9. Während letztere dabei Lumichrom liefern²⁾, wobei sich die bestrahlte Flüssigkeit fast oder vollständig entfärbt, wird eine Auflösung des

¹⁾ *R. Kuhn* und *Th. Wagner-Jauregg*, B. **67**, 361 (1934).

²⁾ *P. Karrer*, *Salomon*, *Schöpp*, *Schlittler*, *Fritzsche*, Helv. **17**, 1010 (1934).

9-[2'-Amino-äthyl]-iso-alloxazins in 75-proz. Methanol bei der Belichtung allmählich dunkler und missfarben. Lumichrom liess sich in der bestrahlten Flüssigkeit nur in Spuren nachweisen; die Photolyse verläuft demnach viel weniger einheitlich und unvollständiger als bei den Oxyflavinen.

Bereits in einer unserer ersten Abhandlungen über den Lumichromabbau der Flavine¹⁾ hatten wir darauf hingewiesen, dass die Voraussetzung für den Eintritt dieses Lichtabbaus die Anwesenheit alkoholischer Hydroxylgruppen in der in Stellung 9 der Flavinemolekel befindlichen Seitenkette ist. Fast gleichzeitig und unabhängig von uns hat *W. Koschara*²⁾ bei der Untersuchung der alkalischen Photolyse des Lactoflavins nach *Warburg* und *Christian* die Vorstellung entwickelt, dass der Lumiflavinabbau mit Dehydrierungsprozessen verbunden ist, wobei alkoholische Seitenketten der Flavinemolekel zu Carbonylgruppen dehydriert werden. Diese Annahme wurde durch Versuche gestützt, bei denen es *Koschara* gelang, die Wirkung des Lichts in Verbindung mit Luftsauerstoff auf Flavin durch die Einwirkung von Wasserstoffperoxyd ohne Licht nachzuahmen.

Unsere weiteren Untersuchungen über den Lumichromabbau, bei denen wir in einzelnen Fällen solche Dehydrierungsprodukte fassen konnten³⁾, lieferten die Erklärung für die von uns aufgefundene Voraussetzung des Lumichromabbaus (Hydroxyle in der Seitenkette) und bestätigten die Ansicht *Koschara's*, dass die Lichtspaltung der Flavine mit Dehydrierungsvorgängen verknüpft ist.

Durch die vorliegende Untersuchung ist nun der Nachweis geleistet worden, dass Amino- statt Hydroxylgruppen in der Seitenkette der Flavine die Pigmente gegen Licht nicht in gleicher Weise sensibilisieren. Auch 9-[2'-Amino-äthyl]-iso-alloxazin wird durch Licht verändert; die Lichtzersetzung verläuft aber nicht so leicht, dass sie in eine bestimmte, einheitliche Bahn gesteuert wird.

Experimenteller Teil.

o-Nitrophenyl-colamin⁴⁾ (Formel I).

Das Gemisch von 19,5 g Colamin, 70 g *o*-Nitrochlorbenzol und 50 g wasserfreiem Pyridin wird 4 Stunden am Rückfluss zum Sieden erhitzt. Hierauf vertreibt man überschüssiges *o*-Nitrochlorbenzol durch Destillation mit Wasserdampf und engt den Rückstand im Vakuum stark ein. Das zurückbleibende, dunkle Öl erstarrt beim Abkühlen zu einem roten Kuchen und wird unter Tierkohlezusatz aus verdünntem Alkohol mehrmals umkrystallisiert. Ausbeute 18 g. *o*-Nitrophenyl-colamin bildet orangerote Krystalle. Smp. 76°.

¹⁾ Helv. 17, 1165 (1934).

³⁾ Helv. 19, 261 (1936).

²⁾ Z. physiol. Ch. 299, 103 (1934).

⁴⁾ Vgl. Helv. 17, 1516 (1934).

Ein Monoacetylderivat des *o*-Nitrophenyl-colamins entsteht bei der Acetylierung mit Essigsäure-anhydrid in Pyridin (1 Stunde auf 60° erhitzen). Nach dem Ausfällen mit Wasser wurde die Verbindung aus Alkohol und aus Äther umkrystallisiert. Gelbe Nadeln aus Alkohol, trapezförmige Krystalle aus Äther. Smp. 67°. Ausbeute 90 % der Theorie.

$C_{10}H_{12}O_4N_2$	Ber. C 53,57	H 5,35%
	Gef. „ 53,34	„ 5,25%

Da sich dieses Acetat in konz. Salzsäure löst, ist es wahrscheinlich, dass die OH-Gruppe acetyliert wurde und am Stickstoff kein Acetyl eingetreten ist.

N-[β -Chloräthyl]-*o*-nitranilin [Formel II].

In einem Dreihalskolben werden 40 g Phosphorpentachlorid (2 Mol) mit trockenem Chloroform überschichtet. Der Kolben befindet sich in einer Eis-Kochsalz-Mischung; er ist mit einem mit Calciumchloridrohr verschlossenen Kühler und einem Tropftrichter versehen. Man gibt tropfenweise eine Lösung von 25 g *o*-Nitrophenyl-colamin (1 Mol) in trockenem Chloroform hinzu und lässt die Mischung 2 Tage bei Zimmertemperatur stehen. Hierauf wird die Chloroformschicht so lange mit Natriumacetat-haltigem Wasser gewaschen, bis die Waschwässer Kongopapier nicht mehr bläuen. Dann trocknet man die Chloroformlösung mit Natriumsulfat und engt sie im Vakuum bei Zimmertemperatur bis zur öligen Konsistenz ein. Bei Zusatz einiger Tropfen Alkohol erstarrt das Öl in der Kälte. Das so erhaltene *N*-[β -Chloräthyl]-*o*-nitranilin wird, aus heissem absolutem Alkohol umkrystallisiert, in Form orangegelber, langer Krystallnadeln erhalten. Ausbeute 24,7 g, d. i. 90 % der Theorie. Smp. 59°.

$C_9H_9O_2N_2Cl$	Ber. C 47,88	H 4,49	Cl 17,70%
	Gef. „ 48,09	„ 4,15	„ 17,80%

N-[Phtalimido-äthyl]-*o*-nitranilin [Formel III].

Molare Mengen *N*-[β -Chloräthyl]-*o*-nitranilin und Phtalimidkalium werden innig verrieben und in einem mit Kühler versehenen Rundkolben 2 Stunden auf 170° erhitzt. Nach dem Abkühlen des Kondensationsproduktes erwärmt man dieses mit verdünnter wässriger Natronlauge auf dem Wasserbad, wobei es zu einem gelben Niederschlag zerfällt. Dieser wird abgenutscht, mit Alkohol ausgekocht und hierauf aus heissem Eisessig umkrystallisiert. Man erhält *N*-[Phtalimido-äthyl]-*o*-nitranilin so in gelben Blättchen vom Smp. 184°. Ausbeute 7 g aus 5,2 g Chlorverbindung, d. h. 80 % der Theorie.

$C_{16}H_{13}O_4N_3$	Ber. N 13,50	Gef. N 13,48%
----------------------	--------------	---------------

N-[Phtalimido-äthyl]-*o*-phenylendiamin (Formel IV).

5 g *N*-[Phtalimido-äthyl]-*o*-nitranilin werden in 600 cm³ 50-proz. Alkohol in der Wärme gelöst. Durch allmähliche Zugabe von 12 g

Natriumhyposulfit wird die Nitrogruppe reduziert, die farblos gewordene Lösung filtriert und im Vakuum so weit eingengt, bis ein hellgelber Niederschlag ausfällt, der sich beim Abkühlen weiter vermehrt. Das abgenutzte Reduktionsprodukt kann aus verdünntem Alkohol (Tierkohlezusatz) umkrystallisiert werden. Aus konzentrierten Lösungen wird es in hellgelben Blättchen, aus verdünnter Lösung in haarfeinen gelben Nadeln erhalten. Smp. 124°. Ausbeute 80 % der Theorie.

$C_{16}H_{15}O_2N_3$	Ber. C 68,32	H 5,34	N 14,98%
	Gef. „ 68,10	„ 5,25	„ 14,87%

9-[2'-Phtalimido-äthyl]-iso-alloxazin (Formel V).

0,2 g N-[Phtalimido-äthyl]-o-phenylendiamin wurden in 15 cm³ Wasser aufgeschlämmt und tropfenweise so viel konzentrierte Salzsäure zugefügt, bis die Verbindung als Chlorhydrat in Lösung gegangen war und die Flüssigkeit deutlich kongosauer reagierte. Hierauf gaben wir 0,2 g Alloxanthin hinzu und erhitzen zum Sieden. Nach einigen Minuten begannen sich aus der noch heißen Flüssigkeit Krystalle abzuscheiden, deren Menge beim Abkühlen stark zunahm. Das ausgefallene Flavin wurde abgesaugt, in verdünntem Pyridin heiss gelöst, die Lösung mit wenig Tierkohle gekocht und im Vakuum eingengt. Dabei krystallisierte das 9-[2'-Phtalimido-äthyl]-iso-alloxazin in gelben Spindeln und Nadeln, die zum Teil zu Aggregaten verwachsen sind. Die Verbindung ist in den meisten Lösungsmitteln, auch in kochendem Wasser, sehr schwer löslich. Zersetzungspunkt ca. 285° (unkorr.).

Analyse nach 4stündigem Trocknen bei 140°.

$C_{20}H_{13}O_4N_5$	Ber. C 61,90	H 3,36	N 19,28%
	Gef. „ 61,76	„ 3,49	„ 19,42%

9-[2'-Aminoäthyl]-iso-alloxazin-chlorhydrat [Formel VI].

Zum Zwecke der Abspaltung des Phtalsäurerestes aus der vorbeschriebenen Verbindung wurden 0,7 g derselben mit 17,5 cm³ konzentrierter Salzsäure (d = 1,19) und 3,5 cm³ Eisessig im Bombenrohr 3 Stunden auf 100° erhitzt. Hierauf engte man die klare Lösung im Vakuum ein, wobei sich ein gelber Niederschlag ausschied. Dieser ist nicht einheitlich. Zur Trennung wird er mit wenig Wasser aufgeköcht, wobei 9-[2'-Aminoäthyl]-iso-alloxazin-chlorhydrat in Lösung geht, während Phtalsäure ungelöst bleibt. Das Filtrat engten wir im Vakuum bis zur Trübung ein und stellten es in den Eisschrank. Dabei schied sich ein gelber, krystalliner Niederschlag aus, den man aus heissem Wasser umkrystallisierte. Ausbeute 0,3 g. Das 9-[2'-Aminoäthyl]-iso-alloxazin-chlorhydrat bildet mikroskopische, blättchenartige Krystalle und zersetzt sich erst weit über 300°.

$C_{12}H_{12}O_2N_3Cl$	Ber. C 49,14	H 4,10%
	Gef. „ 49,01	„ 4,03%

Zürich, Chemisches Institut der Universität.