

The starting material for the dearomatizations (7) has been synthesized from 1,5-di-(*p*-methoxyphenyl)-pentan-3-one (1a) via a modified GUARESCHI synthesis, followed by mild hydrolysis with decarboxylation, lithium-aluminium hydride reduction, and finally treatment with hydrobromic acid.

Some spectral properties of the dienones are discussed and some side-reactions are mentioned.

Organisch-chemisches Institut der Universität Zürich

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] S. WINSTEIN & R. BAIRD, J. Amer. chem. Soc. 79, 756 (1957).
- [2] A. S. DREIDING, Helv. 40, 1812 (1957).
- [3] R. BAIRD & S. WINSTEIN, J. Amer. chem. Soc. 79, 4238 (1957); R. BARNER, A. S. DREIDING & H. SCHMID, Chemistry & Ind. 1958, 1437; S. DORLING & J. HARLEY-MASON, *ibid.* 1959, 1551; S. MASAMUNE, J. Amer. chem. Soc. 83, 1009 (1961).
- [4] S. WINSTEIN, R. HECK, S. LAPPORTE & R. BAIRD, Experientia 12, 138 (1956).
- [5] I. GUARESCHI, Atti R. Accad. Sci. Torino 36, 443 (1900–1901).
- [6] F. B. THOLE & J. F. THORPE, J. chem. Soc. 99, 422 (1911).
- [7] S. M. McELVAIN & D. H. CLEMENS, J. Amer. chem. Soc. 80, 3915 (1958).
- [8] W. BORSCHKE, Ber. deutsch. chem. Ges. 45, 46 (1912).
- [9] G. FARGES & A. S. DREIDING, Helv. 49, 552 (1966).
- [10] H. A. P. DE JONGH & H. WYNBERG, Tetrahedron 20, 2553 (1964).
- [11] W. v. PHILIPSBORN, Habilitationsarbeit, Universität Zürich, 1962.
- [12] L. J. HAYNES, K. L. STUART, D. H. R. BARTON & G. W. KIRBY, Proc. chem. Soc. 1964, 261.
- [13] K. BERNAUER, Helv. 46, 1783 (1963); M. P. CAVA, K. NOMURA, R. H. SCHLESSINGER, K. T. BUCK, B. DOUGLAS, R. F. RAFFAUF & J. A. WEISBACH, Chemistry & Ind. 1964, 282.
- [14] J. G. PRITCHARD & P. C. LAUTERBUR, J. Amer. chem. Soc. 83, 2105 (1961).
- [15] A. C. COPE & E. M. HANCOCK, Org. Synth. 25, 46 (1945).
- [16] W. BORSCHKE, Ber. deutsch. chem. Ges. 52, 2078 (1919).
- [17] M. F. ANSELL & B. GADSBY, J. chem. Soc. 1959, 2995.

5. Fluoreszierende Stoffe aus Roten Waldameisen der Gattung *Formica* (*Ins. Hym.*)

5. Mitteilung [1]

Isolierung von Lumazin-Derivaten aus Ameisenmännchen

von G. H. Schmidt¹⁾ und M. Viscontini²⁾

(7. XI. 66)

Bisher haben wir über fluoreszierende Stoffe aus Waldameisenmännchen, die zu den Pterinen und Flavinen gehörten, berichtet [1] [2]. Unsere Analysen ergaben jedoch, dass bei diesen fluoreszierenden Stoffen auch eine Reihe von Lumazinderivaten vertreten sind, und so beschreiben wir nachstehend die Isolierung von sechs Substanzen dieser Stoffklasse.

MASUDA [3] hat als erster Lumazinderivate in der Natur gefunden, indem er aus der Hefe *Eremothecium ashbyii* das 8-Ribityl-6-methyl-7-oxo-7,8-dihydrolumazin (IV)

¹⁾ Institut für angewandte Zoologie der Universität Würzburg.

²⁾ Organisch-Chemisches Institut der Universität Zürich.

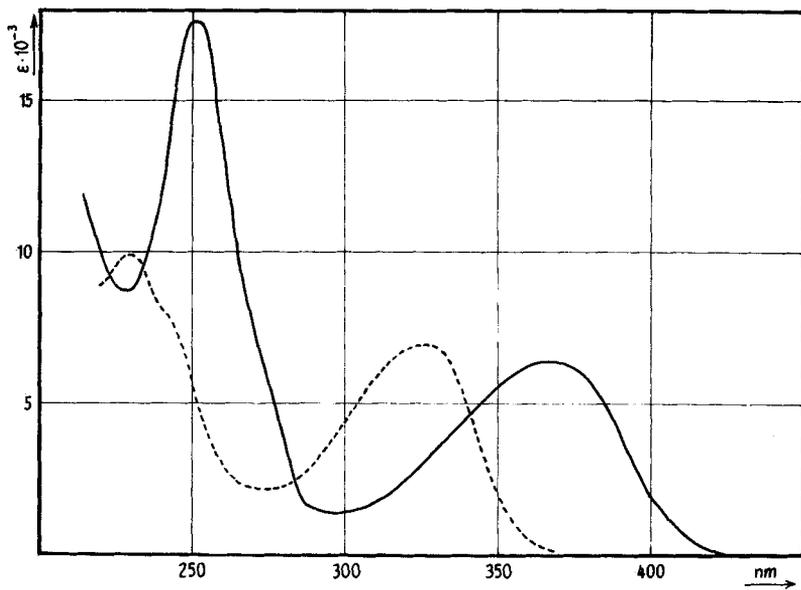


Fig. 1. UV.-Spektrum des Lumazins (I) (aus Ameisen sowie synthetisch)
 ----- pH 1 ————— pH 12

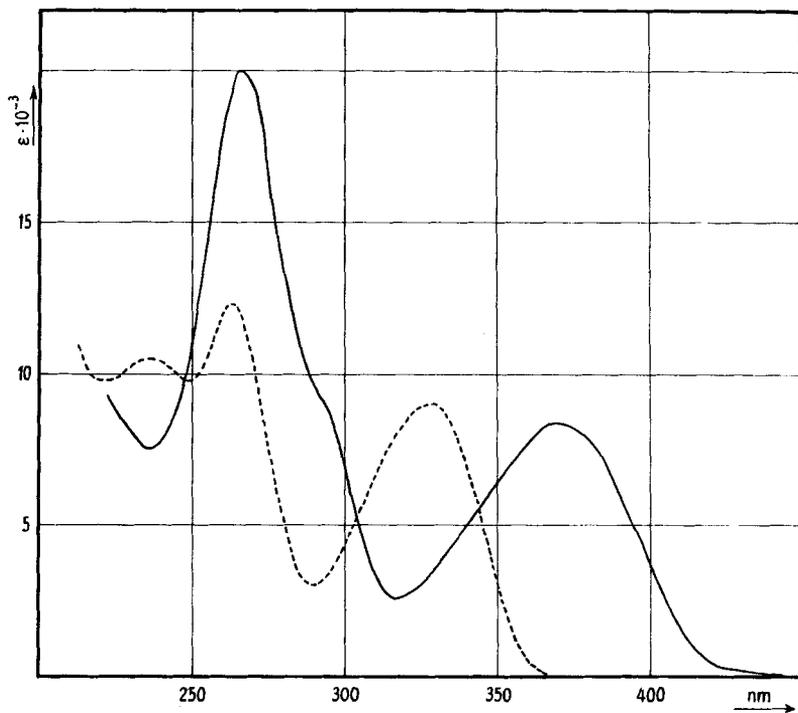
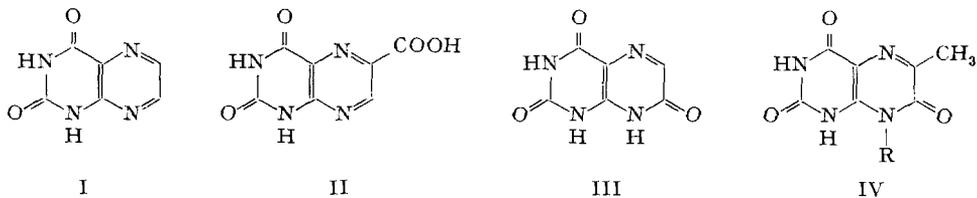


Fig. 2. UV.-Spektrum der Lumazin-6-carbonsäure (II) (aus Ameisen sowie synthetisch)
 ----- pH 1 ————— pH 12

sowie das 8-Ribityl-6,7-dimethyl-lumazin isolierte. Beide Verbindungen wurden später auch in der Hefe *Ashbya gossypii* gefunden [4], und ihre Bedeutung wurde in Zusammenhang mit der Biosynthese des Riboflavins in dieser Hefe diskutiert. In



R = Ribityl

mehrzelligen Organismen wurden diese Verbindungen bisher nicht nachgewiesen. Dagegen fand REMBOLD [5] in der Honigbiene 7-Oxo-7,8-dihydrolumazin (III) (von ihm Violapterin³) benannt). Etwa gleichzeitig wurde dieses Produkt auch in einer

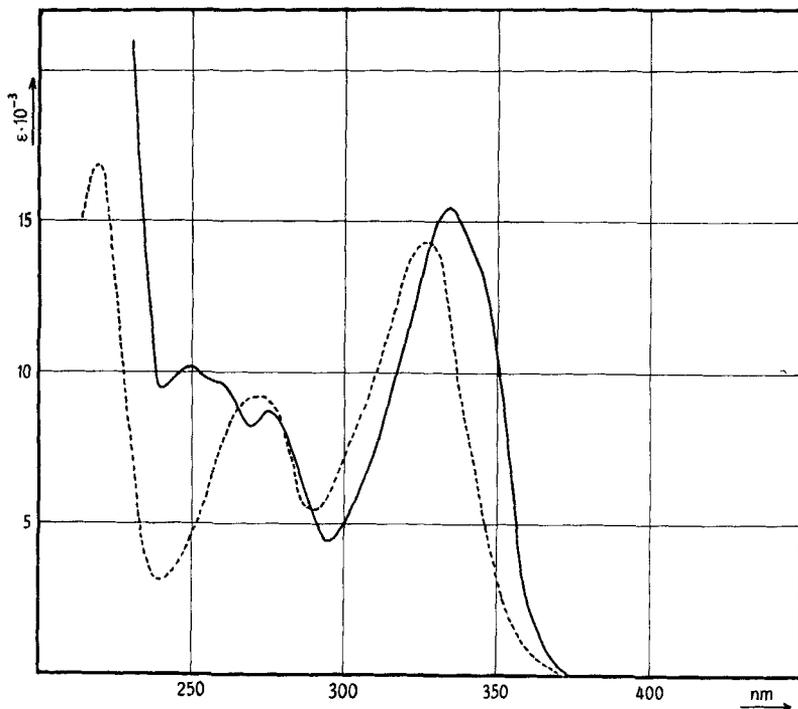


Fig. 3. UV.-Spektren des Isoxantholumazins (III)
(aus Ameisen sowie synthetisch)
und der Substanz B1221231

----- pH 1 ————— pH 12

³) Im Einverständnis mit Dr. REMBOLD verwenden wir nicht mehr diese Bezeichnung, da sie zweideutig ist – Violapterin ist kein Pterin. Wir schlagen vor, in Anlehnung an die Pterinbezeichnungen das Produkt Isoxantholumazin zu nennen. Entsprechend werden 6-Oxo-5,6-dihydrolumazin zu Xantholumazin und 6,7-Dioxo-5,6,7,8-tetrahydrolumazin zu Leukolumazin.

Locris species, in *Leptocoris apicalis* WESTW. und in *Pyrrhocoris apterus* L. (Feuerwanze), alle drei *Hemiptera* [6], in *Locusta migratoria* L. und in *Schistocerca gregaria* FORSK. (beide *Orthoptera*) [7] gefunden.

Nun können wir berichten, dass Isoxantholumazin (III) und 8-Ribityl-6-methylisoxantholumazin (IV) in verhältnismässig grosser Menge in den Waldameisenmännchen vorkommen, neben Lumazin (I) und Lumazin-6-carbonsäure (II). Die beiden letzteren Produkte waren bis jetzt als Naturstoffe noch unbekannt. Die Konstitution der beiden weiteren Lumazine, die wir isoliert haben, konnte wegen Materialmangels nicht ermittelt werden.

Diese sechs Lumazine wurden aus dem Äthanolextrakt von 1,5 kg Männchen (Frischgewicht) von *Formica polyctena* FOERST. mit Hilfe bekannter chromatographischer Verfahren an Säulen aus Cellulosepulver abgetrennt und gereinigt.

1. Das Lumazin (I) befand sich in der in Wasser schnell laufenden Fraktion. Da sich aus Lumazin in wässriger Lösung unter Lichtausschluss innerhalb von 3–4 Wochen in Gegenwart von Luft deutlich nachweisbare Mengen von Isoxantholumazin (III) bilden, ist die relativ geringe isolierte Menge nicht verwunderlich. Unter denselben Bedingungen ist Pterin (2-Amino-4-hydroxy-pteridin) beständig.

2. Lumazin-6-carbonsäure (II): Aus 1,5 kg Männchen wurden etwa 120 µg II erhalten (aus Wasser farblose rechteckige Plättchen). Seine Identifizierung erfolgte durch Vergleich mit einem synthetischen Produkt. Das Vorliegen der Lumazin-6-carbonsäure konnte weiterhin durch einen glücklichen Umstand bestätigt werden: aus einer durch Abbau von Folsäure gewonnenen Pterin-6-carbonsäure entstand in wässriger Lösung zufällig durch mikrobiologische Desaminierung die entsprechende Lumazin-6-carbonsäure, die mit der aus *Formica* isolierten Substanz identisch war.

3. Isoxantholumazin (III). Von dieser violett fluoreszierenden Substanz wurden aus Ameisen etwa 200 µg erhalten; sie wurde so zum vierten Mal in Insekten nachgewiesen.

4. 8-Ribityl-6-methylisoxantholumazin (IV). Mit seiner Isolierung aus Ameisen wurde IV zum ersten Mal in mehrzelligen Organismen gefunden. Wir isolierten etwa 500 µg dieser violett fluoreszierenden Verbindung aus drei Unterfraktionen. Weitere 240 µg erhielten wir als Abbauprodukt aus einer gelb fluoreszierenden Substanz nach Behandlung mit verdünntem Ammoniak, worauf wir bereits in der 4. Mitteilung [1] bei der Isolierung des Formicaflavins hingewiesen haben.

DEM SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit, die im Rahmen eines OECD-Stipendiums der Schweiz durchgeführt wurde.

Experimentelles. – *Tiermaterial:* 1,5 kg *Formica polyctena*-Männchen wurden, wie in der 3. Mitteilung [2] berichtet, während der Schwarmzeit abgefangen und in Äthanol bis zur Aufarbeitung konserviert. Die hier angegebene Isolierungsmethodik (s. Trennschema von A und B1) bezieht sich auf die beiden daraus gewonnenen und bereits beschriebenen Fraktionen A und B1 [1] [2].

Lumazin (I). Die in Wasser schneller laufende Fraktion A wird über 5 Säulen⁴⁾ (8 × 30) mit 60-proz. Äthanol chromatographiert und ergibt 5 fluoreszierende Fraktionen, von denen die zweite, A2, nach Verdampfen des Lösungsmittels über eine Säule (9 × 30) mit Isopropanol:0,2-proz. NH₄-Acetat (4:1) mit anschliessender Gradientelution bis zur Verdünnung 1:1 in vier weitere

⁴⁾ In Klammern Durchmesser und Höhe der Säulen in cm.

Tabelle 1. *Rf*-Werte der isolierten Lumazine auf WHATMAN-Papier Nr. 1, aufsteigend über 20–25 cm bei 22°

Laufmittel	Lumazin	Lumazin-6-carbonsäure	Isoxantholumazin	6-Methyl-8-ribityl-isoxantholumazin	B1221231	B12212322
Wasser	0,83	0,94	0,82	0,80	0,86	0,74
3-proz. NH ₄ Cl	0,60	0,67	0,43	0,66	0,55	0,25
3-proz. Na-Citrat	0,57	0,57	0,37	0,57	0,46	0,18
Isoprop.: Wasser (2:1)	0,42	0,28	0,38	0,38	0,59	0,37
Isopr.: 1-proz. NH ₄ OH (2:1)	0,29	0,16	0,29	0,34	0,54	0,30
Isopr.: 0,2-proz. NH ₄ -Acetat (4:1)	0,30	0,03	0,11	0,10	0,34	0,11
Isopr.: 5-proz. Borsäure (4:1)	0,30	0,04	0,10	0,09	0,33	0,09
Isopr.: DMF: 25-proz. NH ₄ OH (65:25:10)	0,12	0,01	0,09	0,16	0,21	0,11
Aceton: 2-proz. NH ₄ -Acetat (4:1)	0,42	0,08	0,33	0,38	0,63	0,38
BuOH: Eisessig: Wasser (20:3:7)	0,37	0,22	0,21	0,16	0,55	0,17

Tabelle 2. *Elektrophoretische Beweglichkeiten u der isolierten Lumazine*

Träger: WHATMAN-Papier Nr. 1 (6 cm breit, 28 cm lang), Leerlauf: 1 Std., Versuchsdauer: 1. Std., Temperatur 22°, $u = sd/tV$ ($\text{cm}^2\text{s}^{-1}\text{V}^{-1}$) mit $s =$ zurückgelegter Weg in cm, $t =$ Zeit in Sekunden, $d =$ Elektrodenabstand in cm (hier 30 cm), $V =$ angelegte Potentialdifferenz in Volt.

Lösungsmedium jeweils 0,05 M in Wasser	pH	mA	V	$u \cdot 10^4$			B1221231	B12212322
				Lumazin	Lumazin-6-carbonsäure	Isoxantholumazin		
Oxalsäure	1,6	5	150	-0,28	-0,39	0,0	0,0	0,0
Citronensäure	2,1	5	510	-0,18	-0,15	+0,04	+0,01	+0,04
Ameisensäure	2,5	4	710	-0,18	-0,13	+0,08	+0,24	+0,07
Essigsäure	3,2	2	760	-0,17	+0,07	+0,33	+0,14	
Pyridinformiat	4,3	5	400	-0,25	+0,48	+0,62	+0,41	+0,35
NH ₄ -Acetat	6,8	5	270	-0,22	+0,55	+0,71	+0,54	+0,42
Na-Acetat	7,4	5	400	+0,21	+0,69	+0,81	+0,57	+0,47
Äthylendiamin	10,4	3	700	+0,73	+0,73	+0,88	+0,45	+0,58
Isoelektrischer Punkt (pH)				7,1	2,9	<1,6	<1,6	<1,6

Die isoelektrischen Punkte von Isoxanthopterin bzw. Isoxanthopterin-6-carbonsäure liegen bei 6,1 bzw. 3,8, d. h. bedeutend höher als diejenigen der entsprechenden Isoxantholumazinderivate.

Fraktionen aufgetrennt wird. Deren erste, A21, wird mit Wasser über drei Säulen (4×40) chromatographiert. In der ersten, blau fluoreszierenden Zone (A211) befindet sich der Rest des Bipterins, dessen erster Teil aus der Fraktion B11122 isoliert wurde [2]. Die zweite Fraktion, A212, wird auf einer Säule (4×30) mit Isopropanol:1-proz. NH_4OH (3:1) in eine blau (A2121) und eine violett fluoreszierende Fraktion (Isoxanthopterin) getrennt. A2121 wird wiederum (Säule $1,5 \times 30$) mit 0,3-proz. NH_4Cl -Lösung in zwei Fraktionen getrennt. Die Fraktion A21211 enthält noch etwas Bipterin, A21212 Lumazin. Letztere Fraktion wird zunächst mit Butanol:Eisessig:Wasser (20:3:7) ohne Thiolzusatz (Säule $1,5 \times 30$), dann mit Aceton:0,2-proz. NH_4 -Acetat (3:1) (Säule 1×15) chromatographiert. Nach weiterer Reinigung mit 0,3-proz. NH_4Cl und schliesslich mit Wasser (Säulen 1×15) erhalten wir reines Lumazin, das durch Vergleich mit synthetischem Lumazin identifiziert wurde (Fig. 1; Tabellen I und II).

Lumazin-6-carbonsäure (II). Die Fraktion B11314 [1] wird zunächst mit Isopropanol:1-proz. NH_4OH (3:1) ohne Thiolzusatz weiter gereinigt (Säule 1×15). Dann folgen Chromatographie mit Aceton:2-proz. NH_4 -Acetat (3:1) (Säule 1×15) sowie mit Isopropanol:0,2-proz. NH_4 -Acetat (3:1) (Säule 1×15). Nach weiterem Chromatographieren mit 3-proz. NH_4Cl und H_2O wird II rein erhalten; Identifizierung durch Vergleich mit der synthetischen Säure (Fig. 2; Tabellen I und II). In wässriger Lösung wird Lumazin-6-carbonsäure durch O_2 nicht zur entsprechenden Isoxantholumazin-6-carbonsäure oxydiert (Unterschied zum Lumazin).

Isoxantholumazinderivate. Die Fraktion B12 [1] wird zunächst mit Isopropanol:Wasser (3:1) in drei Fraktionen zerlegt (Säule $8,5 \times 30$), von denen die zweite, B122, mit Wasser wieder in drei aufgetrennt wird (Säule 5×30). Die erste Fraktion, B1221, enthält drei Isoxantholumazinderivate, die folgendermassen aufgetrennt werden: Eine erste Chromatographie (Säule 4×30) mit Isopropanol:Wasser (3:1) ergibt die Fraktion B12212, welche, wieder chromatographiert (Säule $1,5 \times 30$), die die drei Isoxantholumazinderivate enthaltende Fraktion B122123 liefert. Daraus wird die Substanz B1221231 mit Isopropanol:1-proz. NH_4OH (3:1) von der Fraktion B1221232 abgetrennt, und letztere ergibt einerseits Isoxantholumazin (B12212321) und andererseits die Substanz B12212322 mittels Chromatographie mit 0,3-proz. Na-Citratlösung (Säule $1,5 \times 30$). Diese beiden

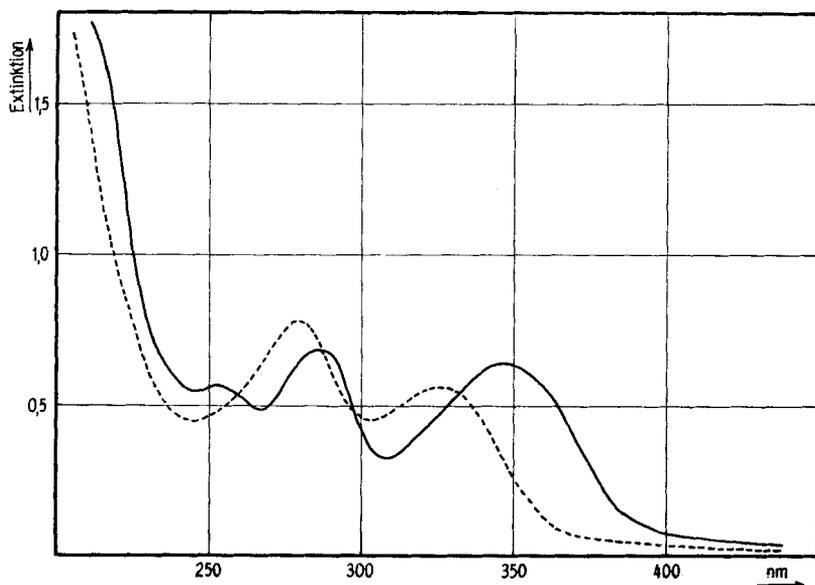
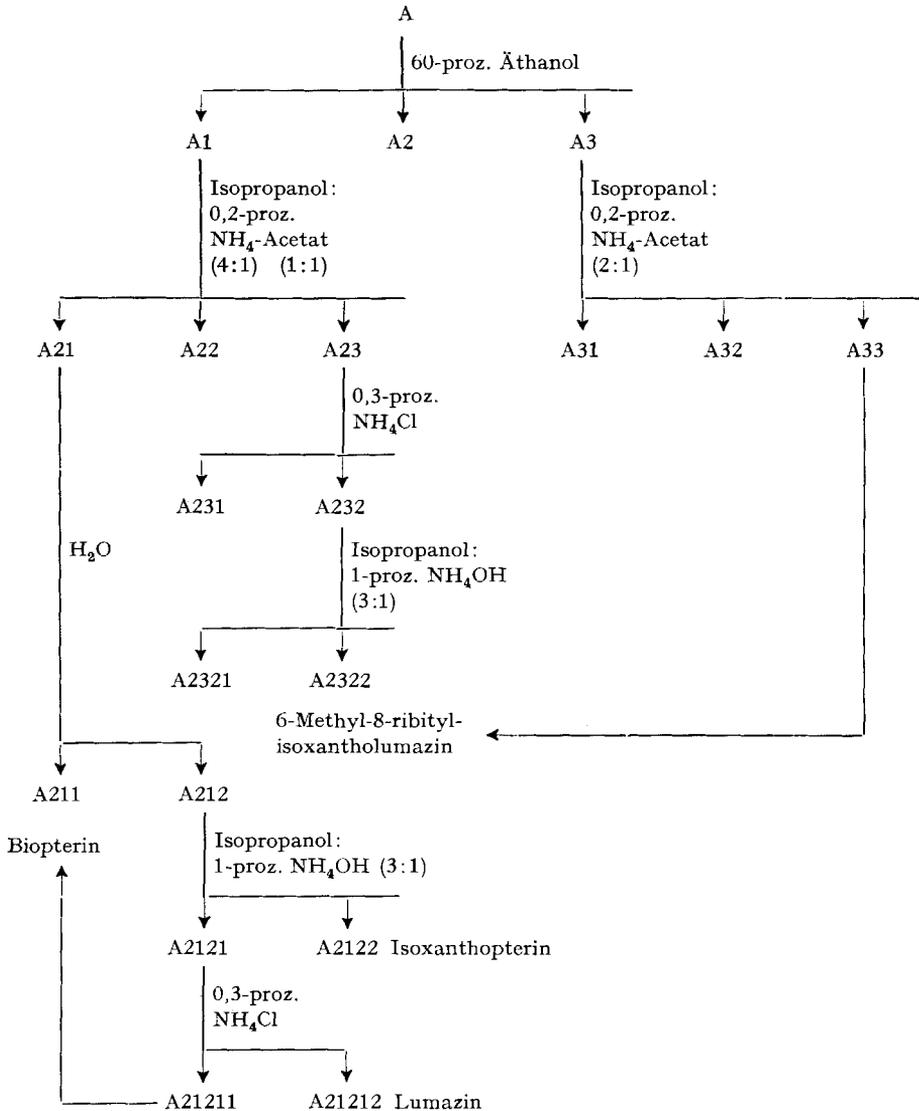


Fig. 4. UV.-Spektren des 6-Methyl-8-ribityl-isoxantholumazins (IV)
(aus Ameisen)

----- pH 1 ————— pH 12

Trennschema von Fraktion A



Isoxantholumazinderivate werden durch Chromatographie mit 0,3-proz. Na-Citrat bzw. Wasser weiter gereinigt (Säule 1 × 15). Die UV.-Spektren der Substanzen B1221231 und B12212321 sind untereinander gleich und stimmen mit dem UV.-Spektrum von synthetischem Isoxantholumazin überein (Fig. 3). Die Substanz B12212322 zeigt ein sehr ähnliches UV.-Spektrum; nur die langwelligeren Maxima sind um etwa 20 nm bathochrom verschoben (345 nm, pH 1; 355 nm, pH 13).

B12212321 ist mit synthetischem Isoxantholumazin identisch (Tabellen I und II). B1221231 und B12212322 sind weder mit Xantholumazin (6-Oxo-5,6-dihydrolumazin), noch mit Leukolumazin (6,7-Dioxo-5,6,7,8-tetrahydrolumazin), 6-Methylisoxantholumazin, 6,8-Dimethylisoxantholumazin oder 8-Methylisoxantholumazin identisch. Sie sind gegenüber Periodsäure beständig.

6-Methyl-8-ribityl-isoxantholumazin (IV). Die Fraktion B11311 lässt sich, wie früher berichtet [1] [2], mit Wasser in zwei Fraktionen zerlegen (Säule 4×40). Die erste, B113111, enthält IV als einzige fluoreszierende Substanz. Nach weiterer Reinigung ohne Thiolzusatz (Säulen $1,5 \times 30$) mit Isopropanol:1-proz. NH_4OH (2:1) – Butanol:Eisessig:Wasser (20:3:7) – 0,3-proz. NH_4Cl – H_2O liegt das Produkt IV rein vor. Identifizierung durch Vergleich mit synthetischer Substanz (Fig. 4; Tabellen I und II). IV wird auch aus den Fraktionen A2322 und A33 rein erhalten (vgl. Trennschema von A). Die Isolierung von IV aus seinem Komplex B133 mit Formicaflavin wurde schon früher publiziert [1].

ZUSAMMENFASSUNG

Aus Männchen der Ameisenart *Formica polyctena* FOERST. wurden mit Hilfe chromatographischer Verfahren an Cellulosesäulen Lumazin, Lumazin-6-carbonsäure, Isoxantholumazin, 6-Methyl-8-ribityl-isoxantholumazin sowie zwei weitere, noch nicht identifizierte Isoxantholumazinderivate isoliert. Die ersten vier Lumazine wurden durch Vergleich mit authentischen synthetischen Produkten identifiziert.

Institut für angewandte Zoologie der Universität Würzburg
und

Organisch-Chemisches Institut der Universität Zürich

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] 4. Mitteilung: M. VISCONTINI & G. H. SCHMIDT, *Helv.* **49**, 1259 (1966).
- [2] G. H. SCHMIDT & M. VISCONTINI, *Helv.* **49**, 344 (1966).
- [3] T. MASUDA, *Pharmac. Bull. (Tokyo)* **4**, 71, 72 (1956); T. MASUDA, T. KISHI & M. ASAI, *ibid.* **5**, 598 (1957).
- [4] G. W. E. PLAUT & G. F. MALEY, *Arch. Biochemistry Biophysics* **80**, 219 (1959); G. F. MALEY & G. W. E. PLAUT, *J. biol. Chemistry* **234**, 641 (1959).
- [5] H. REMBOLD & L. BUSCHMANN, *Liebigs Ann. Chem.* **662**, 72 (1963).
- [6] L. MERLINI & R. MONDELLI, *Gazz. chim. ital.* **92**, 1251 (1962); L. MERLINI & G. NASINI, *J. Insect Physiol.* **12**, 123 (1966).
- [7] A. BOUTHIER, Mitteilung an der Euchem Conference, The Chemistry of Insects, Varenna (Italien), Sept. 1966.

6. Notiz über thermische Ummethylierungsreaktionen

5. Mitteilung über das massenspektrometrische Verhalten quartärer Stickstoffverbindungen¹⁾

von **M. Hesse**

(8. XI. 66)

Wir haben kürzlich über die thermische Verhaltensweise einiger Yohimbin-methosalze berichtet [2]. Im Massenspektrum von Yohimbin-methochlorid (**1**) (Fig. 1) lässt sich ausser dem Molekular-Ion von Yohimbin bei m/e 354, entstanden durch thermische Demethylierungsreaktion, noch dasjenige einer thermisch entstandenen HOFMANN-Base²⁾ bei m/e 368 nachweisen. In bezug auf sein thermisches Verhalten ordnet sich damit Yohimbin-methochlorid zwanglos in die Reihe der zahlreichen bisher untersuchten Methosalze anderer Stickstoffverbindungen ein (vgl. [2]).

¹⁾ 4. Mitteilung: [1].

²⁾ Die Struktur dieser Verbindung ist nicht bekannt.