

## Neue Reagentien zum papierchromatographischen Nachweis von Aminosäuren, 3. Mitt.:

Reaktionen des 1,8-Trimethylenchinoisatins mit primären Aminoverbindungen

Von

Helga Wittmann, W. Dreveny und E. Ziegler

Aus dem Institut für Organische und Pharmazeutische Chemie der Universität Graz

(Eingegangen am 14. Dezember 1967)

1,8-Trimethylenchinoisatin-hydrat (*TMCH*) reagiert mit Aminosäuren zum farblosen Bis-(2-oxo-4-hydroxy-1,8-trimethylen-1,2-dihydro-3-chinolinyl)-amin (**2**). Da **2** bei der Dehydrierung in das Farbsalz **5** übergeht, welches eine dem „*Ruhemann-Purpur*“ analoge Struktur aufweist, ergeben sich neuartige Aspekte zur Deutung des Mechanismus der „Ninhydrin-Reaktion“.

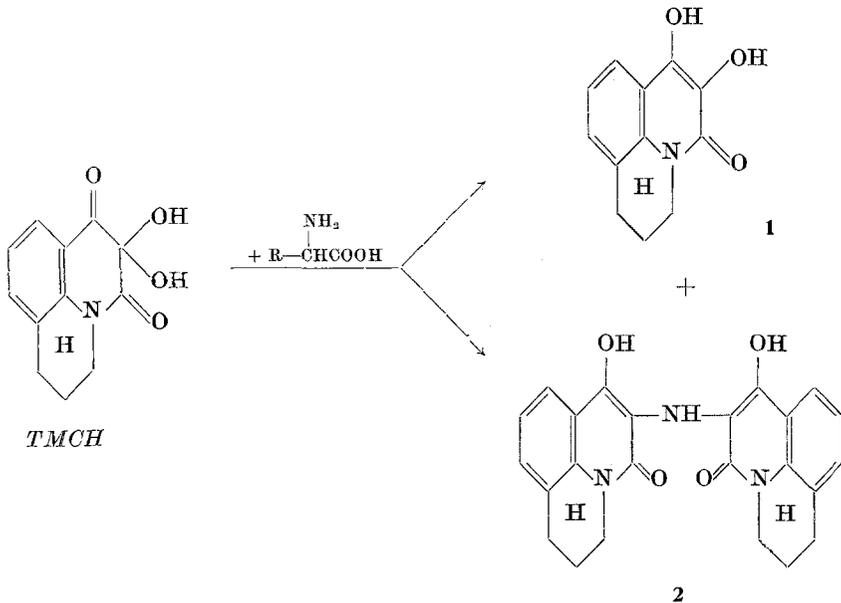
1,8-Trimethylenchinoisatin hydrate (*TMCH*) reacts with amino acids yielding the colorless bis-(2-oxo-4-hydroxy-1,8-trimethylene-1,2-dihydro-3-quinolyl)-amine (**2**). Upon dehydrogenation of **2** the dye salt **5** is obtained. Because of the close relationship between **5** and „*Ruhemann's purple*“ a re-interpretation of the mechanism of the “ninhydrin reaction” could be made.

Wie in zwei vorangegangenen Mitteilungen<sup>1</sup> gezeigt werden konnte, sind N-substituierte Chinoisatinderivate vorzüglich zum papierchromatographischen Nachweis von Aminosäuren geeignet. Überträgt man nun diese Reaktion in den präparativen Maßstab, so ergeben sich einige interessante Aspekte zur Deutung der „Ninhydrin-Reaktion“.

Beim Erhitzen von äquimolaren Mengen *TMCH* mit  $\alpha$ -Aminosäuren in 70proz. Äthanol wird die anfangs blaue Lösung allmählich wieder farblos; zwei Produkte lassen sich aus ihr isolieren. Das eine davon ist das

<sup>1</sup> H. Wittmann, Mh. Chem. **95**, 1198 (1964); **96**, 523 (1965).

schon bekannte 2-Oxo-3,4-dihydroxy-1,8-trimethylen-1,2-dihydrochinolin<sup>2</sup> (**1**). Aus den Analysenwerten der anderen Verbindung (**2**) ergibt sich die Bruttoformel  $C_{24}H_{21}N_3O_4$ . In der Mutterlauge sind die den Aminosäuren entsprechenden, also um 1 C-Atom ärmeren Aldehyde (als Phenylhydrazone) nachweisbar. Auf Grund der Analysenwerte von **2** könnte man in Analogie zur „Ninhydrin-Reaktion“ auch für den hier isolierten Körper eine Murexidstruktur formulieren, doch weist das IR-Spektrum keine Bande auf, die von einer C=N-Doppelbindung herrühren könnte. Es zeigen sich vielmehr Banden bei 3320/cm für NH und 2900/cm sowie 2500/cm für OH...C=O assoziiert. Dem farblosen Körper kommt daher die im Formelbild wiedergegebene Struktur **2** eines Bis-(2-oxo-4-hydroxy-1,8-trimethylen-1,2-dihydro-3-chinolinyl)-amins zu, die sich auch chemisch beweisen läßt.



Tab. 1 gibt einen Überblick über die Ausbeuten an „Reduktion“ (**1**) und Bisamin (**2**) beim Einsatz verschiedener Aminosäuren im neutralen Medium in Prozenten der Molzahl an *TMCH*.

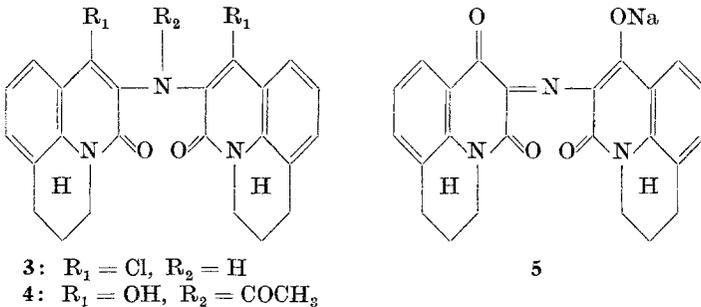
Das Bisamin **2** kann weder mit Dimethylsulfat noch mit Diazomethan in den Enoläther übergeführt werden. Die Acetylierung ergibt ein Monoacetat **4**, welches auf Grund des IR-Spektrums (Verschwinden der NH-Bande bei 3320/cm) als N-Acetat identifiziert worden ist. Mit  $POCl_3$

<sup>2</sup> L. F. Werner, Dissertation Universität Graz, 1963.

Tabelle 1

| Aminosäure                    | Prozentuelle Ausbeute<br>an <b>1</b> und <b>2</b> |    |
|-------------------------------|---|----|
| Glycin                        | 59  | 32 |
| $\alpha$ -Alanin              | 43  | 51 |
| $\beta$ -Alanin               | 44  | 51 |
| Phenylalanin                  | 42  | 51 |
| Glutamin                      | 53  | 33 |
| Asparaginsäure                | 78  | 21 |
| Leucin                        | 48  | 47 |
| Valin                         | 43  | 42 |
| $\alpha$ -Aminoisobuttersäure | 47  | 45 |
| Lysin                         | 32  | 20 |
| Histidin                      | 33  | 19 |
| Tryptophan                    | 44  | 51 |

lassen sich jedoch die enolischen Hydroxylgruppen gegen Chlor austauschen und es entsteht die Dichlorverbindung **3**.



Beim Behandeln des Bisamins **2** mit alkoholischem Alkali beobachtet man zunächst das Auftreten einer grünen Farbe, die allmählich in Blau übergeht. Nach dem Einengen fällt ein dunkles Produkt kristallin an, dem auf Grund des Natriumwertes und des IR-Spektrums ( $1540/\text{cm}$   $\text{C}=\text{N}$ ) die dem „Ruhemann-Purpur“ analoge Konstitution (**5**) zukommt.

Somit ist das farblose Bisamin **2** die Vorstufe der eigentlichen farbigen Verbindung **5**, welche durch Dehydrierung aus **2** gebildet wird. Diese Reaktion tritt auch beim Behandeln von **2** mit Chloranil sowie *TMCH* als Dehydrierungsmittel ein. Das Farbsalz **5** ist identisch mit jenem Farbstoff, der am Papierchromatogramm aus Aminosäuren durch Besprühen mit *TMCH* entsteht. Eluiert man nämlich die angefärbten Flecke eines Aminosäurechromatogramms mit Butanol und trägt sie neuerlich auf acetyl. Papier mit dem Farbsalz **5** als Vergleichssubstanz auf, so zeigen die auf verschiedenen Wegen dargestellten Farbstoffe in Methanol—Chlorbenzol—Wasser (8 : 3 : 1) den gleichen  $R_F$ -Wert von 0,48.

**5** nimmt bei der katalytischen Hydrierung in  $2n$ -NaOH ein Mol  $H_2$  auf und geht wieder in das Na-Salz des farblosen Bisamins **2** über. Weiters unterbleibt die Dehydrierung von **2** zu **5** in Gegenwart von  $Na_2S_2O_4$ . Erwartungsgemäß lassen sich sowohl das N-Acetylderivat **4** als auch die Dichlorverbindung **3** nicht zum Farbstoff dehydrieren. Erst bei längerem Stehenlassen einer alkalischen Lösung von **4** tritt langsam Blaufärbung, infolge der Hydrolyse des N-Acetates, ein.

Die Konstitution von **5** läßt sich auch durch saure Hydrolyse beweisen. Hier müßte in Analogie zum Murexid<sup>3</sup>, welches zu Uramil und Alloxan gespalten wird, sowohl die Carbonyl- als auch die Aminkomponente nachweisbar sein. Beim Behandeln von **5** mit verd.  $H_2SO_4$  sind dagegen *TMCH*, Redukton **1** und  $(NH_4)_2SO_4$  isoliert worden. Dieses Versuchsergebnis läßt darauf schließen, daß das zu erwartende 2-Oxo-3-amino-4-hydroxy-1,8-trimethylen-chinolin sofort in die 3,4-Dihydroxyverbindung **1** umgewandelt wird, was auch die Auffindung von  $(NH_4)_2SO_4$  beweist.

Genauso wie beim Murexid läßt sich aus dem Na-Salz **5** die freie Säure, welche der Purpursäure entsprechen müßte, nicht isolieren. Selbst beim vorsichtigen Behandeln einer wäßr. Lösung des Na-Salzes **5** mit verd. Essigsäure tritt allmählich Zersetzung ein.

Mit der Isolierung des Bisamins **2** als Zwischenprodukt der „Ninhydrin-Reaktion“ erfährt der von *McCaldin*<sup>4</sup> postulierte Reaktionsmechanismus eine experimentelle Untermauerung. Dieser Autor schlägt als ersten Schritt die Bildung eines Halbaminals aus Tricarbonylverbindung und Aminosäure vor, aus welchem durch Abspaltung von  $CO_2$  und  $H_2O$  ein Azomethin entstehen soll. Dieses Azomethin wird dann unter Verlust von  $RCHO$  zum 1-Hydroxy-2-amino-3-oxoinden hydrolysiert, welches letztere dann mit Ninhydrin die Kondensation zum Farbstoff eingehen soll.

Erstmals ist die intermediäre Bildung eines 2-Aminoindandions von *Harding* und *McLean*<sup>5</sup> formuliert worden. Auch *Schönberg* und *Moubasher*<sup>6</sup> sowie *Moubasher* und *Ibrahim*<sup>7</sup> nehmen ein Azomethin als Zwischenstufe bei der Reaktion von Aminosäuren mit Ninhydrin an.

Andere Interpretationen<sup>8</sup> der „Ninhydrin-Reaktion“ fußen vor allem auf der Analogie mit der *Strecker*schen<sup>9</sup> Oxydation der Aminosäuren, wo-

<sup>3</sup> O. Piloty und K. Finckh, Ann. Chem. **333**, 22 (1904).

<sup>4</sup> D. J. McCaldin, Chem. Reviews **60**, 39 (1960).

<sup>5</sup> V. J. Harding und R. M. McLean, J. Biol. Chem. **25**, 337 (1916).

<sup>6</sup> A. Schönberg, R. Moubasher und A. Mustafa, J. Chem. Soc. [London] **1948**, 176.

<sup>7</sup> R. Moubasher und M. Ibrahim, J. chem. Soc. [London] **1949**, 702.

<sup>8</sup> S. Ruhemann, J. chem. Soc. [London] **99**, 1486 (1911); W. Grassmann und K. v. Arnim, Ann. Chem. **509**, 288 (1934); A. Schönberg und R. Moubasher, Chem. Reviews **50**, 261 (1952).

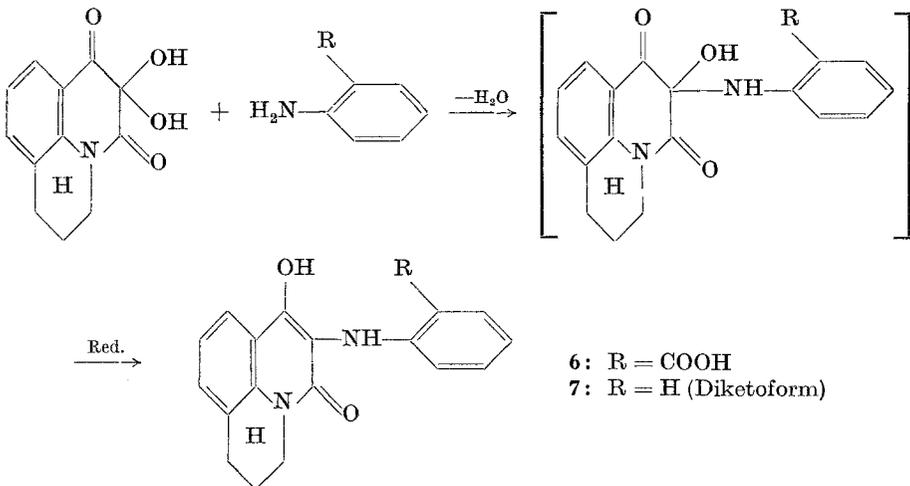
<sup>9</sup> A. Strecker, Ann. Chem. **123**, 363 (1862).

bei dem Ninhydrin in erster Linie eine Oxydationswirkung zugesprochen wird.

Von allen diesen Vorschlägen, den Ablauf der „Ninhydrin-Reaktion“ mechanistisch zu deuten, gewinnt — wie schon oben erwähnt — jener von *McCaldin*<sup>4</sup> viel an Gewißheit, weil die Bildung des Bisamins **2**, wie die nachfolgend beschriebenen Versuche zeigen, über ein Halbamin als erste Zwischenstufe am besten erklärbar ist. Setzt man nämlich Anthranilsäure oder Anilin mit *TMCH* um, so bleibt die Entstehung des Bisamins **2** aus. Diese aromatischen Aminoverbindungen lassen sich auch am Papierchromatogramm mit dem Aminosäurereagens nicht anfärben.

Ein analoges Versagen der Farbreaktion bei aromatischen Aminosäuren hat schon *Ruhemann*<sup>10</sup> beim Ninhydrin beobachtet. Aus der Reaktion von *TMCH* mit Anthranilsäure in siedender alkohol. Lösung resultiert nach 2—3 Stdn. eine gelbbraune, kristalline Verbindung der Bruttoformel  $C_{19}H_{16}N_2O_4$ , welcher daher die Struktur eines 2-Oxo-4-hydroxy-3-(2-carboxyphenylamino)-1,8-trimethylen-1,2-dihydrochinolins (**6**) zukommt. In gleicher Weise erhält man mit Anilin 2,4-Dioxo-3-phenyl-amino-1,8-trimethylen-1,2,3,4-tetrahydrochinolin (**7**).

Da das IR-Spektrum von **7** keine Bande für OH aufweist, muß man annehmen, daß **7** im Gegensatz zu **6** in der nicht enolisierten Diketoform vorliegt. Beide Körper können nur durch reduktive Eliminierung der OH-Gruppe aus dem entsprechenden Halbamin entstanden sein. Als reduzierendes Agens könnte Redukton **1**, welches durch Redox-Disproportionierung<sup>11</sup> beim Erhitzen einer *TMCH*-Lösung gebildet wird, wirken. Eine Kondensation von **1** mit der Aminoverbindung läßt sich ausschließen, weil weder Anthranilsäure noch Anilin unter analogen Bedingungen mit **1** reagieren.



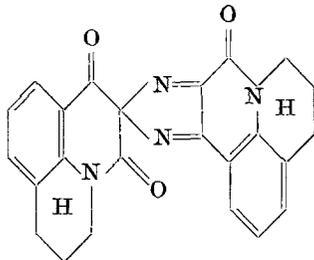
<sup>10</sup> S. *Ruhemann*, J. chem. Soc. [London] **97**, 2025 (1910).

<sup>11</sup> B. *Eistert*, G. *Bock*, E. *Kosch* und F. *Spalnik*, Chem. Ber. **93**, 1451 (1960).

Anders als die aromatischen Amine verhält sich z. B. Cyclohexylamin. Aus äquimolaren Mengen *TMCH* und Cyclohexylamin in 70proz. Äthanol lassen sich nach 4stdg. Erhitzen 21% d. Th. an Bisamin 2 isolieren, daneben ist Cyclohexanon als Phenylhydrazon nachweisbar.

Die Umsetzung von *TMCH* mit Ammoniak führt, je nach den Reaktionsbedingungen, zu verschiedenen Produkten. Doch lassen auch diese Ergebnisse den Schluß zu, daß Aminale als Zwischenprodukte auftreten müssen. Erhitzt man eine wäßrig-alkohol. Lösung von *TMCH* mit  $\text{NH}_4\text{OH}$  ( $d = 0,980$ ), so entsteht das Bisamin 2 nur in einer Ausbeute von 17% d. Th. Als Hauptprodukt (40% d. Th.) fällt 1,7-Trimethylenisatin in roten Kristallen an. Die Bildung von Isatinderivaten im alkal. Medium aus den entsprechenden Chinisatinen ist bereits von *Ziegler* und *Kappe*<sup>12</sup> beschrieben worden.

Ganz anders verläuft die Reaktion von *TMCH* mit gasförm.  $\text{NH}_3$  in absol. Äthanol. In diesem Fall entsteht intermediär das Aminoal<sup>13</sup>, welches sich mit überschüssigem *TMCH* zur Spiroverbindung 8 kondensiert. Als Nebenprodukt fallen 15% d. Th. an Bisamin 2 an. 8 bildet sich auch bei der Einwirkung von gasförm.  $\text{NH}_3$  auf 3,3-Dichlor-2,4-dioxo-1,8-trimethylen-1,2,3,4-tetrahydrochinolin in absol. Äthanol.



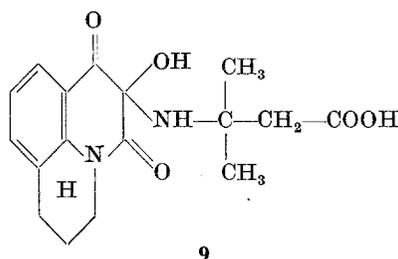
8

Die wichtigste Stütze für den von *McCaldin*<sup>4</sup> vorgeschlagenen Ablauf der „Ninhydrin-Reaktion“ über ein Halbaminale als erstes Zwischenprodukt stellen aber die Reaktionen von *TMCH* mit  $\alpha$ -Aminoisobuttersäure und  $\beta$ -Aminoisovaleriansäure dar. Bildet sich tatsächlich im ersten Reaktionsschritt ein Halbaminale, so müßte  $\alpha$ -Aminoisobuttersäure mit *TMCH* das Bisamin 2 ergeben, weil hier das Halbaminale durch  $\text{H}_2\text{O}$ - und  $\text{CO}_2$ -Abspaltung in die *Schiffsche* Base übergehen kann. Dagegen ist bei der Reaktion von  $\beta$ -Aminoisovaleriansäure mit *TMCH* die Bildung des Azomethins aus dem Halbaminale infolge des Fehlens eines Protons in  $\alpha$ -Stellung zur  $\text{NH}_2$ -Gruppe nicht mehr möglich. Tatsächlich erhält man beim Einsatz von  $\alpha$ -Aminoisobuttersäure das Bisamin 2 in 45proz. Ausbeute (s. Tab. 1). Mit  $\beta$ -Aminoisovaleriansäure beobachtet man

<sup>12</sup> *E. Ziegler* und *Th. Kappe*, Mh. Chem. **94**, 453, 698 (1963).

<sup>13</sup> *Th. Kappe*, *Erika Lender* und *E. Ziegler*, Mh. Chem. **99**, 990 (1968).

dagegen keine  $\text{CO}_2$ -Entwicklung und kann auch nach der Umsetzung kein Bisamin **2** isolieren. Daraus ergibt sich, daß die Decarboxylierung mit der Möglichkeit zur  $\text{H}_2\text{O}$ -Abspaltung gekoppelt ist. Vielmehr ist beim Stehenlassen einer alkohol. Lösung der beiden Komponenten ein leicht zersetzliches Produkt **9** isoliert worden, welches durch kurzes Behandeln mit  $\text{HCl}$  wieder in die Ausgangsstoffe zerlegt werden kann. Dieses Versuchsergebnis sowie die N-Analyse bestätigen, daß die Reaktion von *TMCH* mit  $\beta$ -Aminoisovaleriansäure nur bis zum Halbamin **9** abgelaufen ist.

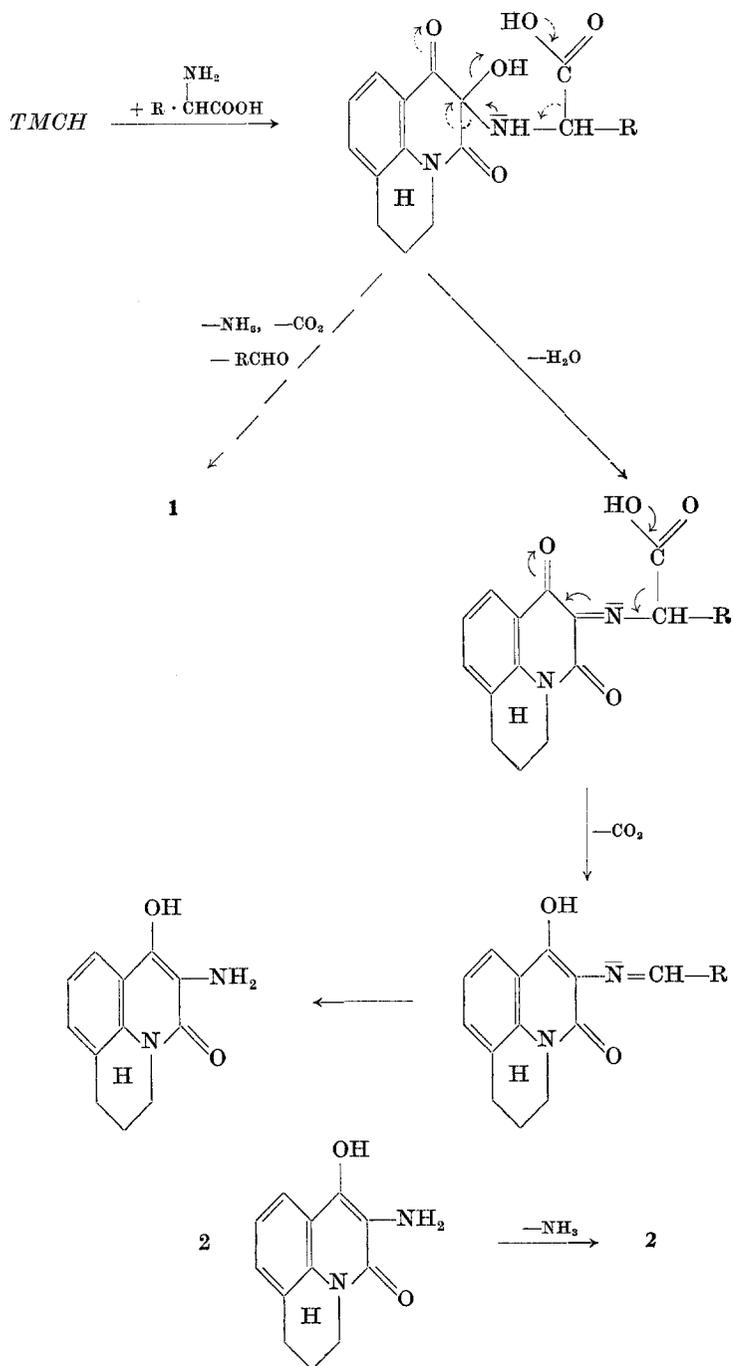


Weiters läßt dieses experimentelle Ergebnis darauf schließen, daß die Decarboxylierung der Aminosäure erst nach Bildung des Halbaminals unter vorangehender  $\text{H}_2\text{O}$ -Abspaltung vor sich geht und nicht unbedingt auf die oxydative Wirkung der Triketoverbindung zurückzuführen sein muß, wie das folgende Formelschema zeigt.

Das hier dargestellte Reaktionsschema vermag auch eindeutig zu erklären, daß bei Durchführung dieser Reaktion in schwefelsaurem Medium praktisch quantitativ Redukton **1** gebildet wird, wie Tab. 2 zeigt.

Tabelle 2. Überblick über die Ausbeuten an Redukton **1** beim Einsatz verschiedener Aminosäuren in schwefelsaurem Medium

| Aminosäure       | Redukton <b>1</b><br>% |
|------------------|------------------------|
| Glycin           | 93                     |
| $\alpha$ -Alanin | 96                     |
| $\beta$ -Alanin  | 96                     |
| Phenylalanin     | 91                     |
| Glutamin         | 83                     |
| Asparaginsäure   | 95                     |
| Leucin           | 87                     |
| Valin            | 79                     |
| Lysin            | 72                     |
| Tryptophan       | 68                     |



Die ausschließliche Bildung von **1** in schwefelsaurem Milieu ist durchaus einleuchtend, weil das zwischenzeitlich entstehende Azomethin unter diesen Bedingungen in die 3-Aminoverbindung und die entsprechende Carbonylkomponente gespalten wird. Wie schon bei der Behandlung des Farb-Salzes **5** mit  $\text{H}_2\text{SO}_4$  beschrieben, geht die 3-Aminoverbindung durch Hydrolyse sofort in das Redukton **1** über. Diese Reaktion ist reversibel, weil man zeigen kann, daß beim Erhitzen von **1** mit überschüss.  $\text{NH}_4\text{OH}$  ( $d = 0,980$ ) in alkohol. Lösung 74% d. Th. Bisamin **2** entstehen, was nur über die 3-Aminoverbindung geschehen sein kann.

Während in mineralaurer Lösung praktisch quantitativ **1** entsteht, lassen sich in essigsäurem Milieu bis zu 25% d. Th. an Bisamin **2** neben **1** gewinnen. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit Beobachtungen von *Fadyen*<sup>14</sup>, wonach bei der „Ninhydrin-Reaktion“ unterhalb pH 2,5 nur mehr Hydrindantin erhalten wird. In allen Fällen ist im Filtrat der Reaktionslösungen Ammoniumsulfat bzw. -acetat, welches von der Hydrolyse der 3-Aminoverbindung stammt, auffindbar.

Es ist also mit Hilfe der vorliegenden Versuchsergebnisse gelungen zu zeigen, daß von allen bisher aufgestellten Theorien über die „Ninhydrin-Reaktion“ der von *McCaldin*<sup>4</sup> postulierte Mechanismus die beste Erklärung für den Reaktionsablauf darstellt. Mit Hilfe dieses Schemas ist es möglich, sowohl die Bildung des Farbstoffes, das Auftreten von Reduktionsprodukten der Tricarbonylverbindungen wie auch die Entstehung von  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$  und der entsprechenden Ketoverbindung zu deuten.

Die vorliegende Arbeit wurde mit Unterstützung der J. R. Geigy AG, Basel, durchgeführt, für die wir danken.

Ferner danken wir Herrn Dr. *H. Sterk* vom hiesigen Institut für die Aufnahme und Interpretation der IR-Spektren.

### Experimenteller Teil

#### 1. *Bis-(2-oxo-4-hydroxy-1,8-trimethylen-1,2-dihydrochinoliny1-3)-amin (2)*

a) Aus *TMCH* und Aminosäuren bzw. prim. aliphat. Aminen:

1,15 g (1/200 Mol) *TMCH* werden in 100 ml 70proz. Äthanol in der Hitze gelöst und 1/200 Mol Aminosäure bzw. Amin in 5 ml  $\text{H}_2\text{O}$  zugegeben. Es tritt sofort Blaufärbung auf, die nach wenigen Sekunden wieder verschwindet. Man hält noch 4 Stdn. im Sieden und saugt nach dem Erkalten **2** ab. Beim Einsatz von prim. Aminen muß das Reaktionsgut, zur Isolierung von **2**, mit Eisessig angesäuert werden. Aus Chlorbenzol farblose Prismen vom Schmp.  $265^\circ$  (u. Zers.).

<sup>14</sup> *D. A. McFadyen*, J. biol. Chem. **153**, 507 (1944).

IR-Spektrum in KBr: 3320/cm ..... NH  
 1630/cm ..... CO  
 2500/cm, 2900/cm ..... OH—CO assoz.  
 1550/cm vS ..... CO—OH

$C_{24}H_{21}N_3O_4$ . Ber. C 69,37, H 5,09, N 10,11.  
 Gef. C 69,31, H 5,09, N 9,92.

Aus dem Destillat der Mutterlauge sind mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin die entsprechenden Carbonylverbindungen als 2,4-Dinitrophenylhydrazone erhältlich.

Der Destillationsrückstand wird mit Äthanol angerieben und so 0,25 bis 0,55 g Redukton<sup>2</sup> **1** vom Schmp. 228° gewonnen, welches eine positive FeCl<sub>3</sub>-Reaktion gibt.

b) Aus **1** und Ammoniak:

1 g **1** wird in einem Gemisch von 2,5 ml NH<sub>4</sub>OH ( $d = 0,980$ ) und 30 ml Äthanol 4 Stdn. im Sieden gehalten, dabei fällt **2** in 74proz. Ausbeute an.

## 2. *N*-Acetylderivat **4**

Man löst 0,5 g **2** in 60 ml sied. Chlorbenzol und fügt 7 ml Ac<sub>2</sub>O bzw. 5 ml Acetylchlorid und 1 Tr. Pyridin hinzu. Es wird 10 Stdn. am Rückfluß erhitzt und dann im Vak. zur Trockene gebracht. Aus DMF farblose Blättchen, Schmp. 315° (u. Zers.). Ausbeute 0,5 g (91% d. Th.).

IR-Spektrum in KBr: 2600/cm, 2800/cm ..... OH—CO assoz.  
 1690/cm ..... CO (Acetylgruppe)  
 1630/cm ..... CO (Pyridon)  
 1550/cm vS ..... CO—OH

$C_{26}H_{23}N_3O_5$ . Ber. C 68,26, H 5,06, N 9,07.  
 Gef. C 67,81, H 5,08, N 9,18.

## 3. *Bis*-(4-chlor-2-oxo-1,8-trimethylen-1,2-dihydrochinotinyll-3)-amin (**3**)

5 g **2** werden in 50 ml Chlorbenzol heiß gelöst, mit 3 ml POCl<sub>3</sub> versetzt und 4 Stdn. im Sieden gehalten. Beim Erkalten fallen 0,3 g (56% d. Th.) **3** an und aus der eingeeengten Mutterlauge sind nochmals 0,2 g erhältlich. Aus DMF blaßgelbe Prismen vom Schmp. 285° (u. Zers.).

$C_{24}H_{19}N_3O_2Cl_2$ . Ber. Cl 15,68. Gef. Cl 15,71.

## 4. Farbsalz **5**

a) Beim Schütteln einer Lösung von 0,2 g **2** in 15 ml Äthanol und 3 ml 0,5*n*-NaOH tritt intensive Blaufärbung auf. Man bringt in einer Porzellanschale am Wasserbad zur Trockene und wäscht den Rückstand mit heißem H<sub>2</sub>O und Äthanol. Ausbeute 0,15 g (71% d. Th.).

IR-Spektrum in KBr: 1640/cm ..... CO  
 1540/cm ..... C=N  
 1300/cm br. vs ..... O—Na

$C_{24}H_{18}N_3O_4Na$ . Ber. Na 5,28. Gef. Na 4,96.

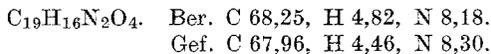
b) Eine heiß bereitete Lösung von 0,1 g **2** in 10 ml Chlorbenzol färbt sich beim Versetzen mit einer benzol. Chloranillösung sofort purpurrot. Der Farbstoff wird auf Papier Schleicher & Schüll 2043b, 25% acetyl., aufgetragen und mit einem mittels Butanol eluierten Farbleck, welcher beim Besprühen eines Aminosäurechromatogramms mit *TMCH* entstanden ist, als Vergleichssubstanz chromatographiert (Laufmittel: Methanol—Chlorbenzol—H<sub>2</sub>O = 8 : 3 : 1). Die auf verschiedenem Wege gewonnenen Farbstoffe weisen den gleichen *R<sub>f</sub>*-Wert (0,480) auf.

### 5. Hydrolyse von **5**

Beim Erhitzen einer Lösung von 1 g **5** in 50 ml 20proz. Äthanol und 2 ml konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> verschwindet nach ca. 10 Min. die blaue Farbe. Aus der erkalteten Lösung fallen 0,4 g (43% d. Th.) Redukton **1** kristallin an. Nach Einengen der Mutterlauge werden 0,4 g (40% d. Th.) *TMCH* isoliert. Im Trockenrückstand finden sich (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

### 6. 2-Oxo-4-hydroxy-3-(2-carboxyphenylamino)-1,8-trimethylen-1,2-dihydrochinolin (**6**)

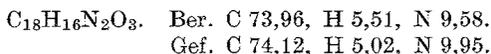
Zu einer heißen Lösung von 0,5 g *TMCH* in 15 ml Äthanol fügt man 0,3 g Anthranilsäure und erhitzt 2½ Stdn. am siedenden Wasserbad. Aus *DMF* gelbbraune Nadeln, Schmp. 305° (u. Zers.); Ausb. 0,1 g (14% d. Th.).



### 7. 2,4-Dioxo-3-phenylamino-1,8-trimethylen-1,2,3,4-tetrahydrochinolin (**7**)

Analog Versuch 6 aus 1 g *TMCH* in 40 ml Äthanol und 1 ml Anilin. Die Reinigung erfolgt aus Butanol. Ausb. 0,35 g (28% d. Th.); Schmp. 221° (u. Zers.).

IR-Spektrum in KBr: 3300/cm . . . . . NH  
1660/cm, 1610/cm . . . . . CO



### 8. Umsetzung von *TMCH* mit NH<sub>4</sub>OH

Aus einer Lösung von 1 g *TMCH* in 40 ml 25proz. Äthanol und 1 ml NH<sub>4</sub>OH (*d* = 0,980), welche 35 Min. am Wasserbad im Sieden gehalten wird, fällt ein Produkt an, das man zunächst zur Reinigung mit Chlorbenzol auskocht und vom unlöslichen Rückstand abfiltriert. Nach Einengen des Chlorbenzolfiltrates fallen 0,15 g Bisamin **2** an. Aus der ammoniakal. Mutterlauge werden 0,25 g 1,7-Trimethylenisatin<sup>11</sup> vom Schmp. 195—196° gewonnen.

### 9. Spiroverbindung **8**

a) In die siedende Lösung von 1 g 3,3-Dichlor-2,4-dioxo-1,8-trimethylen-1,2,3,4-tetrahydrochinolin in 35 ml absol. Äthanol wird ein kräftiger Strom von trockenem NH<sub>3</sub> eingeleitet. Nach 3 Stdn. saugt man vom ausgefallenen Niederschlag ab. Aus Eisessig gelbe Nadeln, Schmp. 310° (u. Zers.); Ausb. 0,35 g (46% d. Th.).

b) Aus 1 g *TMCH* analog a). Ausb. 0,25 g (78% d. Th.).

IR-Spektrum in KBr: 1650/cm . . . . . CO  
1630/cm . . . . . C=N sh

$C_{24}H_{18}N_4O_3$ . Ber. C 70,23, H 4,42. Gef. C 70,35, H 4,69.

Beim Versetzen des Filtrates mit Eisessig isoliert man noch 0,1 g (9% d. Th.) Bisamin **2**.

10. *N*-3-(2,4-dioxo-3-hydroxy-1,8-trimethylen-1,2,3,4-tetrahydro-chinolinyl)- $\beta$ -amino-isovaleriansäure (**9**)

1 g *TMCH* wird in 30 ml Äthanol heiß gelöst und mit einer heißen Lösung von 0,6 g  $\beta$ -Amino-isovaleriansäure in 50 ml Äthanol versetzt, rasch abgekühlt und 4 Stdn. bei 20° belassen. Man engt vorsichtig (40°) im Vak. ein und erhält 1,3 g (78% d. Th.) an **9**. Das Produkt kann zur Reinigung mit Äthanol gewaschen und bei 20° getrocknet werden.

$C_{17}H_{20}N_2O_5$ . Ber. N 8,43. Gef. N 8,28.

Zur Hydrolyse werden 0,5 g **9** mit 5 ml  $H_2O$  und 2 ml konz. HCl 1—2 Min. erwärmt. Beim Erkalten gewinnt man 0,3 g (94% d. Th.) *TMCH*. Aus dem Filtrat läßt sich mittels Aceton  $\beta$ -Aminoisovaleriansäure · HCl<sup>15</sup> vom Schmp. 120° isolieren.

11. 2-Oxo-3,4-dihydroxy-1,8-trimethylen-1,2-dihydro-chinolin<sup>2</sup> (**1**)

0,5 g *TMCH* in 12 ml 20proz. Äthanol und 0,5 g Aminosäure in 8 ml 2*n*- $H_2SO_4$  werden 1—2 Min. im Sieden gehalten, wobei  $CO_2$  entweicht. Das aus Eisessig umkristallisierte Produkt hat einen Schmp. von 228° und ist mit einem nach Werner<sup>2</sup> dargestellten identisch. Ausb. Tab. 2.

<sup>15</sup> W. Heintz, Ann. Chem. **198**, 58 (1879).