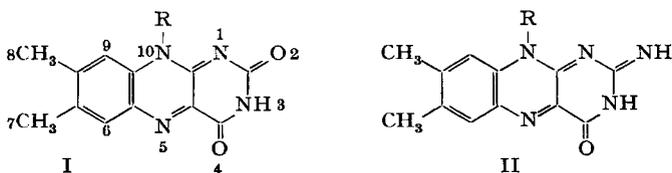


172. Synthesen in der Lumiflavinreihe IV¹⁾

von P. Hemmerich, B. Prijs und H. Erlenmeyer

(13. VI. 59)

Die komplexchemische Untersuchung des Riboflavins (I, R = Ribityl), welches als prosthetische Gruppe in einer grösseren Zahl von schwermetallhaltigen Redox-Enzymen enthalten ist²⁾, wird durch die vom Isoalloxazin-Kern bedingte Schwerlöslichkeit und die Lichtempfindlichkeit der Ribityl-Seitenkette stark erschwert. Wir suchten daher nach Modellen, welche bei weitgehender Strukturanalogie zum Riboflavin genügend wasserlöslich und lichtbeständig sein sollten.



Insbesondere erschienen uns Abwandlungen der Oxogruppen in 2- und 4-Stellung des Isoalloxazins erfolgversprechend, welche zu Flavinen mit Folsäure- bzw. Amino-pterin-Profil führen. Solche Derivate erwiesen sich jedoch als sehr schwer erhältlich^{3) 4) 5)}. Als erste Verbindung dieses Typus haben wir früher das 2-Lumiflavin (II, R = CH₃) beschrieben⁴⁾; H. C. S. WOOD und Mitarb.⁵⁾ gelangten inzwischen auf anderem Wege zur gleichen Verbindung sowie zum 2-Riboflavin (II, R = Ribityl). Im Falle dieser Verbindungen war bei nur geringer Erhöhung der Löslichkeit eine Verringerung der Stabilität gegenüber den 2-Oxo-Analogen zu verzeichnen.

Da die Stabilität chinoider Systeme durch Einführung nucleophiler Funktionen erhöht wird, haben wir uns der Synthese von Flavinen zugewandt, bei welchen die 8-ständige Methylgruppe des Riboflavins isoster durch NH₂ ersetzt ist. Bisher waren in dieser Reihe nur 2,4-Dioxo-Verbindungen des Typus IV bekannt^{6) 7)}. Unter diesen zeigt das Arabityl-Derivat starke Riboflavin-Wirkung *in vivo*⁸⁾, so dass auch die

¹⁾ III: P. HEMMERICH, *Helv.* **41**, 514 (1958).

²⁾ Vgl. z. B. H. R. MAHLER, A. S. FAIRHURST & B. MACKLER, *J. Amer. chem. Soc.* **77**, 1514 (1955); D. J. D. NICHOLAS, *Nature* **179**, 800 (1957); F. BERGEL & R. C. BRAY in «Metals and Enzym Activity», Biochemical Society Symposium, Cambridge 1958.

³⁾ G. H. HITCHINGS bemerkt in «Chemistry and Biology of Pteridines», Ciba-Foundation Symposium, London 1954, S. 121, dass langjährige Versuche zur Synthese von 2-Iminoflavinen ohne Erfolg blieben. Auch in der nahe verwandten, aber wesentlich stabileren Alloxazin-Reihe wurden analog 2,4-substituierte Derivate erst in jüngster Zeit durch J. BARDOS, D. B. OLSEN & T. ENKOJI, *J. Amer. chem. Soc.* **79**, 4704 (1957), beschrieben.

⁴⁾ P. HEMMERICH, S. FALLAB & H. ERLIENMEYER, *Helv.* **39**, 1242 (1956), erhielten sehr unbefriedigende Ausbeute an 2-Lumiflavin.

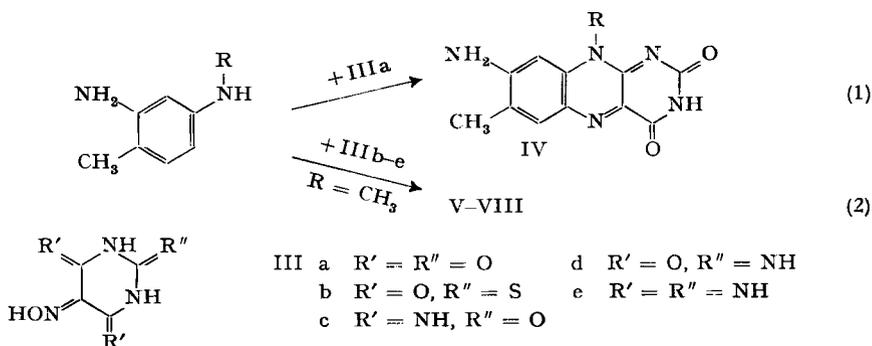
⁵⁾ R. M. CRESSWELL, A. C. HILL & H. C. S. WOOD, *J. chem. Soc.* **1959**, 698.

⁶⁾ S. NISHIDA, *Reports Sci. Research Inst. (Japan)* **25**, 316, 323 (1949), vgl. *Chem. Abstr.* **45**, 7127 (1951).

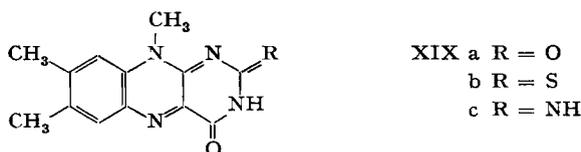
⁷⁾ F. E. KING, R. M. ACHESON & A. B. YORKE-LONG, *J. chem. Soc.* **1948**, 1926.

⁸⁾ S. NISHIDA, *Reports Sci. Research Inst. (Japan)* **27**, 267 (1951), vgl. *Chem. Abstr.* **46**, 6715 (1952).

biochemische Ähnlichkeit der Verbindungsklassen I und IV gesichert ist. Die erwähnten Verbindungen vom Typus IV wurden durch Kondensation⁹⁾ der entsprechenden 2,4-Diaminotoluole mit Violursäure (IIIa) erhalten:



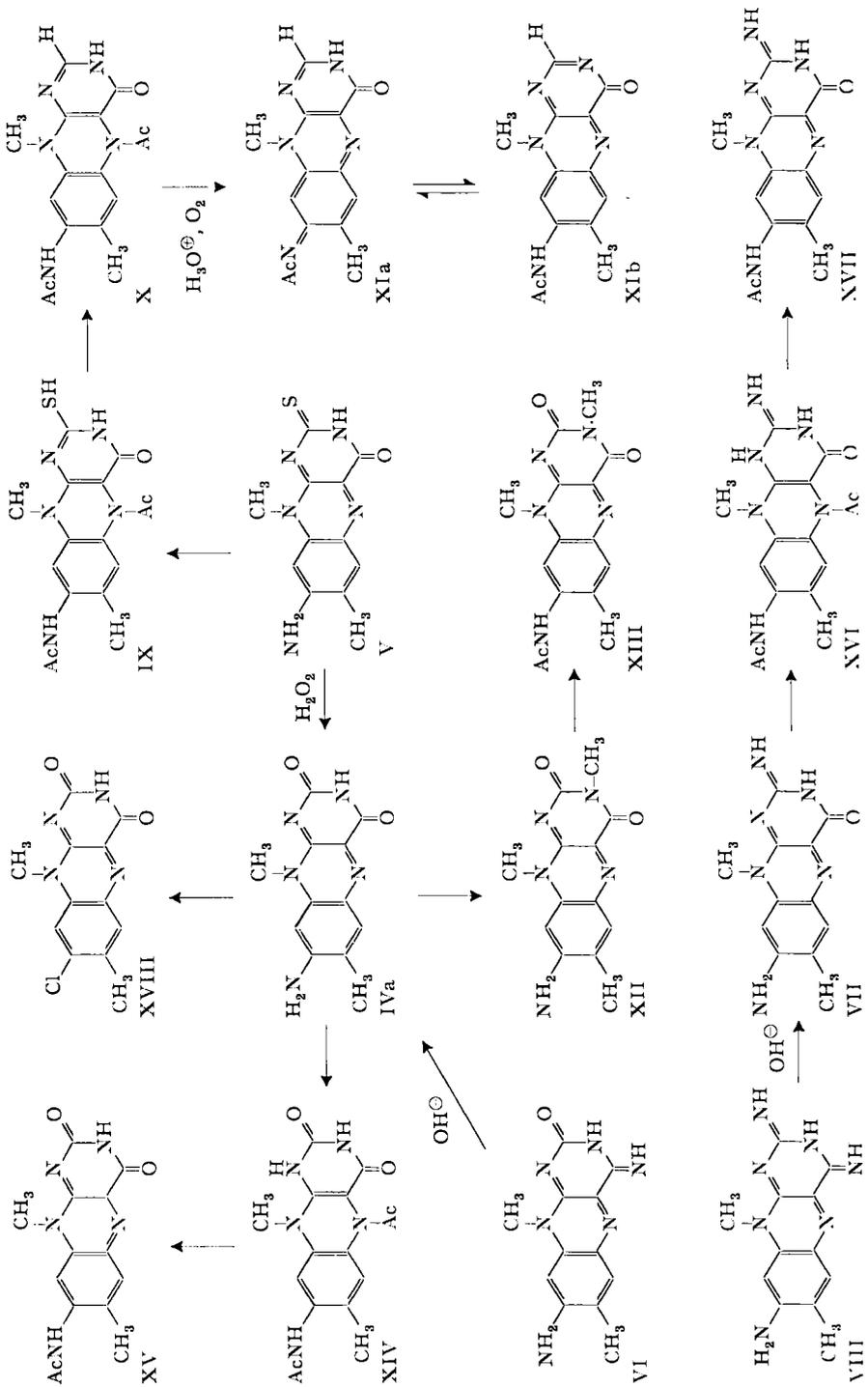
Wir fanden nun, dass diese Reaktion sich allgemein mit 5-Nitrosopyrimidinen des Typus III durchführen lässt. So erhielten wir durch Kondensation von 2-Amino-4-methylamino-toluol mit IIIb-e die gewünschten, im Pyrimidinkern modifizierten Flavine V-VIII (vgl. Reaktionsschema). Diese Reaktion wurde früher^{6) 7)} nur in neutralem oder alkalischem Milieu ausgeführt. Tatsächlich verläuft sie am besten bei pH 7-9. Da aber – wie die Erfahrung bestätigte – bei einigen der von uns gesuchten Verbindungen Alkali-Empfindlichkeit zu erwarten war, in neutralem wässrigem Milieu jedoch die Löslichkeit der Komponenten ungenügend ist und unter dem Einfluss von Mineralsäure die Reaktion ganz ausbleibt, arbeiteten wir bei verlängerter Reaktionsdauer in konz. essigsaurem Milieu.



Der nach Gleichung (2) zu gewinnende Typus von Flavinen ist wesentlich stabiler als die 8-Methyl-Analogen XIX^{4) 5)}. So wird das 2-Thioflavin V im Gegensatz zu XIXb⁴⁾ durch Luft nicht merklich angegriffen; erst H_2O_2 führt langsam, bei pH > 8 schneller, zur Entschwefelung unter Bildung von IVa. Eine Empfindlichkeit der 10-ständigen Methylgruppe gegen Alkali wie bei 2-Lumiflavimin (XIXc)⁵⁾ konnte trotz eingehender Prüfung bei entsprechenden 8-Aminoderivaten (VII, VIII) nicht festgestellt werden.

⁹⁾ Laut R. KUHN & A. H. COOK, Ber. deutsch. chem. Ges. **70**, 763 (1937), gelang die Synthese von Alloxazin aus Anilin und Violursäure nicht. S. NISHIDA berichtet dasselbe für Amine $m\text{-NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{-R}$ ($\text{R} = \text{NO}_2, \text{H}, \text{CH}_3, \text{OH}, \text{CO}_2\text{H}$), vgl. Bull. Inst. Phys. Chem. Research Tokyo **22**, 872 (1943) (Chem. Abstr. **43**, 7938 (1949)); ähnlich K. GANAPATI, J. Ind. chem. Soc. **15**, 77 (1938). In allen diesen Fällen wurden nur Anilin-Derivate untersucht, deren freie p-Stellung sicherlich bevorzugt mit Violursäure reagiert. Hingegen gelang es den unter ⁷⁾ zitierten Autoren, 7,8-Dimethoxy-alloxazin aus Aminoveratrol und Violursäure darzustellen.

Reaktionsschema

Ac = CH₃CO-

Überraschend ist die leichte selektive Verseifbarkeit 4-ständiger Iminogruppen. So wird das 2,4-Diimin VIII schon durch kurze Behandlung mit warmem Alkali in das 2-Monoimin VII übergeführt, welches seinerseits gegen Alkali beständig ist. Aus dem 4-Monoimin VI entsteht unter den gleichen Bedingungen die Dioxoverbindung IVa.

Die 8-Aminoflavine sind mit wachsender Anzahl der basischen Substituenten zunehmend wasserlöslich; sie lassen sich als freie Basen wie auch als Hydrochloride oder Alkalisalze leicht kristallin erhalten. Diese Kristallisate sind solvatisiert und nach scharfer Trocknung stark hygroskopisch. Zur Analyse wurden daher die Pikrate und, wo herstellbar, auch die Acetyl-Leukoderivate¹⁰⁾ herangezogen. Letztere sind von den 4-Iminen VI und VIII nicht erhältlich; es bilden sich in diesen Fällen bei der reduktiven Acetylierung luftempfindliche und uneinheitliche Produkte¹¹⁾.

Durch Entschwefelung des Leukothioflavins IX nach MOZINGO gelangt man – analog zu der von uns früher beschriebenen Reaktionsfolge¹⁰⁾ – zum 2-Desoxy-5-acetyl-8-nor-8-acetylamino-leukolumiflavin (X), welches seinerseits bei saurer Hydrolyse unter Autoxydation in das karminrote, schwach orange fluoreszierende 2-Desoxy-8-nor-8-acetylamino-lumiflavin (XI) übergeht.

Im Gegensatz zu den bisher von uns untersuchten 2- oder 4-Desoxyflavinen¹⁾¹⁰⁾, welche schon durch Luftsauerstoff zu Lumiflavin (XIXa) oxydiert werden, ist XI gegen milde Oxydantien und auch gegen kalte Natronlauge beständig. Mit letzterer bildet es gut wasserlösliche Salze, aus welchen es sich durch Säuren unverändert freisetzen lässt. Man kann daraus schliessen, dass XI in tautomerem Gleichgewicht XIa \rightleftharpoons XIb vorliegt, in welchem die phenazonähnliche Form a wohl vorherrschend ist.

Zum Vergleich haben wir noch das 8-Nor-8-acetylamino-3-methylumiflavin (XIII) durch Methylierung von IVa und nachfolgende Acetylierung hergestellt. Auch diese Verbindung enthält eine saure NH-Gruppe, welche mit NaOH unter Salzbildung reagiert, ist jedoch nur gelborange gefärbt und zeigt die starke, grüne Flavin-Fluoreszenz, so dass der chinoide Chromophor im Pyrimidinkern angenommen werden darf.

Allgemein ist die 8-ständige NH₂-Gruppe der Aminoflavine nur sehr schwach basisch und lässt sich daher nur schwer acylieren und diazotieren. So erhielten wir zwar aus IV durch SANDMEYER-Reaktion in 6-n. HCl das 8-Chlorderivat XVIII, bei VI–VIII liess sich jedoch die 8-ständige NH₂-Gruppe nicht selektiv diazotieren, da die Iminogruppen bevorzugt mit HNO₂ reagieren.

Dem Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil

Allgemeines. Die Verbrennungsanalysen bereiten bei Flavinen oft Schwierigkeiten. Die meist thermisch sehr widerstandsfähigen Verbindungen kristallisieren nur als sehr stabile Solvate aus hochpolaren Lösungsmitteln. Die unsolvatisierten Verbindungen sind meist stark hygroskopisch. Zur Analyse wurde, wenn nicht anders vermerkt, 12 Std. bei 100–120°/0,01 Torr über KOH getrocknet.

¹⁰⁾ Vgl. P. HEMMERICH & H. ERLNMEYER, Helv. **40**, 180 (1957).

¹¹⁾ Wir vermuten, dass in diesen Fällen sich ein 4,5-ständig anellierter instabiler Imidazolring bildet.

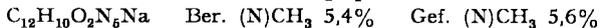
Verbindungen, deren thermisches Verhalten nicht angegeben ist, verändern sich nicht bis 320°. Smp. sind auf dem KOFLER-Block bestimmt und korrigiert, Fehlergrenze im Bereich 220–320° ± 3°. Im Falle unscharfer Zersetzungspunkte wird kein Intervall angegeben.

Die papierchromatographischen Untersuchungen wurden bei 20 ± 2° auf WHATMAN-1-Papier aufsteigend in folgenden Fließmittelgemischen durchgeführt: 1. Eisessig/n-Butanol/Wasser 2:6:2; 2. Ameisensäure/n-Butanol/Wasser 2:6:2; 3. Ameisensäure/n-Butanol/Wasser 4:2:2; 4. Eisessig/n-Butanol/2-n. HCl 2:6:2; 5. Dimethylformamid/n-Butanol/Wasser 3:4:3; 6. Dimethylformamid/n-Butanol/2-n. Ammoniak 2:6:2. – «Chromatographisch rein» nennen wir Substanzen, deren Chromatogramm nur einen einheitlichen, im sichtbaren oder UV.-Licht absorbierenden Fleck zeigt, «chromatographisch identisch» Substanzen gleicher Farbe und Fluoreszenz bei gleichem Rf in mindestens 2 Fließmitteln, wobei wir für die Identität eine Toleranz im Rf von 0,005 zulassen. Das Fließmittelgemisch wurde jeweils ca. 1 Std. vor Gebrauch frisch bereitet.

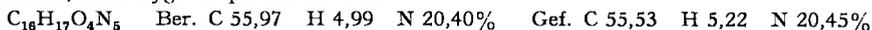
Kondensation von 2-Amino-4-methylamino-toluol mit 5-Nitrosopyrimidinen. 1 Teil 2-Nitro-4-methylaminotoluol¹²⁾ wurde in 10 Teilen Eisessig suspendiert und bei Zimmertemperatur und Atmosphärendruck bis zur quantitativen Wasserstoffaufnahme bzw. bis zum Verschwinden der Gelbfärbung mit 10-proz. Pd-Kohle hydriert. Die Hydrierlösung saugte man schnell durch eine Glasfritte in einen Sulfierkolben, in welchem die äquivalente Menge Nitrosopyrimidin (III) in 10 Teilen Eisessig suspendiert war. Unter Rühren und Spülen mit N₂ erwärmte man das Gemisch zum Sieden und arbeitete weiter wie jeweils unten angegeben.

Die Nitrosopyrimidine III wurden in bekannter Weise¹³⁾ aus den entsprechenden Barbitursäurederivaten durch Umsatz mit 1,5 Äquiv. NaNO₂ in 4–6-n. Essigsäure bei 20° gewonnen. Zur Vervollständigung der Reaktion rührte man 2 Std. bei 50°, dann 1 Std. bei 80° und filtrierte. Die Produkte wurden mit 2-n. HCl gewaschen und bei 50°/12 Torr getrocknet.

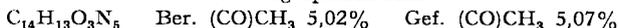
1. *8-Nor-8-amino-lumiflavin (7-Methyl-8-amino-10-methyl-isoalloxazin) (IVa)*⁶⁾. 1 g 2-Nitro-4-methylamino-toluol wird wie beschrieben hydriert und mit 1 g Violursäure (IIIa) zur Reaktion gebracht. Nach halbstündigem Sieden ist die Violursäure in Lösung gegangen und es hat sich ein roter, kristalliner Niederschlag gebildet. Er wird in lauwärmer 1-n. NaOH gelöst, mit wenig Aktivkohle behandelt und filtriert. Beim Abkühlen kristallisieren 1,5 g (89%) des Flavin-Na-Salzes in verfilzten, rostroten Nadeln in chromatographisch reiner Form.



Aus dem Na-Salz erhält man bei Behandlung mit heisser verd. Essigsäure quantitativ IVa in karminroten Kristallen. Dieses ist jedoch ebenso wie das aus heisser verd. HCl kristallisierende rotbraune Hydrochlorid nach scharfer Trocknung stark hygroskopisch. Zur Analyse bereiten wir daher nach dem früher¹⁰⁾ beschriebenen Verfahren aus 1 g des Na-Salzes das Di-N-acetyl-leukoderivat XIV. Durch Umfällen aus 2-n. NH₄OH erhält man 0,6 g (49%) farbloses, schön kristallines, nicht hygroskopisches Produkt.

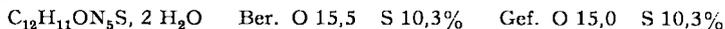


XIV wird durch kurze saure Verseifung bei Luftzutritt unter selektiver Abspaltung der 5-Acetylgruppe und Autoxydation in 8-Nor-8-acetylamino-lumiflavin (XV) übergeführt, welches man auch bei mehrstündigem Kochen von IVa mit Acetanhydrid in Gegenwart von H₂SO₄ oder Pyridin erhält, allerdings in nicht sehr guter Ausbeute und Reinheit. Das aus XIV erhaltene XV war nach Umfällen aus NaOH chromatographisch rein.



Das Acetylderivat XV lässt sich von freiem IVa chromatographisch gut unterscheiden.

2. *8-Nor-8-amino-2-thiolumiflavin (V)*. 1 g 2-Nitro-4-methylamino-toluol wurde nach obiger Vorschrift hydriert und mit 1,1 g 2-Thioviolursäure (IIIb) zur Reaktion gebracht. Aus der zunächst tiefvioletten Lösung schieden sich schon nach kurzem Sieden unter Aufhellung braunrote Kristalle reichlich ab. Nach 40 Min. filtrierte man heiss, wusch schnell mit kaltem Eisessig und Aceton und erhielt nach Trocknen im Exsikkator 1,6 g (80% ber. auf V + CH₃COOH) violettbrauner, chromatographisch reiner Kristalle von 8-Nor-8-amino-2-thiolumiflavin (V). Zur Analyse wurde aus kalter 1-n. NaOH mit heisser verd. Essigsäure gefällt und 3 Tage bei 20°/740 Torr über P₂O₅ getrocknet.



¹²⁾ J. PINNOW, Ber. deutsch. chem. Ges. **28**, 3040 (1895).

¹³⁾ Vgl. z. B. W. TRAUBE, Ber. deutsch. chem. Ges. **33**, 3044 (1900).

Bei schärferem Trocknen gibt die Verbindung das Kristallwasser ab, wird jedoch äusserst hygroskopisch.

Das in wässriger Lösung orangefarbene, nicht fluoreszierende Thioflavin V ist nicht empfindlich gegen Luftsauerstoff. Bei der Behandlung mit kaltem H_2O_2 wird die Verbindung jedoch schon in der Kälte, besonders schnell bei $pH > 8$, unter Aufhellung entschweifelt, wobei das orangefarbene, grün fluoreszierende IVa entsteht. Diese Reaktion ist charakteristisch für Thioflavine; vgl. 4)¹⁰. V bildet ein orangefarbenes, in der Kälte wenig wasserlösliches Na-Salz und ein violettes, in der Aufsicht schwarzgrünes Hydrochlorid. Letzteres verliert HCl bei scharfem Trocknen und wird durch Wasser hydrolysiert.

Zur weiteren Charakterisierung erwies sich wiederum das Diacetyl-Leukoderivat IX am besten geeignet. Aus 3 g V erhielten wir in üblicher Weise¹⁰) 2,5 g (63%) IX. Infolge seiner starken Acidität lässt es sich aus seinen Salzen nur durch Mineralsäuren vollständig freisetzen und ist sehr leicht hydrolysierbar. Durch Umfällen aus verd. NH_4OH mit Eisessig erhält man nur sehr wenig essigsäurehaltiges Produkt, das 12 Std. bei $70^\circ/0,01$ Torr getrocknet wurde.

$C_{16}H_{17}O_3N_5S$, CH_3COOH Ber. (CO) CH_3 10,7% Gef. (CO) CH_3 10,5; 11,0%

Durch schnelles Umfällen aus eiskalter 1-n. NH_4OH (Kohle) mit konz. HCl erhält man ein analysenreines, schwach rötlich gefärbtes Produkt.

$C_{16}H_{17}O_3N_5S$ Ber. C 53,47 H 4,77% Gef. C 53,39 H 4,90%

3. 8-Nor-8-amino-4-lumiflavimin (VI). 2 g 2-Nitro-4-methylamino-toluol werden wie beschrieben hydriert und mit 2 g Violursäure-4,6-diimid (IIIc) umgesetzt. Die Reaktion wurde nach zweistündigem Sieden abgebrochen, obwohl das Gemisch noch immer starke Violurimid-Reaktion zeigte. Man filtrierte vom Ungelösten heiss ab. Der orangefarbene Rückstand, grösstenteils Ausgangsmaterial, wurde in heisser 6-n. HCl gelöst. Man filtrierte heiss und stumpfte mit NH_4OH auf pH ca. 1 ab. Das Violurimid bleibt hierbei in Lösung. Im Laufe mehrerer Std. erhielt man 200 mg rostbraune Kristalle. Nach der chromatographischen Prüfung bestanden diese zu ungefähr gleichen Teilen aus zwei Komponenten, von welchen die schnellere laufende als das gesuchte Imin VI identifiziert wurde (vgl. unten), die langsamere hingegen als das 4-Oxo-Analoge IVa.

Aus der Mutterlauge der Reaktion kristallisierten im Laufe von 24 Std. 0,1 g VI-Hydrochlorid in schönen, ockergelben Kristallen, aus 2-n. HCl rostrote, weiche, schwach hygroskopische, chromatographisch reine Kristallfasern.

$C_{12}H_{13}ON_6Cl$ Ber. C 49,24 H 4,48 N 28,71% Gef. C 49,08 H 4,56 N 28,87%

Im Gegensatz zu IVa ist das Imin VI in warmem Wasser schon gut löslich – orangefarben mit blaugrüner Fluoreszenz –, nicht hingegen in NaOH. Die Unlöslichkeit in NaOH ist allen bisher beschriebenen Flaviminen gemein⁴⁾⁵⁾. Da die Imine sich aus alkalischer Suspension nicht mehr mit höheren Alkoholen extrahieren lassen, muss es sich bei den unlöslichen Körpern um Salze handeln. Bei kurzem Aufkochen in NaOH geht das 4-Imin VI unter Abspaltung der NH-Gruppe in Lösung, es kristallisiert IVa als Na-Salz, wie durch chromatographischen Vergleich mit authentischem Material sichergestellt wurde.

Das Pikrat von VI wurde aus wässrig-alkoholischer Lösung gefällt und aus Alkohol-Dimethylformamid umgelöst.

$C_{18}H_{15}O_8N_9$ Ber. C 44,54 H 3,12 N 25,97% Gef. C 44,78 H 3,36 N 26,31%

Ein Diacetyl-Leukoderivat liess sich nicht in reiner Form fassen.

4. 8-Nor-8-amino-2-lumiflavimin (VII). 1 g 2-Nitro-4-methylamino-toluol wurde wie beschrieben hydriert und mit 1 g Violursäure-2-imid (III d) zur Reaktion gebracht. Nach zweistünd. Reaktion bei Rückflusstemperatur wurde heiss filtriert, der Rückstand in siedender 2-n. HCl gelöst, schnell abgekühlt und sofort filtriert. Man erhielt 0,25 g VII-Hydrochlorid in chromatographisch reinen, rostroten, faserigen, hygroskopischen Kristallen. Bei längerem Stehen des Filtrats scheiden sich 0,5 g kristallines Ausgangsmaterial ab.

Die Mutterlauge der Reaktion wurde im Vakuum auf die Hälfte eingeeengt, mit einem gleichen Volumen 2-n. HCl versetzt und mit den zuerst erhaltenen Kristallen angeimpft. Man erhielt so im Laufe von 24 Std. weitere 0,28 g VII-Hydrochlorid, zusammen 0,53 g (28%). Zur Analyse kristallisierte man aus 2-n. HCl um.

$C_{12}H_{12}ON_6$, HCl, H_2O Ber. N 27,05 Cl 11,40% Gef. N 27,04 Cl 11,01%

VII ist gegen verd. NaOH auch in der Wärme ziemlich beständig.

Das Pikrat wurde aus salzsaurem Äthanol gefällt und aus Dimethylformamid-Äthanol umkristallisiert.

$C_{18}H_{15}O_8N_9$ Ber. C 44,54 H 3,12 N 25,97% Gef. C 44,41 H 2,83 N 26,24%

Das Diacetyl-Leukoderivat XVI wurde in üblicher Weise erhalten und durch Umfällung aus 1-n. NaOH mit Essigsäure gereinigt: Farblose, wasserhaltige Kristalle. Zur Analyse wurde 12 Std. bei 100°/0,01 Torr getrocknet.

$C_{16}H_{18}O_3N_6 \cdot \frac{1}{2} H_2O$ Ber. C 54,64 H 5,46 N 23,91% Gef. C 55,04 H 5,48 N 23,63%

Aus dieser Verbindung erhält man durch Verseifung in 6-n. HCl unter Zusatz eines Tropfens Perhydrol 8-Nor-8-acetylamino-2-lumiflavimin-hydrochlorid (XVII) in orangeroten, hygroskopischen Nadeln, die aus 2-n. HCl umkristallisiert wurden.

$C_{14}H_{14}O_2N_6 \cdot HCl$ Ber. N 25,04% Gef. N 24,79%

5. 8-Nor-8-amino-lumiflavin-2,4-diimin (VIII). 1 g 2-Nitro-4-methylamino-toluol wurde wie beschrieben hydriert und mit 1 g Violursäuretriimid (IIIe) umgesetzt. Nach einstünd. Sieden ist die tiefrote, grün fluoreszierende Lösung fast homogen. Man filtriert heiss von unverbrauchtem Ausgangsmaterial (ca. 100 mg) ab, versetzt mit einem gleichen Volumen 2-n. HCl und lässt 24 Std. bei 0° stehen. Das abgeschiedene VIII-Dihydrochlorid, 1,4 g (70%) schöne, bronzefarbene, chromatographisch reine Stäbchen, wird abfiltriert, mit 2-n. HCl, Aceton und Äther gewaschen und aus 2-n. HCl umkristallisiert.

$C_{12}H_{15}N_7Cl_2$ Ber. C 43,91 H 4,61 N 29,87 Cl 21,61%
Gef. „ 43,91 „ 4,71 „ 29,90 „ 21,50%

Die Kristalle lösen sich leicht in Wasser mit orangeroter Farbe und tiefgrüner Fluoreszenz unter Freisetzung der Base.

Durch Fällung mit äthanolischer Pikrinsäure und Umkristallisieren aus wässrigem Dimethylformamid erhält man aus dem Dihydrochlorid das Pikrat.

$C_{18}H_{16}O_7N_{10}$ Ber. N 28,92% Gef. N 28,94%

VIII gibt mit verd. Alkalien schwerlösliche Niederschläge, welche sich beim Erwärmen vorübergehend auflösen. Der nun erhaltene Niederschlag besteht aus chromatographisch reinem 8-Nor-8-amino-2-lumiflavimin (VII), identifiziert durch Vergleich mit authentischem Material. Aus 2-n. HCl erhält man das schon oben beschriebene Hydrochloridhydrat von VII in rostroten Fasern.

$C_{12}H_{12}ON_6 \cdot HCl, H_2O$ Ber. C 46,4 H 4,9 N 27,0 Cl 11,4%
Gef. „ 46,8 „ 5,5 „ 26,6 „ 10,8%

8-Nor-8-chlor-lumiflavin (7,10-Dimethyl-8-chlor-isoalloxazin (XVIII)). 0,7 g 8-Nor-8-amino-lumiflavin (IVa) wurden bei 0° in 60 ml 6-n. HCl suspendiert und vorsichtig mit einer wässrigen Lösung von 0,5 g $NaNO_2$ versetzt. Man liess das Gemisch unter Rühren langsam auf Raumtemperatur kommen, bis nach ca. 30 Min. alles gelöst war, setzte 1 g $CuCl_2^{14}$ in wenig konz. HCl zu und erwärmte $\frac{1}{2}$ Std. auf dem Wasserbad. Nach Filtration von einer geringen farblosen Abscheidung stimpfte man die Lösung unter Kühlung mit konz. NH_4OH auf pH 2-3 ab. Dabei schieden sich 0,4 g (53%) chromatographisch reines XVIII in orangegelben, feinen Kristallen ab. Zur Analyse wurde aus 2-n. NaOH mit heisser verd. Essigsäure gefällt.

$C_{12}H_9O_2N_4Cl$ Ber. C 52,1 H 3,3 N 20,3 Cl 12,8%
Gef. „ 52,2 „ 3,3 „ 20,4 „ 12,4%

2-Desoxy-5-acetyl-8-nor-8-acetylamino-leukolumiflavin (X). 1 g 2-Thio-5-acetyl-8-nor-8-acetylamino-leukolumiflavin (IX) wurde in 30 ml H_2O suspendiert und mit 4 ml 2-n. NH_4OH in Lösung gebracht. Nach Zugabe einer neutralen wässrigen Aufschlämmung von aus ca. 8 g Legierung frisch bereitetem RANEY-Nickel stellte man mit 2-n. Essigsäure auf pH 7 und erwärmte 1 Std. unter Rühren auf dem Dampfbad. Dabei scheidet sich X in farblosen Kristallfasern ab. Man kühlt auf 0° und filtriert. Aus dem Filtrat lässt sich durch Neutralisieren mit konz. HCl auf Kongo kein unverbrauchtes IX mehr abscheiden. Der Rückstand wird mit Kohle versetzt und mit 10-ml-Portionen von 2-n. NH_4OH extrahiert, bis das Filtrat beim Ansäuern keine Fällung mehr gibt. Zum Filtrat (ca. 50 ml) giesst man 25 ml siedende 4-n. Essigsäure. Der abgeschiedene

¹⁴) Vgl. A. I. VOGEL, Textbook of Practical Organic Chemistry, London 1948, S. 186.

voluminöse Niederschlag aus farblosen Kristallfasern wird nach mehrstündigem Stehen bei 0° filtriert und mit Wasser, Aceton und Äther gewaschen: 0,58 g (64%) X, Zers. ca. 300°. Zur Analyse wurde die Umfällung aus NH₄OH wiederholt. Nach 12 Std. bei 100°/0,01 Torr enthalten die Kristalle noch 1/2 Mol Essigsäure.

C₁₆H₁₇O₃N₅ · 1/2 CH₃COOH Ber. C 57,15 H 5,37 N 19,61 (CO)CH₃ 10,51%
Gef. „ 57,28 „ 5,56 „ 19,59 „ 11,31%

2-Desoxy-8-nor-8-acetylamino-lumiflavin (XI). 0,3 g X werden in 5 ml 6-n. HCl 20 Min. auf dem Dampfbad unter Umschütteln erwärmt. Das reichlich ausgefallene, rotviolette, schön kristalline Semichinon wird durch Zugabe von 0,5 ml Perhydrol wieder in Lösung gebracht, deren Farbe im Laufe von 10 Min. von Violett nach Ziegelrot umschlägt. Man stumpft nun unter guter Kühlung mit konz. NH₄OH auf pH 2-3 ab und lässt 24 Std. bei 0° kristallisieren. Man erhält 0,15 g (58%) XI in kirschroten, stark hygroskopischen, chromatographisch reinen Kristallen. Zur Analyse wurde aus 1-n. NaOH mit Essigsäure umgefällt.

C₁₄H₁₃O₂N₅ Ber. C 59,35 H 4,63 (CO)CH₃ 5,30% Gef. C 58,69 H 5,35 (CO)CH₃ 5,50%

XI ist in H₂O mässig löslich mit karminroter Farbe und orangegelber Fluoreszenz, sehr gut in NaOH, violettrot. Beim Erwärmen der alkalischen Lösung wird XI schnell unter Aufhellung nach Orangegelb zerstört. In neutraler und schwach saurer Lösung ist XI gegen H₂O₂ in der Kälte resistent.

Das Pikrat fällt man aus konz. essigsaurer Lösung mit äthanolischer Pikrinsäure. Nach Umkristallisieren aus einem pikrinsäurehaltigen Gemisch von Dimethylformamid/Eisessig/Isopropyläther glänzende karminrote Stäbchen.

C₂₀H₁₆O₆N₈ Ber. C 46,88 H 3,15 N 21,87% Gef. C 46,26 N 3,26 N 22,23%

3-Methyl-8-nor-8-amino-lumiflavin (XII). 0,25 g Na-Salz von 8-Nor-8-aminolumiflavin (IVa) wurden in 40 ml 0,5-n. alkoholisch-wässriger (1:1) NaOH suspendiert und mit 2 ml CH₃J 3 Std. zum Rückfluss erhitzt. Der suspendierte Festkörper löste sich danach nicht mehr in warmer überschüssiger NaOH. Man filtrierte bei ca. 50°, wusch mit 2-n. CH₃COOH und Aceton und erhielt 0,19 g (72%) verfilzte, bronzefarbene Nadeln. Zur Analyse wurde aus viel heissem Dimethylformamid umkristallisiert und 12 Std. bei 140°/0,01 Torr getrocknet.

C₁₃H₁₃O₂N₅ Ber. C 57,56 H 4,83 N 25,82% Gef. C 57,07 H 5,26 N 25,84%

Eine Probe wurde mit Eisessig/Acetanhydrid 10 Min. aufgekocht und siedend heiss filtriert. Bei 0° kristallisierte das Acetylderivat XIII in orangefelben Stäbchen, die sich in kalter verd. NaOH mit intensiv roter Farbe lösen. Zur Analyse wurde aus 2-n. NaOH mit Eisessig gefällt.

C₁₅H₁₅O₃N₅ Ber. C 57,5 H 4,8 N 22,4 (CO)CH₃ 5,1%
Gef. „ 57,2 „ 5,3 „ 22,7 „ 4,8%

Wir danken dem Mikroanalytischen Laboratorium der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel (Drs. H. GYSEL und W. PADOWETZ), für die Ausführung der Mikroanalysen, insbesondere der oft schwierigen Gruppenbestimmungen.

Fräulein H. KULL sind wir für präparative Mitarbeit zu Dank verpflichtet.

SUMMARY

2,4-Substituted flavins (isoalloxazines) bearing an NH₂-group in 8-position were found to be stable and easily accessible. In particular the 2- and 4-imino-, resp. 2,4-diimino-compounds are similar to riboflavin in colour and fluorescence, but readily water-soluble. The chemical behaviour of this new class of flavins is discussed.

Anstalt für Anorganische Chemie der Universität Basel