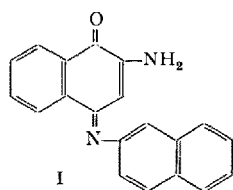


in chloroform showed characteristic -NH- absorptions for a primary amine group and an intense absorption at $16.78 \text{ m}\mu$, the carbonyl stretching frequency of a quinone. The same product was isolated from filter paper impregnated with 2-aminonaphthalene and exposed to sunlight. The well known rapid coloration of spots of 2-aminonaphthalene on paper chromatograms and thin layer plates when exposed to UV-light were shown to be due to the formation of this compound as well as the pink coloration of solid 2-aminonaphthalene.

The compound isolated was identical with the known 2-amino-1,4-naphthoquinone- N^4 ,2-naphthylimine^{2,3} (I) (mixed m.p., IR- and UV-spectra, Rf values and fluorescence). 2-Acetamide-1,4-naphthoquinone- N^4 ,2-naphthylimine³ prepared from the isolated quinone-imine was identical with an authentic sample. The condensation of 2-amino-1,4-naphthoquinone-4-imine hydrochloride⁴ with 2-aminonaphthalene in absolute ethanol also yielded this quinone-imine as the major product.



Aged 10% oil solutions of 2-aminonaphthalene were extracted (90% ethanol) and the concentrated extracts chromatographed on silica gel G (benzene-acetone 8:1 and hexane). One reddish-orange spot having the identical Rf, fluorescence, and UV-spectra as the known 2-amino-1,4-naphthoquinone- N^4 ,2-naphthylimine was obtained.

In view of the reported remarkable affinity of these quinone-imines for protein, it seems quite possible that the increase in carcinogenicity observed by BONSER may be due to this substance. Furthermore, the observation that the formation of the quinone-imine is a very rapid reaction, makes it unlikely that an oil solution that is completely free of this compound can be prepared and administered to animals. It is possible that the carcinogenic action of 2-aminonaphthalene is due to the presence of this quinone-imine rather than 2-aminonaphthalene itself. A further possibility is the formation of this compound from 2-aminonaphthalene in the body. Studies on the carcinogenicity, metabolism and protein binding properties of this quinone-imine are in progress⁶.

Zusammenfassung. Es wurde gezeigt, dass das Chinonimin 2-Amino-1,4-naphthochinon- N^4 -2-naphthylamin die Farbe von gealtertem Öl in der 2-Aminonaphthalinlösung verursacht. Diese farbige Verbindung entsteht durch die Photooxydation des Amins und scheint eine wichtige Rolle für die erhöhte krebserzeugende Wirksamkeit des alten Öls zu spielen.

E. BRILL and J. L. RADOMSKI

Department of Pharmacology, University of Miami
School of Medicine, Coral Gables (Florida, USA),
February 8, 1965.

² H. J. TEUBER and G. JELLINEK, Chem. Ber. 37, 1841 (1954).

³ S. F. D. ORR, P. SIMS, and D. MANSON, J. chem. Soc. 1956, 1337.

⁴ L. F. FIESER and M. FIESER, J. Am. chem. Soc. 56, 1565 (1934).

⁶ Supported by Public Health Service Research Grant No. CA-05449-04, National Cancer Institute N.I.H., Bethesda (Maryland).

Zur Biosynthese von Reserpinin und Vincamedin

Die Beteiligung von Tryptophan an der Biosynthese von Indolalkaloiden ist in vielen Fällen experimentell gesichert worden¹. Weniger klar bleibt dagegen die Herkunft des C_{10} - bzw. C_9 -Fragmentes (I), welches ein charakteristisches Merkmal zahlreicher Verbindungen dieser Reihe bildet. Besonders in den letzten Jahren sind dafür in der Literatur verschiedene Hypothesen aufgestellt worden¹. Die experimentelle Untersuchung hat bisher anscheinend zu keinem eindeutigen Resultat geführt. LEETE et al.²⁻⁴ haben die Ergebnisse ihrer Versuche über die Biosynthese der Indolalkaloide in *R. serpentina* dahin interpretiert, dass das fragliche Strukturelement aus drei Acetat-, einer Malonat-, sowie einer mit Formiat nahe verwandten C_1 -Einheit entsteht. Ihre experimentellen Befunde konnten allerdings in analog durchgeführten Versuchen von BATTERSBY et al.⁵ mit *R. serpentina* und *C. ipecacuanha* nicht bestätigt werden. Nachfolgend berichten wir kurz über eigene Versuche zur Biosynthese von Indolalkaloiden in Pflanzen der Gattung *Vinca*.

Verfütterung von $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Natriumacetat an junge Schösslinge von *Vinca major* L. lieferte unter anderem radiochemisch reines Reserpinin (II)⁶, mit einer Einbaurrate

von $2 \cdot 10^{-3}\%$. Zur Ermittlung der Aktivitätsverteilung wurde das Material nach den im Schema angegebenen Reaktionen abgebaut. Die erhaltenen Resultate (Tabelle) sprechen für eine sehr weitgehende Verschmierung der Radioaktivität; dies geht aus der Markierung der beiden O-Methylgruppen besonders deutlich hervor. Im Übrigen ergibt sich eine auffallende Übereinstimmung der für die Kohlenstoffatome 18 und 19 gefundenen Werte mit denjenigen, welche BATTERSBY et al.⁵ für die entsprechenden Atome von ähnlich gebauten Alkaloiden anderer Pflanzen ermittelt haben.

Junge Schösslinge von *Vinca difformis* Pourr. wurden ebenfalls in Gegenwart von $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Natriumacetat gezüchtet. Die Aufarbeitung lieferte radioaktives Vincamedin,

¹ Für eine zusammenfassende Darstellung vgl. E. LEETE in P. BERNFELD, *Biogenesis of Natural Compounds* (Pergamon Press, 1963), p. 768; ferner A. R. BATTERSBY, *Biogenesi delle Sostanze Naturali* (Accademia Nazionale dei Lincei, Roma 1964), p. 47.

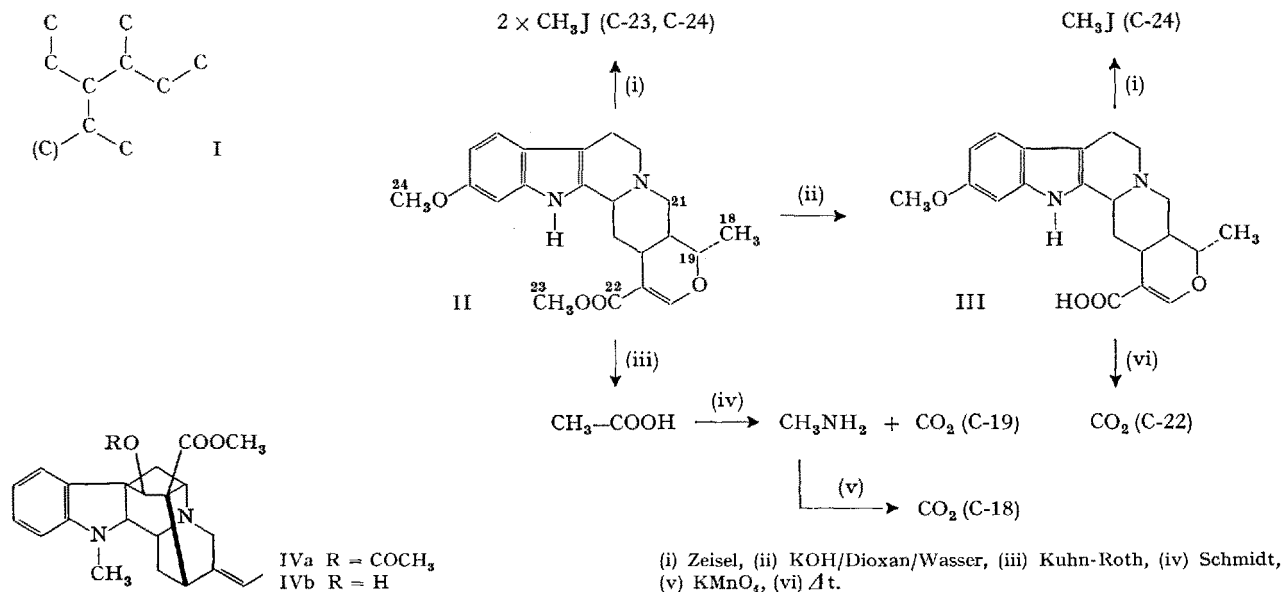
² P. N. EDWARDS und E. LEETE, Chem. Ind. 1961, 1666.

³ E. LEETE und S. GHOSAL, Tetrahedron Lett. 1962, 1179.

⁴ E. LEETE, S. GHOSAL und P. N. EDWARDS, J. Am. chem. Soc. 84, 1068 (1962).

⁵ A. R. BATTERSBY, R. BINKS, W. LAWRIE, G. V. PARRY und B. R. WEBSTER, Proc. chem. Soc. 1963, 369.

⁶ M. HESSE, *Indolalkaloide in Tabellen* (Springer Verlag, 1964).



IVa⁶ (Einbaureate $7 \cdot 10^{-4}\%$), worin der Hauptanteil der Aktivität (87%) in der als interner Standard dienenden O-Acetylgruppe lokalisiert war. Der Abbau der durch Hydrolyse von Vincamedin gewonnenen Essigsäure zeigte, dass bereits in dieser Einheit eine geringfügige Verschmierung der Radioaktivität stattgefunden hatte (78% in der Carboxylgruppe, 9% in der Methylgruppe). Das zweite Produkt der Hydrolyse wurde in Vincamajin (IVb)⁶ übergeführt, welches lediglich 8% der ursprünglichen Aktivität aufwies. Für einen weiteren Abbau reichte das Material nicht aus.

Die angebliche Beteiligung von C_1 -Einheiten am Aufbau des C_{10} -Fragmentes haben wir mit ^{14}C -Methyl-L-Methionin überprüft. Bekanntlich dient diese Aminosäure als Lieferant von C_1 -Einheiten bei der Biosynthese des Ringerüstes von Berberin und verwandten Alkaloiden⁷⁻⁹. Der markierte Vorläufer wurde durch Schösslinge von *Vinca major* L. mit einer radiochemischen Ausbeute von $2 \cdot 10^{-2}\%$ in Reserpinin (II) einverleibt. Die beim Abbau des radioaktiven Materials erhaltenen Werte (Tabelle) machen es klar, dass die gesamte Aktivität (innerhalb der Fehlergrenzen) auf die zwei O-Methylgruppen verteilt ist, und damit das Kohlenstoffatom 21 seinen Ursprung nicht in der Methylgruppe des Methionins haben kann.

Die besprochenen Resultate sind vor allem negativer Natur, und es wäre deshalb voreilig, daraus eindeutige Schlüsse ziehen zu wollen. Das Gesamtbild, das sich daraus sowie aus den Experimenten von BATTERSBY et al.⁵ ergibt, lässt jedoch manche Zweifel an der allgemeinen Gültigkeit der «Acetat-Malonat-Theorie»^{3,4} aufkommen. Inzwischen haben wir radioaktive Indolalkaloide durch Verfütterung von $\text{D,L-}^{14}\text{C}$ -Natriummevalonat an *Vinca major* L. und *Vinca rosea* L. gewinnen können. Über diese sowie weitere Versuche zur Klärung des genauen Einbaumodus wird an anderer Stelle berichtet¹⁰.

Summary. The biosynthesis of reserpine (II) and vincamidine (IVa) in *Vinca* plants has been investigated with the help of labelled precursors. Incorporation of $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Sodium acetate into the non-tryptophan C_{10} -moiety of these alkaloids occurred only with extensive randomization of the label. In addition, indications were obtained that the methyl group of methionin is not involved in the formation of this fragment.

H. GOEGGEL und D. ARIGONI

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich (Switzerland), 15. April 1965.

| | $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Natrium-acetat | ^{14}C -Methyl-L-Methionin |
|-------------------|--|-------------------------------------|
| Reserpinin (II) | 100 ^a | 100 |
| C-18 | 2,6 | — |
| C-19 | 2,5 | — |
| C-22 | 5,0 | — |
| C-23 + C-24 | 10,7 | 104 |
| C-23 ^b | — | 40 |
| C-24 | — | 63 |

^a Alle Proben wurden als CO_2 im Proportionalzählrohr mit Antikoinzidenzzähler gemessen. Die Mittelwerte zweier Messungen werden in % der totalen Aktivität ausgedrückt, der relative Fehler dürfte 5% nicht überschreiten. ^b Berechnet als Differenz der Aktivitäten von III und II.

⁷ D. H. R. BARTON, R. H. HESSE und G. W. KIRBY, Proc. chem. Soc., 267 (1963).

⁸ A. R. BATTERSBY, R. J. FRANCIS, M. HIRST und J. STAUNTON, Proc. chem. Soc. 1963, 268.

⁹ R. N. GUPTA und I. D. SPENCER, Biochem. biophys. Res. Commun. 13, 115 (1963).

¹⁰ Der Sandoz AG sind wir für die Unterstützung dieser Arbeit zu Dank verpflichtet. Ferner danken wir Dr. E. SEEBECK (Sandoz, Basel) und Prof. Dr. A. FERNANDES (Coimbra, Portugal) für die Beschaffung des Pflanzenmaterials, Obergärtner F. HUMM für technische Hilfe, und Dr. A. HOFMANN (Sandoz, Basel), Dr. W. I. TAYLOR (Ciba, Summit) und Dr. M. GORMAN (Eli Lilly, Indianapolis) für die grosszügige Überlassung von inaktiven Alkaloiden. Die radioaktiven Analysen wurden in unserem Isotopenlaboratorium (Leitung PD Dr. P. JORDAN) durchgeführt.