

wurden ausgeäthert. Aus der äther. Lösung wurde *p*-Toluidin (Schmp. 43°) isoliert. Eine Mischprobe mit *p*-Toluidin gab keine Schmp.-Erniedrigung. Beim Zusammenbringen mit Form-*p*-toluidid trat Verflüssigung ein.

Die wäbr. Lösung wurde bis auf etwa 10 ccm i. Vak. eingengt und dann mit Alkohol versetzt. Alsbald krystallisierte *d*-arabonsaures Ammonium (III) aus. Ausb. 2.7 g = 53% d. Th.; Schmp. 169—170°. Es kann aus wäbr. Alkohol umkrystallisiert werden.

$[\alpha]_D^{18}$: +7.2° \rightarrow +41.5° (in verd. Salzsäure).

$C_5H_{13}O_6N$ (183.2) Ber. C 32.87 H 7.15 N 7.65 Gef. C 32.72 H 7.20 N 7.54.

Aus 8.0 g *p*-Anisyl-*d*-isoglucosamin (Sauerstoff-Aufnahme 580 ccm in 4 Std.) wurden 2.8 g und aus 8.4 g *p*-Phenetyl-*d*-isoglucosamin (Sauerstoff-Aufnahme 700 ccm in 4½ Std.) 2.5 g III erhalten.

d-Arabonsäure-phenylhydrazid: 1.0 g III, in 1 ccm Wasser gelöst, 1 g Phenylhydrazin und 1.5 ccm 50-proz. Essigsäure wurden 1½ Std. auf dem Dampfbade erhitzt. Beim Erkalten krystallisierte das Phenylhydrazid aus. Aus Wasser + Alkohol Schmp. 212—213°.

Form-*p*-toluidid nahm unter den Oxydationsbedingungen (wäbr. Ammoniaklösung, Platinkohle, Sauerstoff bei 50°) 42% d. Th. Sauerstoff auf, dann kam die Sauerstoffaufnahme zum Stillstand. Neben Ausgangsmaterial wurde *p*-Toluidin isoliert.

45. Hermann Hippchen: Synthesen von 6-Nitro-flavinen*).

[Aus der Chemischen Abteilung des Chemotherapeutischen Forschungsinstituts „Georg-Speyer-Haus“, Frankfurt a. M.]

(Eingegangen am 29. Mai 1946.)

Die Synthese des 6-Nitro-9-[β -oxy-äthyl]-, 9-[β -Diäthylamino-äthyl]- und 6-Nitro-9-[β -diäthylamino-äthyl]-flavins wird beschrieben. Eine therapeutische Wirkung dieser Verbindungen konnte nicht festgestellt werden.

Die Verwandtschaft der Formeln des Acridins und des Flavin-Kerngerüsts sowie die große Ähnlichkeit beider Stoffklassen bezüglich Farbe und Fluoreszenz lassen den Gedanken aufkommen, daß Flavine ebenso wie Acridine chemotherapeutische Eigenschaften besitzen könnten. Diese Gesichtspunkte haben uns vor 10 Jahren veranlaßt, 9-Methyl- und 9-Phenyl-flavin bezüglich ihrer Wirkung gegen die Infektion der weißen Maus mit *Trypanosoma nagana* (Stamm Prowazeki) untersuchen zu lassen, wobei aber kein Heileffekt feststellbar war¹⁾. R. Kuhn, F. Weygand und E. F. Möller²⁾ beschrieben 1943 das 6.7-Dichlor-9-*d*-ribo-flavin, das sich als Hemmstoff für das Wachstum von *Bacterium lactis acidii*, *Staphylococcus aureus* und *Streptobacterium plantarum* erwies; damit war zum ersten Mal die bakteriostatische Wirkung eines Flavins dargestellt. Die Interferenz eines Acridinderivates, des Atebrins, mit der Riboflavin-Wirkung wurde von Silvermann u. Evans^{2a)} im *L. casei*-Test beobachtet.

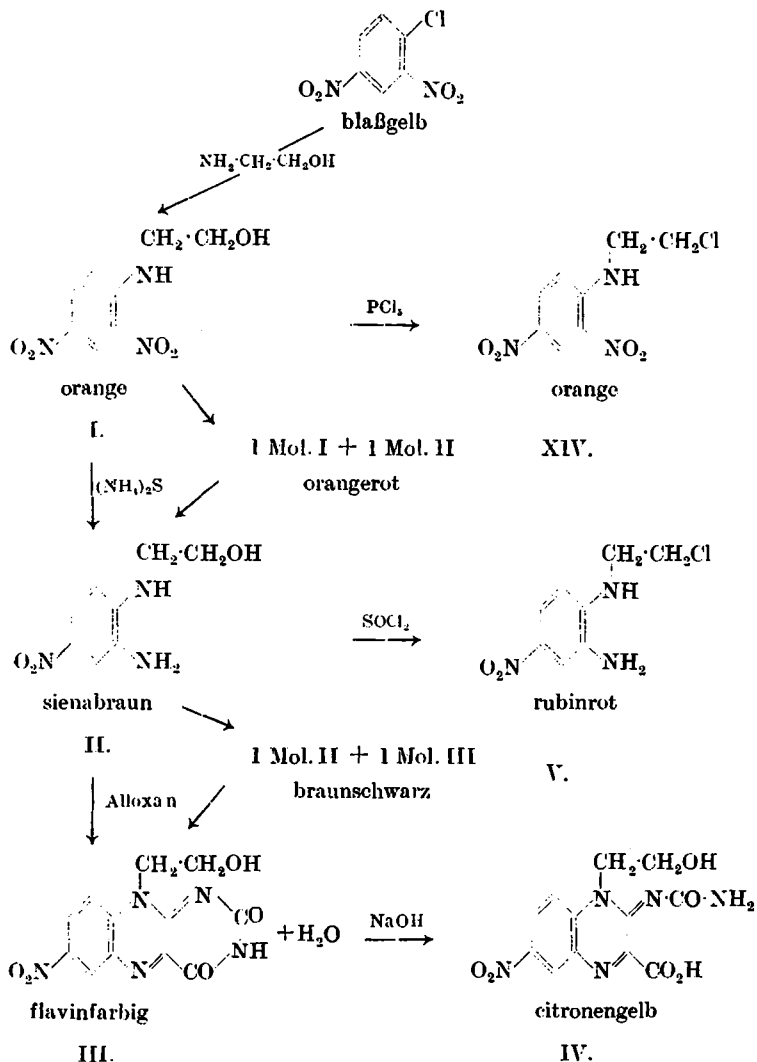
*) Die Arbeit wurde unter Anleitung von Hrn. Prof. Th. Wagner-Jauregg ausgeführt und war schon im Frühjahr 1945 abgeschlossen.

¹⁾ Die chemotherapeut. Prüfung verdanken wir Hrn. Prof. Dr. Rothermund, Frankfurt/M., die Überlassung der beiden Flavinpräparate Hrn. Prof. Dr. R. Kuhn, Heidelberg.

²⁾ B. 76, 1044 [1943]. Andere Riboflavin-Antagonisten wurden von Emerson u. Tishler (Proc. Soc. exp. biol. Med. 55, 184 [1944]) sowie von Wooley (Journ. biol. Chem. 154, 31 [1944]) untersucht. ^{2a)} Journ. biol. Chem. 150, 265 [1943].

Unter den substituierten Acridinen zeichnen sich besonders Nitro-9-amino-acridine durch baktericide Wirkung aus. So soll das Nitroacridin 3582³⁾ (2.3-Dimethoxy-6-nitro-9- [γ -diäthylamino- β -oxy-propylamino]-acridin) der Höchster Farbwerke zur Behandlung von Fleckfieber brauchbar sein, ferner baktericid auch bei Typhus, Paratyphus und Fünftagefieber wirken⁴⁾. Wir haben daher die Synthese von 6-Nitro-flavinen in Angriff genommen.

Die Darstellung des 6-Nitro-9- [β -oxy-äthyl]-flavins (III) geschah vom 1-Chlor-2,4-dinitro-benzol ausgehend auf folgendem Wege:



³⁾ O. Eisleb, Medizin und Chemie III, 41 [1936].

⁴⁾ G. Holler, A. Schickel u. R. Zajitschek, Med. Klinik 40, 118, 247, 374 [1944].

Die Umsetzung des 1-Chlor-2,4-dinitro-benzols mit Äthanolamin zum 1-Oxyäthylamino-2,4-dinitro-benzol (I) verläuft schon bei Zimmertemperatur in wasserfreiem Äther oder Alkohol⁵). Die Reduktion der Dinitroverbindung zum 1-Oxyäthylamino-2-amino-4-nitro-benzol (II) kann durch Ferrosulfat, Natriumdithionit oder am besten durch Ammoniumsulfid in alkohol. Lösung vorgenommen werden. Erfreulicherweise erfolgt die partielle Reduktion gerade an der für die Flavinkondensation erwünschten Stelle, also in gleicher Weise wie bei der Reduktion der [2,4-Dinitro-phenyl]-alkyl-äther mit Natriumdisulfid⁶), während im 2,4-Dinitro-toluol durch Ammoniumsulfid die zur CH₃-Gruppe paraständige NO₂-Gruppe reduziert wird⁷).

Bei unvollständigem Verlauf der Reduktion tritt eine Additionsverbindung von je 1 Mol. 1-Oxyäthylamino-2,4-dinitro-benzol (I) und 1-Oxyäthylamino-2-amino-4-nitro-benzol (II) auf, die sich auch durch Zusammenschmelzen der beiden Komponenten im molekularen Verhältnis 1:1 gewinnen läßt.

Das als Zwischenprodukt der Flavinsynthese dargestellte Nitramin II schmeckt süß, ebenso wie diejenigen substituierten *m*-Nitraniline, welche statt des -NH·CH₂·CH₂·OH-Restes an der gleichen Stelle des Benzolkerns eine Alkoxy-Gruppe tragen⁸). Nach Ersatz von OH durch Cl, in der Verbindung V, ist der süße Geschmack verschwunden.

Die Kondensation von II mit Alloxan zum Flavin III vollzieht sich in Eisessig unter Zusatz von Borsäure mit befriedigender Ausbeute. Das bei 285 bis 286° unter Zersetzung schmelzende, dunkel-orangefarbene, in Lösung grüngelb fluoreszierende 6-Nitro-9-[β-oxy-äthyl]-flavin (III) krystallisiert mit einem Mol. Krystallwasser und ist gegen Alkalien sehr empfindlich. Schon mit 1 Mol. verd. Natronlauge liefert es einen citronengelben, nicht fluoreszierenden Stoff vom Zersetzungsp. 232–235°, vermutlich eine 2-Ureido-1-[β-oxy-äthyl]-6-nitro-chinoxalin-carbonsäure-(3) (IV).

Charakteristisch ist eine Farbreaktion des 6-Nitro-9-[β-oxy-äthyl]-flavins: Versetzt man dieses mit Pyridin und leitet in die Lösung Schwefelwasserstoff ein, so findet ein Farbumschlag über Smaragdgrün nach Blau statt. Beim Stehenlassen an der Luft kehrt die ursprüngliche Gelbfärbung der Lösung zurück. Die farbigen Produkte sind offenbar Zwischenstufen auf dem Wege der Reduktion zum Leukoflavin, wie sie auch beim Laktoflavin beobachtet wurden⁹).

Bei der Kondensation des Nitramins II mit Alloxan erhielten wir gelegentlich ein in schwarzen Nadelchen krystallisierendes Reaktionsprodukt. Dieses erwies sich als Mol.-Verbindung des 6-Nitro-9-[β-oxy-äthyl]-flavins (III) mit 1-Oxyäthylamino-2-amino-4-nitro-benzol (II), die durch Erwärmen mit Essigester in die beiden Komponenten gespalten werden kann.

Für die Wirksamkeit von Chemotherapeutica der Acridin- und der Chinolinreihe (Atebrin, Plasmochin) ist die Anwesenheit einer stark basischen Seitenket-

⁵) Das 1-Chlor-2-amino-4-nitro-benzol reagiert mit Äthanolamin weder in siedendem Alkohol noch ohne Lösungsmittel bei 140° (in der Bombe); der aktivierende Einfluß der ortho- oder paraständigen Nitrogruppe auf die Beweglichkeit des Chloratoms wird durch die Aminogruppe in ortho- oder para-Stellung stark vermindert.

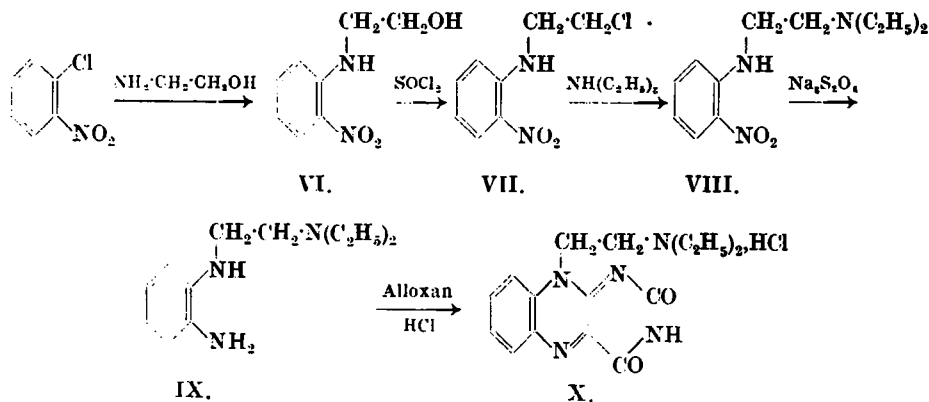
⁶) J. J. Blanksma, Rec. Trav. chim. Pays-Bas. 28, 111 [1909].

⁷) Houben-Weyl, Methoden der organ. Chemie, Bd. II, S. 379.

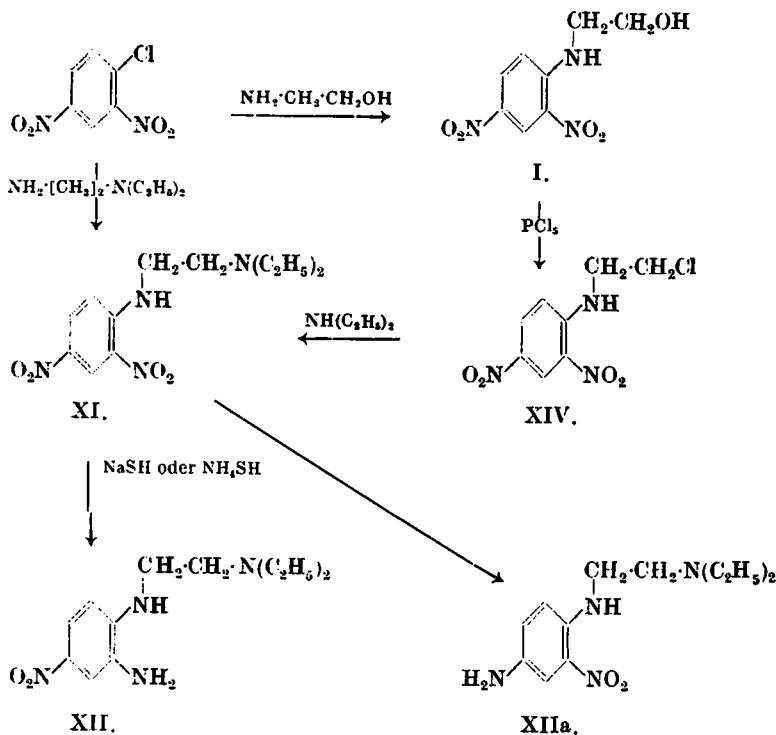
⁸) Vergl. J. J. Blanksma u. P. W. M. van der Weyden, Rev. Trav. chim. Pays-Bas 59, 629 [1940] u. Dtsch. Reichs-Pat. 750354 v. 31. 10. 1940. Auch die 2-Amino-4-nitro-benzoesäure besitzt intensiv süßen Geschmack, obwohl sie in Wasser fast unlöslich ist.

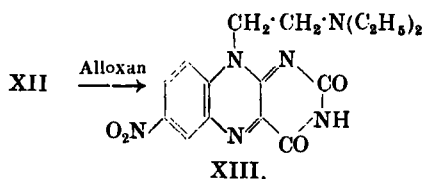
⁹) R. Kuhn u. Th. Wagner-Jauregg, B. 67, 361 [1934]; R. Kuhn u. R. Ströbele, B. 70, 753 [1937].

te von ausschlaggebender Bedeutung. Bei den Flavinen waren derartige Derivate bisher nicht beschrieben. Wir synthetisierten das 9-[β -Diäthylamino-äthyl]-flavin-hydrochlorid (X) mit guter Ausbeute auf folgendem Wege:



Die Darstellung des 6-Nitro-9-[β -diäthylamino-äthyl]-flavins (XIII) wird durch die folgende Formelübersicht wiedergegeben:





Man erhält bei Anwendung dieses Verfahrens sehr schlechte Ausbeuten an Nitroflavin XIII. Denn die Reduktion des Dinitramins XI liefert, im Gegensatz zur entsprechenden Oxyverbindung I, ein Gemisch von sehr wenig des gewünschten

Nitramins XII neben vorwiegend dem Isomeren XIIa. Diese Verbindung besitzt den Schmp. 65—68°. XII wurde nicht in reinem Zustand isoliert.

Das Hydrochlorid des Nitroflavins XIII schmilzt bei 258° und ist in wäBr. Lösung beständig; dagegen zersetzt sich die freie Base bei längerem Aufbewahren der Lösung schon bei Zimmertemperatur, besonders rasch aber in Gegenwart von Ammoniak oder anderen Alkalien. Die labilisierende Wirkung der Nitrogruppe macht sich demnach bei Anwesenheit der stark basischen Gruppe in der 9-ständigen Seitenkette besonders bemerkbar.

Es verdient hervorgehoben zu werden, daß die beiden in 6-Stellung durch eine Nitrogruppe substituierten Flavine, die wir in dieser Arbeit beschreiben, 24—25° tiefer schmelzen, als die dazugehörigen Stammsubstanzen, wie nachfolgende Zusammenstellung zeigt:

9-[β-Oxy-äthyl]-flavin	Schmp.	310° ¹⁰⁾
6-Nitro-9-[β-oxy-äthyl]-flavin	„	285—286°
9-[β-Diäthylamino-äthyl]-flavin, HCl	„	282°
6-Nitro-9-[β-diäthylamino-äthyl]-flavin, HCl	„	258°

Chemotherapeutische Prüfung: Mit einer Lösung von 200 mg 6-Nitro-9-[β-oxy-äthyl]-flavin (III) in 100 ccm Olivenöl wurden mit murinem Fleckfieber infizierte weiße Mäuse durch subcutane Injektion von 1 ccm am Injektionstag und von je 0.5 ccm am 1. und 2. darauffolgenden Tage behandelt¹¹⁾. Nach Abschluß des Versuches waren in den 3 Reihen mit je 20 Stück Mäusen gestorben: von den unbehandelten Tieren 70%, von den Olivenölkontrollen 90%, von den mit der Farbstoff-Öl-Lösung behandelten Tieren 33%. Eine lebensverlängernde Wirkung schien demnach vorhanden zu sein, konnte jedoch in Nachprüfungsversuchen nicht mehr reproduziert werden. Das günstige Ergebnis des ersten Versuches war vielleicht durch eine Mischinfektion vortäuscht, wofür auch die Anwesenheit grampositiver Bakterien sprach. Ein Stichversuch bei der Streptokokkeninfektion der Maus verlief aber ohne therapeut. Effekt. Ohne Wirkung war das Präparat auch bei Pneumokokken und Tuberkulose bei Meerschweinchen; bei Staphylokokken konnte eine Spur Wirksamkeit festgestellt werden¹²⁾. Per os vertrugen Mäuse 1 ccm einer 4-proz. Lösung des Flavins.

Das 9-Diäthylaminoäthyl-flavin-hydrochlorid war an mit Trypanosomen infizierten Mäusen (Tryp. nagana) therapeutisch wirkungslos. Die Dosis tolerata des in physiolog. Natriumchloridlösung gelösten Stoffs betrug bei intravenöser Verabreichung 0.5 mg/20 g Maus¹³⁾.

¹⁰⁾ P. Karrer, *Helv. chim. Acta* 17, 1516 [1934].

¹¹⁾ Die Durchführung dieser Versuche verdanken wir Hrn. Dr. May an der Abteil. von Geh.Rat Prof. Dr. R. Otto.

¹²⁾ Für diese Feststellung sei der früheren I. G. Farbenindustrie, Werk Elberfeld, bestens gedankt.

¹³⁾ Versuche von Prof. Dr. Rothermundt, Biolog. Abteil. des Chemotherapeut. Forschungsinstitutes „Georg Speyerhaus“, Frankfurt a. M.

oder Alkohol aus, wobei Schwefel ungelöst zurückbleibt, verdampft das Lösungsmittel im Vak. (schäumt sehr stark) und kristallisiert 1 mal aus 2*n* Essigsäure, 1 mal aus Methanol unter Zusatz von Tierkohle um. Schöne orange- bis sienabraune Nadelchen vom Schmp. 134—137°; Ausb. 6 g. Leicht löslich in Alkohol, schwer in Benzol oder Äther, unlöslich in Petroläther. In 2*n* HCl gelb löslich; aus nicht zu verdünnter Lösung fällt bei Ammoniakzusatz das Nitramin wieder aus.

Die Reduktion läßt sich statt mit Ammoniumsulfid auch in 50-proz. Alkohol mit Natriumdithionit ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$), mit Zinnchlorür in siedendem chlorwasserstoffhaltigem Alkohol, oder Eisen(II)-sulfat und wäßr. Ammoniaklösung durchführen. Die Ausführungsform für letzteren Fall war die folgende:

2,5 g 1-Oxyäthylamino-2.4-dinitro-benzol wurden mit einer Lösung von 22,8 g kryst. Eisen(II)-sulfat in 57 ccm dest. Wasser auf dem kochenden Dampfbad im lose verkorkten Erlenmeyer-Kolben erhitzt und 47 ccm 10-proz. Ammoniaklösung in 4 Std. zugesetzt. Dem erkalteten Reaktionsgemisch wurde das Reaktionsprodukt durch Ausschütteln mit Äther entzogen; die Ausbeute war gering, läßt sich aber vermutlich durch Ausäthern des Reaktionsgemisches im Extraktionsapparat verbessern. Umkrystallisation wie oben. Schöne braune Nadelchen vom Schmp. 132—136°.

$\text{C}_8\text{H}_{11}\text{O}_3\text{N}_3$ (197.1). Ber. N 21.31. Gef. N 20.96, 20.66.

Bei unvollständiger Reduktion mit Ammoniumsulfid erhielten wir eine Additionsverbindung aus je 1 Mol. 1-Oxyäthylamino-2.4-dinitro-benzol (I) und 1-Oxyäthylamino-2-amino-4-nitro-benzol (II), die, aus Methanol oder 2*n* Essigsäure umkrystallisiert, bei 106—107° schmolz. Orangerote Krystalle.

$\text{C}_8\text{H}_{11}\text{O}_3\text{N}_3 + \text{C}_8\text{H}_9\text{O}_3\text{N}_3$ (424.2). Ber. C 45.32, H 4.75, N 19.78.

Gef. C 45.48, H 5.12, N 19.32, 19.47.

Der Beweis, daß eine Molekülverbindung vorliegt, wurde durch Zusammenschmelzen der beiden Komponenten im molekularen Verhältnis 1:1, Umkrystallisieren, wie oben angegeben, und Schmp. und Misch-Schmp. erbracht. Auch diese Molekülverbindung ist zur weiteren Darstellung des Nitroflavins geeignet. Das nicht umgesetzte 1-Oxyäthylamino-2.4-dinitro-benzol kann durch Auskochen des Reaktionsprodukts mit Alkohol entfernt werden.

6-Nitro-9-[β -oxy-äthyl]-flavin (III).

1 g Nitrobase II vom Schmp. 136—137° wurde in 20 ccm Eisessig bei 50° gelöst und mit einer 50° warmen Lösung von 0,7 g Alloxan und 1,55 g Borsäure in 70 ccm Eisessig versetzt. Nach Stehenlassen im Dunkeln über Nacht wurde im Vak. zur Trockne eingedampft und mit je 50 ccm absol. Alkohol 3 mal auf dem Wasserbad bis fast zur Trockne eingengt. Dabei verflüchtigte sich die Borsäure als Triäthylester; nicht umgesetztes, am oberen Rand der Abdampfschale als dunkler Ring festklebendes Nitramin wurde mechanisch entfernt. Man zentrifugierte das ausgeschiedene Reaktionsprodukt und wusch 2 mal mit kochendem Essigester aus. Ausb. 1 g; schöne bräunlich-gelbe bis rotbraune abgeschrägte Nadeln (2 bis 3 mal aus verd. Essigsäure mit Tierkohlezusatz). Zersetzungspunkt 285—286° (Schwarzfärbung ab 280°, vorher schon Dunkelfärbung).

$\text{C}_{12}\text{H}_9\text{O}_5\text{N}_3 + \text{H}_2\text{O}$ (321.1). Ber. C 44.90, H 3.45, N 21.82.

Gef. C 44.64, H 3.37, N 21.24, 20.96.

In 1-proz. Natriumhydrogencarbonatlösung besser löslich als in Wasser. Die wäßr. Lösung zeigt die charakteristische Flavinflorescenz. Frankonit KL adsorbiert daraus den Farbstoff. Natriumdithionit reduziert die wäßr. Flavinklösung unter Aufhellung der Farbe nach Strohgelb und Verschwinden der gelbgrünen Florescenz; beim Schütteln mit Luft tritt eine weinrote Farbe auf. Zink und Salzsäure bewirken völliges Ausbleichen.

Molekülverbindung aus 6-Nitro-9-[β -oxy-äthyl]-flavin (III) und 1-Oxyäthylamino-2-amino-4-nitro-benzol (II).

Die gelegentlich bei der Kondensation des Nitramins II mit Alloxan auftretenden schwarzen Nadelchen besaßen nach dem Umkrystallisieren aus stark verd. Essigsäure oder Wasser den Zersetzungsp. 225°; bei 103° lag ein Umwandlungspunkt, darüber begann

starke Verfärbung nach Dunkelbraun. Man erhält die Molekülverbindung auch durch Zusammenbringen der beiden Komponenten und Umkrystallisieren aus Wasser; aus der in der Wärme rotbraunen Lösung scheiden sich beim Erkalten vor allem die dunkelbraunschwarzen Nadelchen der Additionsverbindung, daneben gelegentlich aber auch die rotbraunen bzw. bräunlich-gelben Krystalle der beiden Komponenten aus. Dementsprechend liefert die Mikroanalyse schwankende Werte, die zwischen den für die beiden Bestandteile berechneten liegen. Zur Analyse wurde bei 100° i. Vak. über Diphosphorpentoxyd getrocknet.

$C_8H_{11}O_3N_3$ (197.1). Ber. C 48.75, H 5.62, N 21.31.

$C_{12}H_9O_5N_5$ (303.1). Ber. C 47.50, H 2.99, N 23.40.

Gef. C 48.37, H 4.28, N 21.65, 22.39, 23.28.

Beim Erhitzen mit Essigester, Methanol oder Alkohol verwandelte sich die Molekülverbindung unter Farbumschlag von Schwarz in Orangerot in das 6-Nitro-9-[β -oxy-äthyl]-flavin vom Schmp. 281°. Nach mehrfachem Umkrystallisieren aus Essigsäure unter Tierkohlezusatz wurden rotbraune, glitzernde, rhombische Krystalle vom Zersetzungsp. 286 bis 287° erhalten. Die Essigesterlösung hinterließ beim Abdunsten orangefarbene Krystalle, die nach dem Umkrystallisieren aus verd. Alkohol den Schmp. 132—136° des Nitramins II zeigten.

Alkalische Hydrolyse des 6-Nitro-9-[β -oxy-äthyl]-flavins zur 2-Ureido-1-[β -oxy-äthyl]-6-nitro-chinoxalin-carbonsäure-(3) (IV).

Das Flavin III (126 mg) wurde in 4 ccm $n/_{10}$ NaOH (1 Mol. auf 1 Mol. Flavin) und 12 ccm dest. Wasser auf dem Wasserbad auf 75° erwärmt und die bräunliche Lösung nach dem Stehenlassen über Nacht mit Essigsäure angesäuert. Die ausgefallenen, citronengelben Krystalle schmolzen nach dem Umkrystallisieren aus 2n Essigsäure und aus wenig verd. Methanol bei 232—235° unter Zersetzung. Die Verbindung entspricht wahrscheinlich der Konstitutionsformel IV. Unlöslich in Chloroform, löslich in 1-proz. Natriumhydrogencarbonatlösung mit gelber Farbe, beim Ansäuern Farbaufhellung. Die alkohol. Lösung zeigt keine Fluorescenz.

$C_{12}H_{11}O_6N_5$ (321.1) (bei 100° i. Vak. über P_2O_5 getr.).

Ber. C 44.88, H 3.45, N 21.82.

Gef. C 45.15, 45.09, H 3.59, 3.61, N 21.47.

1-[β -Chlor-äthylamino]-2-amino-4-nitro-benzol (V).

2 g II werden mit 3 g Thionylchlorid versetzt. Die Reaktion wird zunächst durch Kühlen gebremst, dann wird bis zur klaren Lösung erhitzt. Nach Verdampfen des überschüss. Thionylchlorids gießt man auf Eis, versetzt mit Ammoniaklösung und äthert aus. Die Ätherlösung wird 2 mal mit wenig Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Beim Vorjagen des Äthers fallen Krystalle aus. Man dampft auf ein kleines Volumen ein, saugt ab und wäscht mit wenig Äther. Ausb. 2 g; nach 1-maligem Umkrystallisieren aus Methanol Schmp. 113—117°. Rubinrote, schillernde Krystalle.

$C_8H_{10}O_2N_3Cl$ (215.6). Ber. Cl 16.44. Gef. Cl 16.36.

1-[β -Chlor-äthylamino]-2.4-dinitro-benzol (XIV)¹⁷⁾.

Es werden in einem mit Chlorcalciumrohr versehenen Dreihalskolben 8.3 g Phosphor-trichlorid mit über Chlorcalcium getrocknetem Chloroform überschichtet. Unter Kühlung mit Eis-Kochsalz-Mischung setzt man allmählich eine Aufschlammung von 4,5 g 1-[β -Oxy-äthylamino]-2.4-dinitro-benzol (I) in 150 ccm trockenem Chloroform im Verlauf von 1/2 Stde. zu und läßt 48 Stdn. bei Zimmertemp. stehen. Mit fortschreitender Umsetzung löst sich der Stoff unter Chlorwasserstoff-Entwicklung. Zur Aufarbeitung wäscht man zuerst mit dem gleichen Vol. Wasser, dann 5 mal mit konz. wäßr. Natriumacetatlösung und nochmals mit Wasser. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat und Verdampfen des Chloroforms im Vak. bei 40° Badtemperatur hinterbleibt das Reaktionsprodukt als Öl, das im Eisschrank erstarrt. Enthält das erhaltene gelbe Produkt noch

¹⁷⁾ Diese Darstellungsvorschrift wurde von Dr. Herbert Arnold ausgearbeitet.

Phosphoroxychlorid, dann muß es nochmals mit wäßr. Natriumacetatlösung und Wasser gut nachgewaschen werden. Es wird aus Alkohol umkrystallisiert und schmilzt dann bei 87.5—88°.

1-[β -Diäthylamino-äthylamino]-2.4-dinitro-benzol (XI).

a)¹⁷⁾ 5 g 1-[β -Chlor-äthylamino]-2.4-dinitro-benzol (XIV) werden in 30 ccm trockenem Benzol gelöst und in der Bombe mit 6.5 g Diäthylamin über Nacht auf 120° erhitzt. Der Bombeninhalt wird mit Methanol herausgelöst und die Lösung im Vak. verdampft. Der Rückstand wird mit Äther überschichtet und mit Kaliumcarbonat geschüttelt. Die beim Schütteln im Äther gelöste freie Base wird nach dem Trocknen der äther. Lösung mit Kaliumcarbonat und Verdampfen des Äthers aus Alkohol umkrystallisiert. Gelbe, seidige Krystalle vom Schmp. 94°. Leicht löslich in verd. Salzsäure, Benzol, Chloroform, etwas schwerer in Methanol oder Propanol.

$C_{12}H_{18}O_4N_4$ (282.2). Ber. N 19.85. Gef. N 19.44, 19.66.

Das Monohydrochlorid hat den Schmp. 171—172°.

$C_{12}H_{18}O_4N_4$, HCl (318.6). Ber. Cl 11.17. Gef. Cl 11.37.

b) 4 g 1-Chlor-2.4-dinitro-benzol werden in 25 ccm absol. Alkohol gelöst. In die noch warme Lösung tropft man langsam 2.5 g β -Diäthylamino-äthylamin in 5 ccm Alkohol, engt auf dem Wasserbad ein, nimmt nach Zusatz weniger Tropfen Salzsäure in Wasser auf und äthert aus. Die wäßr. Schicht wird mit Ammoniak alkalisch gemacht, ausgeäthert, der Äther gewaschen, getrocknet und das hellgelbe Filtrat eingedampft. Der Rückstand wird in Methanol gelöst und in der Wärme bis zur Trübung Wasser zugesetzt. Der Niederschlag wird mit wenigen Tropfen Methanol wieder in Lösung gebracht und zum Krystallisieren aufbewahrt. Ausb. 5.2 g, Schmp. 90—91°; nach erneutem Umkrystallisieren aus Äther oder Methanol schöne gelbe Nadeln vom Schmp. 93—94°.

1-[β -Diäthylamino-äthylamino]-2-nitro-4-amino-benzol (XIIa).

2 g der Dinitroverbindung XI wurden in 30 ccm Alkohol gelöst. In die siedende Lösung wurden im offenen Kolben innerhalb 1 Stde. 1 g (fast 50% Überschuß) Natriumhydrosulfid, gelöst in Alkohol und wenig Wasser, getropft. Das Reaktionsgemisch färbte sich braunrot. Nach dem Einengen wurde in verd. Salzsäure gelöst, u. U. filtriert, ammoniakalisch gemacht und ausgeäthert. Man wusch mehrmals mit Wasser, trocknete über Natriumsulfat, dampfte ein, kochte mit Petroläther aus, und erhielt so ein braunrotes Öl (A), aus dem mit Methanol keine Krystalle mehr erhalten werden konnten; Ausb. 1.4 g. Dunkle Verunreinigungen lassen sich durch Behandeln mit Zinn(II)-chlorid und Schwefelwasserstoff nach A. Weißberger und E. Strasser¹⁸⁾ entfernen. Durch Umlösen aus wenig absol. Benzol erhält man rotbraune Krystalle vom Schmp. 65—68°.

$C_{12}H_{20}O_2N_4$ (252.2). Ber. C 57.15, H 8.00, N 22.20.

Gef. C 56.79, 56.76, H 8.52, 8.73, N 21.33, 21.28.

Die Teil-Reduktion kann auch mit Zinn(II)-chlorid in salzsaurer Lösung vorgenommen werden. Aus einem Reduktionsansatz mit Ammoniumhydrosulfid in absol. alkohol. Lösung unter Zusatz von etwas Pyridin konnten wir ein in absol. Methanol schwer lösliches Monohydrochlorid vom Schmp. 215° herausarbeiten. Rotbraune, sechseckige Krystalle.

$C_{12}H_{20}O_2N_4$, HCl (288.6). Ber. Cl 12.28. Gef. Cl 11.83.

Beim Ausschütteln der alkal. Lösung dieses Salzes mit Äther erhielten wir die freie Base. Schöne, rotbraune, derbe Nadeln aus Benzol-Petroläther; Schmp. 67—68°.

6-Nitro-9-[β -diäthylamino-äthyl]-flavin (XIII).

1.4 g des oben mit A bezeichneten, 1-[β -Diäthylamino-äthylamino]-2-amino-4-nitro-benzol (XII) enthaltenden Öls wurden in 20 ccm Eisessig gelöst und mit der möglichst vollständigen Lösung von 1 g Alloxan und 2 g Borsäure in 70 ccm Eisessig bei 50° versetzt. Fast augenblicklich trat starke schmierölartige Fluoreszenz auf, während die Lösung in der Durchsicht dunkelgelb-braun erschien. Nach dem Stehenlassen über

¹⁸⁾ Journ. prakt. Chem. [2] 185, 209 [1932].

Nacht im Dunkeln wurde die Lösung unter Rühren in eine Mischung von 450 ccm Äther mit 30 ccm äther. Salzsäure gegossen. Die ausgefallenen hellgelben Flocken wurden abzentrifugiert, 2 mal mit Äther verrührt und zentrifugiert. Nach dem Abgießen wurde der Rückstand in Alkohol gelöst, die Lösung auf ein kleines Vol. eingeeengt, wieder gelöst und eingedampft, erneut gelöst und in der Wärme sehr langsam, Tropfen für Tropfen, Essigester zugefügt, bis die Trübung nur noch langsam verschwand. Nach 2—3-stdg. Stehenlassen im Eisschrank und Reiben der Gefäßwände mit einem Glasstab begann nach einigen Std. die Ausscheidung kleiner, schön ausgebildeter Krystalle. Sie wurden nach dem Stehenlassen über Nacht abgesaugt und im Exsiccator auf Ton über Chlorcalcium getrocknet. Nach 4-maligem Umkrystallisieren aus Alkohol war der Schmelzpunkt von 242° auf 258° gestiegen (bei etwa 225° plötzliche aber schwache Dunkelfärbung).

$C_{16}H_{18}O_4N_6$, HCl (394.8). Ber. C 48.67, H 4.85, Cl 8.98. Gef. C 48.62, H 5.15, Cl 8.56.

Darstellung des 9-[β -Diäthylamino-äthyl]-isoalloxazins (9-[β -Diäthylamino-äthyl]-flavins) (X).

o-Nitro-phenyl-colamin (VI) wurde nach der Vorschrift von P. Karrer¹⁹⁾ dargestellt. Durch Anwendung eines Äthanolamin-Überschusses und Verlängerung der Reaktionsdauer läßt sich die Ausbeute steigern. Eine Mischung von 80 g *o*-Chlor-nitrobenzol, 45 g Äthanolamin und 45 g Pyridin wurde über Nacht gekocht; überschüss. Ausgangsmaterialien wurden sodann mit Wasserdampf abgeblasen, der beim Erkalten erstarrte Destillationsrückstand (Schmp. 55—57°) abgesaugt und aus verd. Alkohol umkrystallisiert. Schmp. 76°; Ausb. 55 g.

N-[β -Chlor-äthyl]-*o*-nitranilin (VII): 50 g VI wurden in 150 g trockenem Benzol suspendiert und in die siedende Lösung rasch 75 g Thionylchlorid getropft. Benzol und überschüss. Thionylchlorid wurden im Vak. abgedampft und der Rückstand mehrmals aus verd. Alkohol umkrystallisiert. Ausb. 36 g. Das Produkt stimmte im Schmelzpunkt mit dem von P. Karrer¹⁹⁾ mittels Phosphorpentachlorids dargestellten überein.

N-[β -Diäthylamino-äthyl]-*o*-nitranilin (VIII): 6 g VII, 6 g Diäthylamin und 30 ccm Benzol wurden über Nacht im Bombenrohr auf 130° erhitzt. Der teilweise krystallisierte Bombeninhalte wurde nach Zusatz von Äther alkalisch ausgeschüttelt, mehrmals mit Wasser gewaschen und nach Verjagen des Lösungsmittels im Hochvak. destilliert. Sdp._{0.2} 165—175°; Ausb. 29 g. Rötlich-gelbes Öl, das in Methanol sowie tief-siedendem Petroläther leicht löslich und nicht zum Krystallisieren zu bringen war.

Hydrochlorid: Eine Probe des Produkts wurde in Äther gelöst und mit methylalkohol. Salzsäure versetzt. Der ausgefallene Niederschlag, 2 mal aus Alkohol + Äther umkrystallisiert, gab feine goldgelbe Nadeln vom Schmp. 161°.

$C_{12}H_{16}O_2N_3$, HCl (273.8). Ber. Cl 13.92. Gef. Cl 13.09.

N-[β -Diäthylamino-äthyl]-*o*-phenylendiamin (IX): Die beschriebene Base VIII wurde in 50-proz. Alkohol gelöst und in der Siedehitze mit Natriumdithionit bis zur fast völligen Entfärbung versetzt. Nach dem Erkalten gab man überschüss. Ammoniak zu, ätherte mehrmals aus, trocknete über Natriumsulfat und destillierte nach dem Filtrieren und Verjagen des Lösungsmittels im Vakuum. Farbloses Öl vom Sdp.₈ 163—165°.

Hydrochloride. A: Nach dem Lösen der Base in wenig absol. Alkohol und Zusatz von alkohol. Salzsäure bis zur lakmusneutralen Reaktion wird durch absol. Äther ein weißes Pulver gefällt, das durch Umkrystallisieren aus Alkohol + Äther in schillernden Blättchen vom Schmp. 132° anfällt.

$C_{12}H_{21}N_3$, 2 HCl (280.1). Ber. Cl 25.3. Gef. Cl 26.4.

B: Löst man die Base in überschüss. alkohol. Salzsäure, so wird durch Äther ein Öl ausgeschieden, das nach längerem Stehen zu derben Nadeln erstarrt und nach dem Umkrystallisieren den Schmp. 156° zeigt. Die Chlorbestimmung deutet auf ein Gemisch von Di- und Trihydrochlorid hin.

$C_{12}H_{21}N_3$, 2 HCl (280.1). Ber. Cl 25.3.

$C_{12}H_{21}N_3$, 3 HCl (316.7). Ber. Cl 33.6. Gef. Cl 29.5.

¹⁹⁾ Helv. chim. Acta 17, 1516 [1934]; 19, 1031 [1936].

9-[β -Diäthylamino-äthyl]-flavin-hydrochlorid (X): 0.7 g Alloxan werden in 1 ccm Wasser + 1 Tropfen konz. Salzsäure gelöst und mit der stark kongosauren Lösung von 1 g IX in 6 ccm Alkohol versetzt. Ist die Lösung nicht stark sauer, so tritt sofort Grün-, dann Dunkelblaufärbung auf. Sodann erhitzt man zur Durchmischung kurz zum Sieden und läßt im Dunkeln bei Zimmertemperatur stehen. Nach kurzer Zeit beginnt die Abscheidung kleiner gelber Krystalle. Nach Stehenlassen über Nacht werden diese abzentrifugiert, 2 mal mit 10 ccm Alkohol, in dem sie fast unlöslich sind, ausgekocht, jeweils zentrifugiert und 2 mal unter Zusatz von wenig Tierkohle aus Wasser umkrystallisiert. Mikroskopische Kryställchen von hellgelber Farbe und bitterem Geschmack. Schmp. 282° (Zers.). Die wäßrige, neutrale oder essigsäure Lösung fluoresciert hellgrün.

$C_{16}H_{18}O_2N_5$, HCl (349.8). Ber. N 20.01, Cl 10.13. Gef. N 19.66, 19.61, Cl 10.20.

Frln. E. Frieß und Frln. Dr. E. Helmert sowie Hrn. F. Prier danke ich für ihre Mithilfe bei den Versuchen.

46. Friedrich Hüter: Über die Darstellung von substituierten Thioharnstoffen*).

[Aus der Biochemischen Abteilung des Chemotherapeutischen Forschungsinstituts „Georg-Speyer-Haus“, Frankfurt a. M.]

(Eingegangen am 29. Mai 1946.)

Darstellung und Eigenschaften von Cetyl- und Oleylthioharnstoff sowie einigen mono- und disubstituierten Thioharnstoffen der Benzylreihe werden beschrieben.

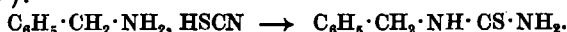
Im Zusammenhang mit unseren Untersuchungen über Schilddrüsenveränderungen beim Kaninchen durch substituierte Thioharnstoffe¹⁾ haben wir einige dieser Stoffe neu dargestellt.

Das allgemeine Verfahren zur Synthese monoalkylierter Thioharnstoffe durch Umsetzung von Senfölen mit Ammoniak nach der Gleichung:



läßt sich auch bei den längerkettigen Gliedern anwenden und so zur Charakterisierung höherer aliphatischer Senföle heranziehen²⁾. Beispielsweise erhielten wir aus Cetylseñöl den Cetylthioharnstoff vom Schmp. 112 bis 114° , aus Oleylseñöl den bei 108° schmelzenden Oleylthioharnstoff.

In der aromatischen Reihe stößt diese Reaktion schon beim Benzylseñöl auf Schwierigkeiten. In guter Ausbeute entsteht Benzylthioharnstoff (I) bei der Umlagerung des Benzylammoniumrhodanids durch Erhitzen über den Schmelzpunkt³⁾:



I.

*) Die Arbeit wurde unter Anleitung von Hrn. Prof. Th. Wagner-Jauregg ausgeführt und von Hrn. Dr. J. Koch mitbearbeitet; sie war schon Ende des Jahres 1944 abgeschlossen.

¹⁾ Th. Wagner-Jauregg u. E. Schreiber, Biochem. Ztschr. 817, 21 [1944] (Zur Biochemie der Schilddrüsenfunktion, I. Mitteil.).

²⁾ Dialkylierte Thioharnstoffe eignen sich zum Nachweis höherer aliphatischer Amine; vergl. Th. Wagner-Jauregg, H. Arnold u. H. Rauen, B. 74, 1372 [1941].

³⁾ E. Dixon, Journ. chem. Soc. London 59, 551 [1891].