

Kondensation von *N*-Methyl-*o*-phenylendiamin-Chlorhydrat mit Methyl-alloxan erhalten. In Übereinstimmung mit den angenommenen Formeln gelang es, denselben Farbstoff (III) auch aus dem 9-Methylflavin (II) darzustellen, indem wir dessen rotes Silbersalz der Einwirkung von Jodmethyl unterwarfen.

Erhitzt man 9-Methyl-*iso*-alloxazin mit 20-proz. Natronlauge im Rohr auf 150° (4 Stdn.), so entsteht eine sauerstoff-freie Base, deren Chlorhydrat bei 191° schmilzt und mit dem Chlorhydrat des *N*-Methyl-*o*-phenylendiamins (Schmp. 192°) identisch ist. Es gelingt somit, unter diesen Bedingungen beide Heteroringe des Flavin-Moleküls hydrolytisch aufzuspalten. Damit ist eine beim Abbau des Vitamins B₂ aufgefundene Reaktion⁴⁾ auch an einem synthetischen Farbstoff verwirklicht.

Beschreibung der Versuche.

1.1 g *N*-Methyl-*o*-phenylendiamin wurden in 10 ccm 2-*n*. Salzsäure gelöst, mit 2.5 g der Natriumbisulfit-Verbindung des Methyl-alloxans (aus Theobromin) in 30 ccm Wasser versetzt und 2 Min. zum Sieden erhitzt. Das 3.9-Dimethylflavin begann schon in der Hitze in langen, orangefarbenen Nadeln auszufallen (1.3 g). Zur Analyse wurde aus 40-proz. Essigsäure umkrystallisiert und bei 100° (0.5 mm) getrocknet. Schmp. 320–325° (unt. Zers.).

4.306 mg Sbst.: 9.42 mg CO₂, 1.61 mg H₂O. — 1.793 mg Sbst.: 0.364 ccm N (755 mm, 25°). — 4.679 mg Sbst.: 8.94 mg AgJ.

C₁₂H₁₀N₄O₂. Ber. C 59.48, H 4.16, N 23.14, (N)CH₃ 12.39.

Gef. „ 59.67, „ 4.18, „ 23.10, „ 12.23.

Die Substanz gibt kein Silbersalz und läßt sich aus Chloroform durch verd. Alkali nicht ausschütteln. Sie besitzt bitteren Geschmack.

289. Richard Kuhn, Karl Reinemund und Friedrich Weygand: Synthese des Lumi-lactoflavins.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für medizin. Forschung, Institut für Chemie, Heidelberg.]
(Eingegangen am 25. Juli 1934.)

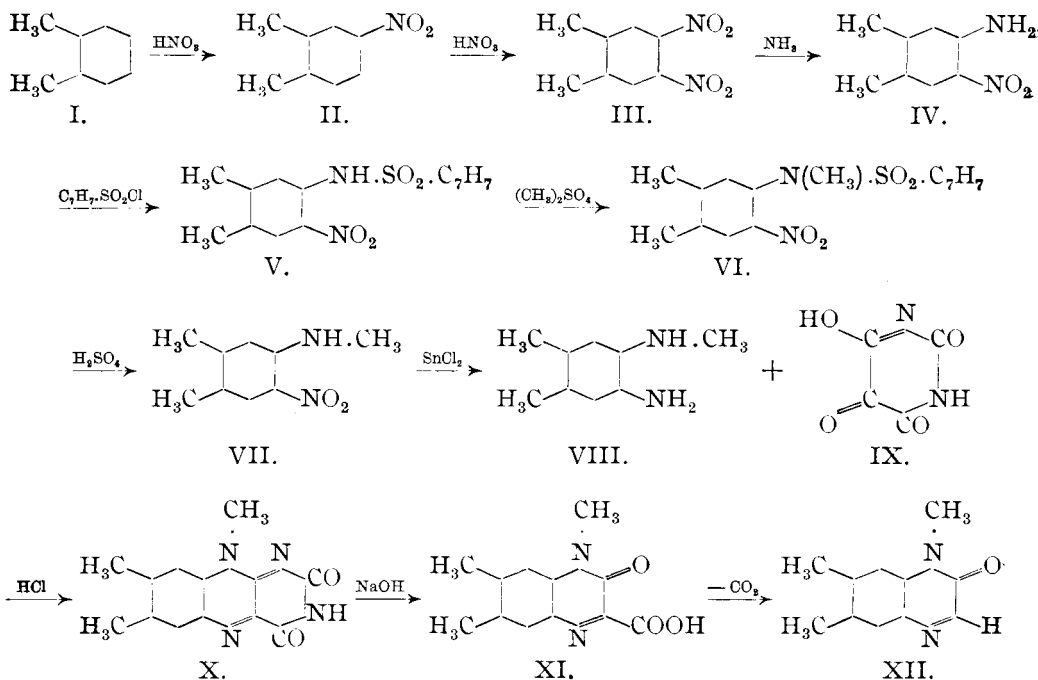
Dem Lumi-lactoflavin, C₁₃H₁₂N₄O₂, der Farbstoff-Komponente des Lacto-flavins (Vitamin B₂; Vitamin G), kommt, wie R. Kuhn und H. Rudy¹⁾ auf dem Wege des Abbaus gefunden haben, die Formel X eines 6.7.9-Trimethylflavins (6.7.9-Trimethyl-*iso*-alloxazins) zu. Nach der von R. Kuhn und F. Weygand²⁾ aufgefundenen Flavin-Synthese, welche auf der Kondensation von *N*-alkylierten *o*-Diaminen mit Alloxan beruht, ist es uns gelungen, das Lumi-lactoflavin synthetisch darzustellen. Als Ausgangsmaterial diente *o*-Xylol (I). Die ersten Reaktionsstufen sind, da die Nitrierungen nicht einheitlich verlaufen, verlustreich, aber bis zum 1.2-Dimethyl-4-nitro-5-amino-benzol (IV) aus dem Schrifttum bekannt. Von hier an verlaufen alle weiteren Umsetzungen mit guten Ausbeuten, so daß man aus

⁴⁾ R. Kuhn u. H. Rudy, unveröffentlicht.

¹⁾ Unveröffentlicht.

²⁾ B. 67, 1409, 1459 [1934].

1 kg des genannten Nitro-xylidins etwa ebensoviel Lumi-lactoflavin darstellen kann wie aus 150000 l Milch.



Das synthetisch gewonnene 6.7.9-Trimethyl-flavin stimmt mit Lumi-lactoflavin aus Milch in allen untersuchten Eigenschaften überein (Farbe, Fluorescenz, Schmp., Löslichkeit, Verteilung zwischen verd. Essigsäure und Chloroform, Beständigkeit gegen Brom, Reduktion durch Natriumhydrosulfit, rotes Radikal bei Reduktion in mineralsaurer Lösung, optische Inaktivität, bitterer Geschmack). Da sowohl der natürliche, als auch der synthetische Farbstoff unter starker Zersetzung schmilzt, wollten wir dem Misch-Schmelzpunkt beider Präparate keine zu große Bedeutung beimessen. Wir haben daher den synthetischen Farbstoff auch noch der alkalischen Hydrolyse zur Oxo-carbonsäure³⁾ $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3$ und einer anschließenden thermischen Decarboxylierung³⁾ zum „Sublimat“ $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}$ unterworfen. Beide Abbau-Produkte haben sich nach Schmp. und Misch-Schmp. mit den entsprechenden Derivaten des Vitamins B_2 als identisch erwiesen. Die Oxo-carbonsäuren schmelzen zwar auch noch unter Zersetzung (Aufschäumen), die Decarboxylierungsprodukte (Lactame) aber unzersetzt, und man erhält unveränderte Schmelzpunkte und Misch-Schmelzpunkte, wenn die erstarrten Schmelzen neuerlich erhitzt werden. Um zu prüfen, ob bei derartigen Verbindungen geringfügige Umstellungen der Substituenten merkliche Schmelzpunkts-Erniedrigungen bewirken, haben wir die Oxo-carbonsäure aus synthetischem 6.8.9-Trimethyl-flavin, die bei 210° schmolz, mit der Oxo-carbonsäure aus natürlichem 6.7.9-Trimethyl-flavin gemischt. Das Gemisch

³⁾ R. Kuhn u. H. Rudy, B. 67, 892 [1934].

schäumte bei 197⁰ auf. Die Umstellung eines Methyls zwischen den Plätzen 7 und 8 macht sich also bei der Mischprobe sehr deutlich bemerkbar. Um schließlich beide Flavine auch ohne Abbau-Reaktionen identifizieren zu können, haben wir das 3.6.7.9-Tetramethyl-flavin synthetisiert durch Kondensation von 1.2-Dimethyl-4-amino-5-methylamino-benzol-Chlorhydrat (VIII) mit der Natriumbisulfid-Verbindung von Methylalloxan (aus Theobromin). Der synthetische Farbstoff gab keine Depression mit dem von R. Kuhn und H. Rudy⁴⁾ dargestellten Einwirkungsprodukt von Dimethylsulfat auf Lumi-lactoflavin, dem nach der voranstehenden Abhandlung gleichfalls die Konstitution eines 3.6.7.9-Tetramethyl-flavins zukommt⁵⁾: synthet. 291⁰, natürl. 291⁰, Gemisch 291⁰ (korr.).

Schmelzpunkte und Misch-Schmelzpunkte (unkorr.):

Substanz	Formel	synthet.	natürl.	Gemisch
Lumi-lactoflavin	X	320—321 ⁰	321—322 ⁰	320—321 ⁰
Oxo-carbonsäure	XI	204 ⁰	205 ⁰	204.5 ⁰
Sublimationsprodukt .	XII	167—168 ⁰	169—170 ⁰	168—169 ⁰

Es wird natürlich unser Bestreben sein, durch Einführung hydroxylhaltiger Seitenketten, wofür besonders die 9-Stellung der Flavine in Betracht kommt, Farbstoffe mit Vitamin-B₂-Wirkung und das Lacto-flavin selbst künstlich darzustellen. Die von uns aufgefundene Flavin-Synthese eröffnet hierfür mannigfache Möglichkeiten.

Beschreibung der Synthese.

0.5 g Chlorhydrat des 1.2-Dimethyl-4-amino-5-methylamino-benzols (VIII) wurden mit 0.5 g Alloxan-Tetrahydrat in 20 ccm Wasser 3 Min. zum Sieden erhitzt. Nach dem Erkalten wurde das ausgefallene Lumi-lactoflavin (80 % d. Th.) abgesaugt und aus 50-proz. Essigsäure umkristallisiert.

3.713 mg Sbst.: 8.235 mg CO₂, 1.52 mg H₂O. — 2.210 mg Sbst.: 0.426 ccm N (752 mm, 25⁰).

C₁₃H₁₂N₄O₂ (256.1). Ber. C 60.91, H 4.72, N 21.86. Gef. C 60.49, H 4.58, N 21.84.

Der korr. Schmp. lag bei 330⁰ (unt. Zers.). Die Hydrolyse zur Oxo-carbonsäure wurde nach der für den Abbau des Naturfarbstoffs gegebenen Vorschrift³⁾ vorgenommen.

⁴⁾ B. 67, 1125 [1934].

⁵⁾ Die analytischen Angaben über die Abbau-Produkte des Lacto-flavins stützen sich auf Versuche mit wenigen mg Substanz. Unstimmigkeiten und Ungenauigkeiten, die dabei aufgetreten sind, werden wir im Besitze der leicht zugänglichen synthetischen Flavine unschwer beseitigen können. Zu korrigieren sind die auf Methylimid-Bestimmungen beruhenden Angaben, und zwar in folgendem Sinn: Lumi-lactoflavin, C₁₃H₁₂N₄O₂, ist einheitlich, es besitzt eine volle Methylimid-Gruppe. Das methylimidfreie soda-lösliche Spaltstück entsteht durch alkalische Entalkylierung (vergl. die Bildung von α-Oxy-phenazin aus Pyocyanin) und nicht aus einer methylimid-freien Komponente. α- und β-Lumi-lactoflavin (B. 67, 1298 [1934]) sind demgemäß zu streichen. Das „Monomethyl-lumilactoflavin“ (B. 67, 892 [1934]) ist 6.7.9-Trimethyl-flavin (Lumi-lactoflavin), das „Dimethyl-lumilactoflavin“ besitzt die Formel C₁₄H₁₄N₄O₂ und stellt das 3.6.7.9-Tetramethyl-flavin dar. Zur Richtigstellung der Analysen-Werte möchten wir auf die „Bemerkung zur Methylimid-Bestimmung“ von R. Kuhn und H. Roth, B. 67, 1458 [1934], verweisen.

R. Kuhn und H. Rudy.