

379. Richard Kuhn und Karl Reinemund: Über die Synthese des 6.7.9-Trimethyl-flavins (Lumi-lactoflavins).

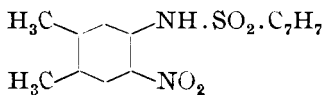
[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für medizin. Forschung, Heidelberg, Institut für Chemie.]
(Eingegangen am 23. Oktober 1934.)

Nach der von R. Kuhn und F. Weygand¹⁾ aufgefundenen Flavin-Synthese haben R. Kuhn, K. Reinemund und F. Weygand²⁾ das 6.7.9-Trimethyl-flavin (V) synthetisch dargestellt und seine Identität mit dem durch Abbau des Lacto-flavins enthaltenen Lumi-lactoflavin, $C_{13}H_{12}N_4O_2$, bewiesen. Die Identität beider Verbindungen ist ausführlich belegt worden durch die Schmelzpunkte und Misch-Schmelzpunkte der natürlichen und synthetischen Präparate von 1) 6.7.9-Trimethyl-flavin, 2) 3.6.7.9-Tetramethyl-flavin, 3) Oxo-carbonsäure $C_{12}H_{12}N_2O_3$, 4) Sublimationsprodukt $C_{11}H_{12}N_2O$. Im folgenden beschreiben wir die Zwischenprodukte der Synthese, über die noch nichts Näheres mitgeteilt war.

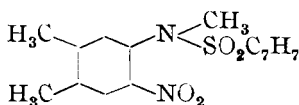
Beschreibung der Versuche.

a) 1.2-Dimethyl-4-nitro-5-toluolsulfamido-benzol (I).

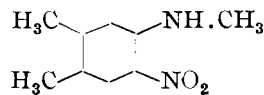
16.6 g ($\frac{1}{10}$ Mol) 1.2-Dimethyl-4-nitro-5-amino-benzol³⁾ und 19.1 g ($\frac{1}{10}$ Mol) *p*-Toluol-sulfochlorid löst man in 40 ccm Pyridin (über Bariumoxyd getrocknet) und erhitzt 4–5 Stdn. unter Rückfluß (Chlorcalciumrohr) auf dem Dampfbade. Die noch warme braune Lösung wird unter Rühren in 700 ccm kaltes Wasser eingegossen, wobei die Toluolsulfonyl-Verbindung als rasch erstarrendes Öl ausfällt. Man verreibt gründlich und wäscht auf der Nutsche wiederholt mit Wasser. Das gelbe Rohprodukt wird in 100 ccm siedendem Eisessig gelöst. Beim Erkalten krystallisieren 28.5–29.0 g



I.



II.



III.

(89–91% d. Th.) 1.2-Dimethyl-4-nitro-5-toluolsulfamido-benzol, das man mit etwas kaltem Eisessig wäscht und auf dem Dampfbade trocknet. Durch starkes Einengen der Mutterlauge (auf $\frac{1}{10}$ des Vol.) erhält man nur noch eine geringe zweite Krystallisation. Aus der grünlich-gelben Lösung in Eisessig krystallisiert die Toluolsulfonyl-Verbindung in schönen, citronengelben, an den Enden abgeschrägten Prismen (Auslöschungsschiefe etwa 10°), die bei 150.5 bis 151° (k. Th.) schmelzen.

4.148 mg Sbst.: 8.56 mg CO_2 , 1.90 mg H_2O . — 4.138 mg Sbst.: 0.320 ccm N (21° , 740 mm).

$C_{15}H_{16}N_2SO_4$ (320.1). Ber. C 56.23, H 5.00, N 8.75.

Gef. „ 56.28, „ 5.12, „ 8.74.

¹⁾ B. 67, 1409, 1459 [1934].

²⁾ B. 67, 1460 [1934].

³⁾ Dargestellt nach E. Noelting, G. Thesmar, B. 35, 628 [1902]. Der Schmp. der reinen Substanz liegt bei 140.5 – 141° (kurzes Therm., E. Noelting: 139 – 140°). Zum Umkrystallisieren ist ein hälftiges Gemisch von Methyl- und Äthylalkohol (15 Tle. auf 1 Tl. Nitro-xyloidin) sehr geeignet.

Die Substanz ist in verd. Alkali mit gelber Farbe löslich, doch ist die Löslichkeit bei 15–20° nur gering.

b) 1.2-Dimethyl-4-nitro-5-[*N*-methyl-toluolsulfamido]-benzol (II).

Je 5 g Toluolsulfonyl-Verbindung (I) werden mit 50 ccm $n/1$ -Kalilauge⁴⁾ übergossen und auf 50–60° erwärmt, wobei sich am Boden des Gefäßes ein rötliches Öl bildet. Nun gibt man nicht zu langsam, in kleinen Anteilen unter lebhaftem Schütteln insgesamt 17.5 ccm Dimethylsulfat zu. Jedesmal, wenn der Farbumschlag nach milchig-hellgelb anzeigt, daß die Lösung sauer wird, gibt man etwas 20-proz. Kalilauge zu. Gegen Ende der Reaktion wird der Farbumschlag immer weniger deutlich, weshalb man zuletzt öfters mit Lackmus-Papier prüft. Reicht die Reaktionswärme nicht mehr aus, um die anfängliche Temperatur (50–60°) aufrecht zu erhalten, so erwärmt man von Zeit zu Zeit wieder. In etwa 15 Min. soll die Methylierung beendet sein.

Die methylierte Toluolsulfonyl-Verbindung scheidet sich schon während der Reaktion in fast farblosen Flocken aus, die durch überschüssiges Dimethylsulfat vorübergehend wieder zu einem Öl werden können. Nach beendeter Methylierung wird abgesaugt, mit Wasser gewaschen und noch feucht aus 150–180 ccm siedendem Methanol, dem man in der Hitze vorsichtig einige ccm Wasser zusetzt, umkristallisiert. Man erhält so 4.5–4.9 g (87–94 % d. Th.) methylierte Toluolsulfonyl-Verbindung, durch Einengen der Mutterlauge bis zu 0.5 g weitere, etwas weniger reine Substanz. Zur Analyse wurde aus Methanol und 2-mal aus Äthylalkohol umkristallisiert, wobei fast farblose (ganz blaß strohgelbe) Nadeln erhalten wurden, die zu schönen Rosetten vereinigt waren. Der Schmp. liegt nach wiederholten Krystallisationen aus Methanol und aus Eisessig bei 148,5–149° (k. Th.).

4.264 mg Sbst.: 8.98 mg CO₂, 2.05 mg H₂O. — 3.933 mg Sbst.: 0.289 ccm N (21°, 740 mm).

C₁₆H₁₈N₂SO₄ (334.1). Ber. C 57.48, H 5.43, N 8.38.

Gef. „ 57.42, „ 5.38, „ 8.31.

In verd. Alkali ist die methylierte Toluolsulfonyl-Verbindung unlöslich.

c) 1.2-Dimethyl-4-nitro-5-methylamino-benzol (III).

22.2 g ($\frac{2}{30}$ Mole) methylierte Toluolsulfonyl-Verbindung (II) werden mit einem Gemisch von 10.5 ccm Eisessig und 25 ccm konz. Schwefelsäure 1 Stde. auf dem Dampfbade erhitzt. Die erkaltete rotbraune Lösung wird in 700 ccm kaltes Wasser gegossen, wobei das methylierte Nitro-xylidin in orangefarbenen Flocken ausfällt. Das mit Wasser gewaschene und getrocknete Rohprodukt (11.3 g, 94 % d. Th.) wird aus 150 ccm absol. Äthylalkohol umkristallisiert. Man erhält dabei glänzende, orangerote, rechteckige Täfelchen oder schmale Prismen, die bei 139° (k. Th.) schmelzen.

4.220 mg Sbst.: 9.34 mg CO₂, 2.52 mg H₂O. — 4.164 mg Sbst.: 9.215 mg CO₂, 2.48 mg H₂O. — 3.087 mg Sbst.: 0.417 ccm N (20°, 740 mm). — 3.387 mg Sbst.: 0.457 ccm N (20°, 741 mm).

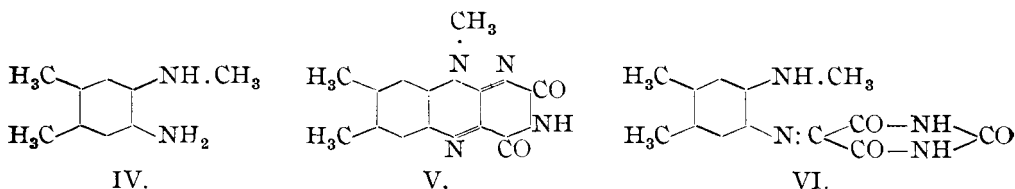
C₉H₁₂N₂O₂ (180.1). Ber. C 59.97, H 6.72, N 15.56.

Gef. „ 60.36, 60.34, „ 6.68, 6.66, „ 15.33, 15.33.

⁴⁾ Methyliert man in der üblichen Weise mit Natronlauge in der Kälte, so bleibt die Methylierung leicht unvollständig.

d) 1.2-Dimethyl-4-amino-5-methylamino-benzol (IV).

12.25 g 1.2-Dimethyl-4-nitro-5-methylamino-benzol (III) trägt man unter Umschütteln in eine Lösung von 75 g Zinnchlorür (SnCl_2 , 2 H_2O) in 150 ccm konz. Salzsäure ein, wobei die Substanz unter Aufsieden in Lösung geht. Zur Vervollständigung der Reduktion erhitzt man noch einige Minuten auf dem Drahtnetz und gießt noch warm in eisgekühlte, carbonatfreie, überschüssige Natronlauge (200 g NaOH in 350 ccm Wasser). Das dabei ausfallende Diamin wird sofort durch mehrmaliges Ausschütteln in Äther aufgenommen⁵⁾, der Äther über Natriumsulfat getrocknet, auf etwa 100 ccm eingengt und trockner Chlorwasserstoff eingeleitet. Von dem fast farblosen



Dichlorhydrat (14.55 g, 96 % d. Th.) wurden 0.5 g zur Analyse aus 5 ccm HCl-haltigem Alkohol umkrystallisiert. Die reine Substanz stellt farblose, breite Nadeln dar, die sich bei schnellem Erhitzen zwischen 180° und 185° zersetzen.

4.291 mg Stbst.: 7.57 mg CO_2 , 2.66 mg H_2O . — 3.385 mg Stbst.: 0.371 ccm N (20°, 750 mm). — 3.704 mg Stbst.: 0.408 ccm N (20°, 749 mm).

$\text{C}_9\text{H}_{14}\text{N}_2\cdot 2\text{HCl}$ (223.0). Ber. C 48.42, H 7.23, N 12.56.

Gef. „ 48.17, „ 6.94, „ 12.60, 12.65.

Die freie Base $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{N}_2$ sublimiert unter 1–2 mm bei etwa 90° (Luftbad) in schneeweißen, breiten, dachförmig abgeschragten Prismen, die mitunter fächerförmig verwachsen sind. Schmp. 79–80°.

Die Lösung des 1.2-Dimethyl-4-amino-5-methylamino-benzols in Alkohol wird durch einen Tropfen sehr verd. Eisenchlorid-Lösung tiefblau. Gibt man etwas 2-n.Salzsäure zu, so schlägt die Farbe nach smaragdgrün (beständig) um. Die konz. wäßrige Lösung des Dichlorhydrats gibt mit Ferrichlorid (Überschuß) eine tief smaragdgrüne Färbung, die jedoch in wenigen Sekunden nach olive umschlägt.

e) 6.7.9-Trimethyl-flavin (Lumi-lactoflavin, V).

Eine Lösung von 6.0 g des Dichlorhydrats von IV wird mit einer Lösung von 6.4 g Alloxan-Tetrahydrat (10 % Überschuß) in 25 ccm Wasser versetzt und 15 Min. auf 50–60° erhitzt. Der Farbstoff beginnt schon nach wenigen Minuten auszufallen, nach dem Erkalten wird abgesaugt und im Vakuum getrocknet. Das Rohprodukt wiegt 6.2 g (90 % d. Th.). Zum Umkrystallisieren wird in 12 Tln. heißer 100-proz. Ameisensäure gelöst, der man zur Beschleunigung der Krystallisation noch etwas Aceton oder Methanol zusetzen kann. Das 6.7.9-Trimethyl-flavin krystallisiert aus Ameisensäure in seidglänzenden, gelben, sehr feinen, langen Nadeln, die Ameisensäure gebunden enthalten.

⁵⁾ Emulsions-Bildung läßt sich durch Verdünnen mit Wasser unschwer verhindern.

Trocknet man 3 Stdn. unter 14 mm bei 100°, so enthalten die Krystalle noch etwa 1/2 Mol Ameisensäure:

4.235 mg Sbst.: 8.99 mg CO₂, 1.67 mg H₂O. — 4.097 mg Sbst.: 8.69 mg CO₂, 1.70 mg H₂O. — 2.355 mg Sbst.: 0.418 ccm N (20°, 750 mm). — 2.465 mg Sbst.: 0.437 ccm N (20°, 750 mm).

2 C₁₃H₁₂N₄O₂, H.COOH. Ber. C 58.04, H 4.69, N 20.06.
Gef. ,, 57.90, 57.85, ,, 4.41, 4.64, ,, 20.41, 20.38.

Trocknet man 3 Stdn. unter 1–2 mm bei 135°, so entweicht alle Ameisensäure, und das 6.7.9-Trimethyl-flavin nimmt orangegelbe Farbe an (so wie die aus Eisessig krystallisierenden Produkte).

4.326 mg Sbst.: 9.68 mg CO₂, 1.93 mg H₂O. — 4.614 mg Sbst.: 10.25 mg CO₂, 1.95 mg H₂O. — 2.239 mg Sbst.: 0.433 ccm N (23°, 753 mm). — 2.170 mg Sbst.: 0.420 ccm N (23°, 753 mm).

C₁₃H₁₂N₄O₂ (256.1). Ber. C 60.91, H 4.72, N 21.86.
Gef. ,, 61.03, 60.71, ,, 4.99, 4.73, ,, 22.10, 22.12.

Das licht-elektrisch gemessene Absorptionsspektrum ist mit demjenigen des natürlichen Lumi-lactoflavins identisch. Ameisensäure hat sich auch bei anderen Flavinen als hervorragendes Krystallisationsmittel bewährt.

f) Alloxanyl-1.2-dimethyl-4-amino-5-methylamino-benzol (VI).

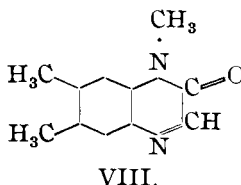
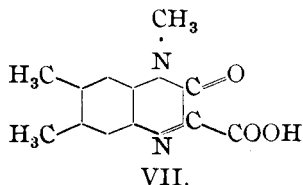
4.9 g 1.2-Dimethyl-4-amino-5-methylamino-benzol (IV) wurden mit 7.0 g Alloxan-Tetrahydrat⁶⁾, jedes für sich in absol. Alkohol, insgesamt 70 ccm, gelöst, bei 15–20° vermischt⁷⁾. Nach wenigen Minuten beginnt die Abscheidung des gelben Kondensationsproduktes, die man durch Aufbewahren im Eis-Schrank vervollständigt. Man erhält 8.3 g (93 % d. Th.) getrocknetes Rohprodukt, das sich fast ohne Verlust aus 20 Tln. siedendem Eisessig umkrystallisieren läßt. Die grünstichig-gelbe Substanz stellt schmale, gerade auslöschende Stäbchen dar, die unt. Zers. bei 251–252° (k. Th.) schmelzen.

4.336 mg Sbst.: 9.00 mg CO₂, 1.93 mg H₂O. — 2.395 mg Sbst.: 0.424 ccm N (21°, 753 mm). — 2.191 mg Sbst.: 0.395 ccm N (23°, 753 mm).

C₁₃H₁₄N₄O₃ (274.1). Ber. C 56.91, H 5.14, N 20.43.
Gef. ,, 56.61, ,, 4.98, ,, 20.37, 20.60.

g) 1-Methyl-2-oxo-6.7-dimethyl-1.2-dihydro-chinoxalin-3-carbonsäure (VII).

5.0 g Alloxanyl-1.2-dimethyl-4-amino-5-methylamino-benzol (VI) werden mit 150 ccm 2-n.Sodalösung 3 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Man filtriert und macht mit konz. Salzsäure kongo-sauer. Die ausfallende



⁶⁾ Über Nacht im Vakuum über Pentoxyd getrocknet.

⁷⁾ vergl. O. Kühling, B. 39, 1324 [1906].

hellgelbe Oxo-säure wird mit Wasser auf der Nutsche gewaschen und noch feucht aus 45 ccm siedendem Eisessig umkrystallisiert. Man erhält 3,2 g (80% d. Th.) strohgelbe, abgeschrägte Stäbchen von gerader Auslöschung, die oft büschelig angeordnet sind. Rasch erhitzt, schmilzt die Substanz bei 214° (k. Th.) unter lebhafter Zersetzung (CO₂-Abspaltung). Die synthetische β-Oxo-säure stimmt in allen Eigenschaften überein mit der Verbindung C₁₂H₁₂N₂O₃, die R. Kuhn und H. Rudy⁸⁾ durch alkalischen Abbau des natürlichen, R. Kuhn, K. Reinemund und F. Weygand²⁾ durch alkalischen Abbau des synthetischen Lumi-lactoflavins erhalten haben. Das aus unserer synthetischen Säure beim Erhitzen sich glatt bildende Decarboxylierungsprodukt C₁₁H₁₂N₂O, das 1-Methyl-2-oxo-6,7-dimethyl-1,2-dihydro-chinoxalin (VIII) schmilzt bei 176°. Es ist mit dem entsprechenden Abbauprodukt des natürlichen und des synthetischen Lumi-lactoflavins nach allen untersuchten Eigenschaften identisch.

4.193 mg Sbst.: 9.52 mg CO₂, 2.02 mg H₂O. — 4.308 mg Sbst.: 9.74 mg CO₂, 2.07 mg H₂O. — 4.090 mg Sbst.: 0.426 ccm N (21°, 755 mm). — 3.935 mg Sbst.: 0.421 ccm N (21°, 752 mm).

C₁₂H₁₂N₂O₃ (232.1). Ber. C 62.04, H 5.21, N 12.06.

Gef. „ 61.92, 61.66, „ 5.39, 5.38, „ 12.01, 12.03.

Nach den gegebenen Vorschriften⁹⁾ haben wir aus 16.6 g (¹/₁₀ Mol) 1,2-Dimethyl-4-nitro-5-amino-benzol 19.2 g (75% d. Th.) Lumi-lactoflavin erhalten. Die Ausbeuten in den aufeinander folgenden Stufen betragen 92%, 96%, 94%, 96% und 94% d. Th. Aus 1 kg des Nitro-xylidins könnte man daher etwa 1150 g Lumi-lactoflavin darstellen, wozu auf dem früheren Wege die Verarbeitung von etwa 7 Millionen Litern Milch erforderlich wäre.

380. Richard Kuhn und Hermann Rudy: Über die photochemische Bildung von 6,7-Dimethyl-alloxazin aus Lacto-flavin.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für medizin. Forschung, Heidelberg, Institut für Chemie.]
(Eingegangen am 23. Oktober 1934.)

Daß Vitamin B₂ (Lacto-flavin) schon durch sichtbares Licht inaktiviert (zerstört) wird, ist bereits wiederholt mitgeteilt worden¹⁾. Dabei wurde besonders hervorgehoben, daß nicht nur in alkalischer Lösung, in der O. Warburg und W. Christian²⁾ an der Farbstoff-Komponente des gelben Hefe-Fermentes die Bildung eines chloroform-löslichen Farbstoffs zuerst aufgefunden hatten, die Wirksamkeit verlorengelht, sondern daß auch in neutraler und saurer Lösung das Vitamin B₂ schon durch blaues und violettes Licht zerstört wird. B. C. P. Jansen und H. G. K. Westenbrink³⁾ haben dies bestätigt und bestrahlte Hefe-Präparate für die Grundkost von Ratten verwendet, die zur Bestimmung von Vitamin B₂ dienen. In einer

⁸⁾ B. **67**, 892 [1934].

⁹⁾ Die Methylierung des Nitro-xylidins ist in Anlehnung an Versuche mit o-Nitranilin von E. H. Usherwood u. M. A. Whiteley, Journ. chem. Soc. London **123**, 1069, u. zw. S. 1084, durchgeführt.

¹⁾ R. Kuhn, P. György u. Th. Wagner-Jauregg, B. **66**, 317 [1933]; P. György, R. Kuhn u. Th. Wagner-Jauregg, Klin. Wchschr. **12**, 1241 [1933]; R. Kuhn, Journ. Soc. chem. Ind. **52**, 981 [1933].

²⁾ Naturwiss. **20**, 980 [1932].

³⁾ Acta brev. neerl. Physiol. **3**, 167 [1933]; Ber. Physiol. **78**, 591 [1934].