

Sulfantimonsäure-*p*-tolylester, $(\text{CH}_3 \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{S})_3\text{Sb}:\text{S}$ (IX).

Darstellung entsprechend der des Sulfarsensäure-*p*-tolylesters (IV). Hellgelbe Nadelchen, die an der Luft schnell orange gelb werden. Schmp. 91—93°. Leicht löslich in Benzol, Schwefelkohlenstoff, unlöslich in Alkohol.

393.0 mg Sbst.: 90.2 mg Sb. — 408.2 mg Sbst.: 96.0 mg Sb. — 248.2 mg Sbst.: 445.6 mg BaSO_4 .

$\text{C}_{91}\text{H}_{21}\text{S}_4\text{Sb}$ (523.2). Ber. Sb 23.28, S 24.52.

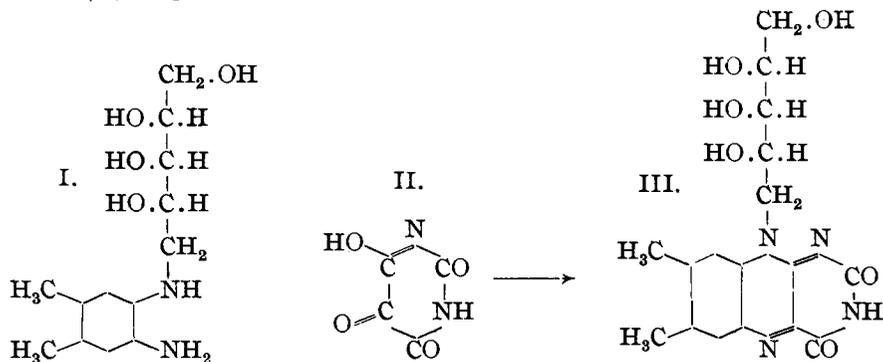
Gef. „ 22.96, 23.52, „ 24.66.

Die Untersuchung über die Ester von Sulfosäuren wird nach allen Richtungen weiter fortgesetzt.

348. Richard Kuhn, Karl Reinemund, Friedrich Weygand und Rudolf Ströbele: Über die Synthese des Lactoflavins (Vitamin B₂).

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizin. Forschung Heidelberg, Institut für Chemie.]
(Eingegangen am 31. Juli 1935.)

Das der Lactoflavin-Formel von R. Kuhn und F. Weygand¹⁾ (III) entsprechende 6.7-Dimethyl-9-*d*-riboflavin erschien synthetisch zugänglich nach der von R. Kuhn und F. Weygand²⁾ aufgefundenen Flavin-Synthese²⁾ durch Kondensation von 1.2-Dimethyl-4-amino-5-[*d*-1'-ribityl-amino]-benzol (I) mit Alloxan, das dabei in der Lactim-Form (II) reagiert.



Dieser Versuch hat der Erwartung gemäß sowohl in Zürich³⁾, wie in Heidelberg⁴⁾ zu einem Flavin geführt, das mit dem von R. Kuhn, P. György und Th. Wagner-Jauregg⁵⁾ aus Milch isolierten Lactoflavin (Vitamin B₂) identisch ist. Führt man die Kondensation mit der berechneten

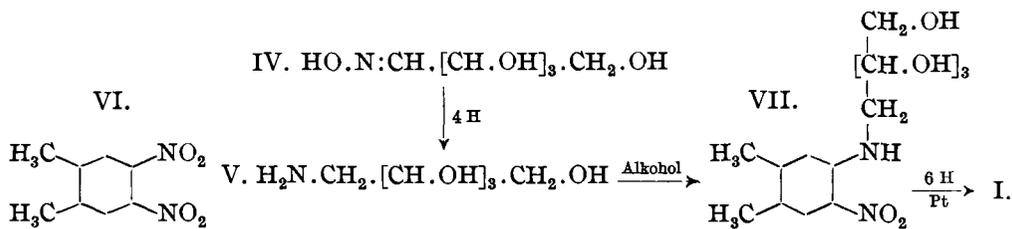
¹⁾ B. 68, 166 [1935]; dort Formel IV auf S. 167. ²⁾ B. 67, 1409, 1459 [1934].

³⁾ P. Karrer, K. Schöpp u. F. Benz, *Helv. chim. Acta* 18, 426 [1935]; H. v. Euler, P. Karrer, M. Malmberg, K. Schöpp, F. Benz u. B. Becker, *Helv. chim. Acta* 18, 522 [1935].

⁴⁾ R. Kuhn, K. Reinemund, H. Kaltschmitt, K. Ströbele u. H. Trischmann, *Naturwiss.* 23, 260 [1935]; R. Kuhn, *Bull. Soc. Chim. biol.* 17, 905 [1935]; R. Kuhn, *Chem.-Ztg.* 59, 604 [1935]. ⁵⁾ B. 66, 1034 [1933].

Menge Alloxan in Eisessig unter Zusatz von Borsäure⁶⁾ bei 15—20° aus, so erhält man das Vitamin in einer Ausbeute von 90—95% d. Th. sofort in kristallisiertem Zustande, und schon nach einmaligem Umkristallisieren aus Alkohol stimmen alle physikalischen, chemischen und biologischen Eigenschaften mit denen des Naturproduktes genau überein (Tabelle 1). Die bei Ausbeuten von unter 10% d. Th. in den ersten Synthesen^{3), 4)} erforderliche Reinigung durch wiederholte Adsorption und Elution ist durch das neue Borsäure-Verfahren entbehrlich geworden. Die noch vorhandenen Verluste von 5—10% d. Th. sind auf die eingewogenen Mengen 1.2-Dimethyl-4-nitro-5-[*d*-1'-ribityl-amino]-benzol (VII) berechnet und vorwiegend auf die Empfindlichkeit des Diamins (I) zurückzuführen, das als Zwischenprodukt gleich weiterverarbeitet wurde.

Die Synthese des Diamins I haben wir auf drei verschiedenen Wegen ausgeführt: 1) *d*(-)-Ribose wurde mit Hydroxylamin in alkoholischer Lösung umgesetzt und das erhaltene *d*-Ribose-oxim (IV) zum *d*-Ribamin (V) reduziert. Dieses kondensierten wir mit 1.2-Dimethyl-4.5-dinitrobenzol (VI) in Alkohol zum 1.2-Dimethyl-4-nitro-5-[*d*-1'-ribityl-amino]-benzol (VII), das orangefarbene Prismen vom Schmp. 127° darstellt. Die katalytische Hydrierung der Nitrogruppe zu I bereitet keine Schwierigkeit.



Diese Synthese⁷⁾ des Diamins I erfordert vom Dinitro-xylool (VI) aus 2 Stufen, von der *d*-Ribose aus aber 4 Stufen.

2) 1.2-Dimethyl-4.5-dinitro-benzol (VI) wurde mit Ammoniak zum 1.2-Dimethyl-4-nitro-5-amino-benzol (VIII) umgesetzt. Nach nahezu ergebnislosen Versuchen, das durch Reduktion der Acetylverbindung erhältliche Diamin nach hydrierender Kondensation mit Pentosen zur Synthese von Flavinen auszunützen, haben wir das Nitro-xyloidin (VIII) mit Phosgen zum 2-Nitro-4.5-dimethyl-phenylisocyanat (IX) umgesetzt und dieses durch Erhitzen mit Alkohol in das Nitro-urethan (X) verwandelt. Letzteres ließ sich durch katalytische Hydrierung leicht in das inzwischen bekanntgewordene Amino-urethan (XI) verwandeln, das wir nach dem von A. Skita⁸⁾ aufgefundenen Verfahren zur Kondensation von primären Aminen mit Pentosen, nämlich mit Palladium⁹⁾ und Wasserstoff,

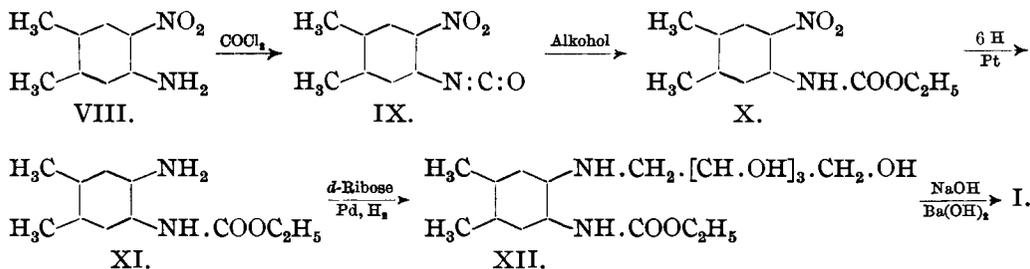
⁶⁾ R. Kuhn u. F. Weygand, B. **68**, 1282 [1935].

⁷⁾ vergl. R. Kuhn u. F. Weygand, B. **67**, 1939 [1934], **68**, 1001, 1282 [1935].

⁸⁾ A. Skita u. F. Keil, B. **61**, 1452, 1682 [1928]. — Hrn. Prof. Dr. A. Skita möchten wir für wertvolle Ratschläge bei der Ausarbeitung des Verfahrens auch an dieser Stelle unseren Dank aussprechen.

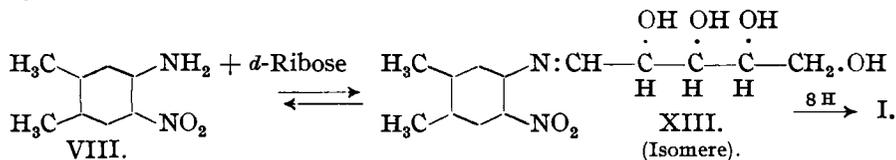
⁹⁾ R. Kuhn, Bull. Soc. Chim. biol. **17**, 905 [1935]; vergl. auch eine Bemerkung bei H. v. Euler, P. Karrer, M. Malmberg, K. Schöpp, F. Benz u. K. Becker, Helv. chim. Acta **18**, 522 [1935] über die Verwendbarkeit von Palladium.

mit *d*-Ribose zum 1.2-Dimethyl-4-[carbäthoxy-amino]-5-[*d*-1'-ribityl-amino]-benzol (Schmp. 169⁰) vereinigen konnten:



Diese Darstellung des Zwischenproduktes I, die zuerst von P. Karrer³⁾ ausgeführt wurde¹⁰⁾, erfordert vom Nitro-xylydin (VIII) aus 5 bzw. 4 Stufen, von der *d*-Ribose aus aber nur 2. Hinsichtlich der Zwischenprodukte XI und XII stehen unsere Beobachtungen mit den Angaben von P. Karrer im Einklang, und sie bestätigen das Endergebnis. Die einzigen, nicht grundsätzlichen Unterschiede der Arbeitsweisen, die Erwähnung verdienen, sind: a) die Darstellung des Nitro-urethans (X), das auf dem hier angegebenen Wege in besserer Ausbeute und reiner erhalten wird, b) die Verwendung von synthetischer *d*(—)-Ribose, die wir aus Calcium-gluconat selbst hergestellt haben, c) die Verwendung von Pd bei gelinder Wärme und geringem Überdruck (1 Atm.) an Stelle von Nickel bei hoher Temperatur und 15—20 Atm. Wasserstoff für die Reaktion XI → XII, d) die Anwendung von Borsäure für die Kondensation des Diamins I mit Alloxan zum Lactoflavin.

3) Die einfachste Synthese des Diamins I, die R. Ströbele aufgefunden hat, besteht darin, das Nitro-xylydin (VIII) mit *d*-Ribose in Alkohol zu erhitzen und das erhaltene Kondensationsprodukt (XIII) katalytisch zu hydrieren:



Diese Synthese verlangt sowohl vom Nitro-xylydin wie von der *d*-Ribose aus nur je 2 Stufen. Sie ist von allgemeiner Anwendbarkeit und gestattet, auch Ester von reduzierenden Zuckern in Flavin-ester überzuführen, da keine alkalische Verseifung vorkommt.

Die Kondensation von *o*-Nitranilinen mit Pentosen und Hexosen ist eine Gleichgewichts-Reaktion. Erhitzt man z. B. 1 Mol *d*-Ribose und 1 Mol 1.2-Dimethyl-4-nitro-5-amino-benzol in Alkohol auf 110⁰ und läßt nach dem Erkalten die Lösung durch eine Säule von Aluminiumoxyd laufen, so bleibt das Kondensationsprodukt als breite, scharf abgegrenzte

¹⁰⁾ Die Darstellung von Urethanen der allgemeinen Formel XII und ihre Verseifbarkeit zu Diaminen der allgemeinen Formel I haben P. Karrer, K. Schöpp, F. Benz u. K. Pfaehler, B. 68, 216 [1935]; Helv. chim. Acta 18, 69 [1935], zuerst beschrieben.

Zone hängen, während das unveränderte Nitro-xylydin leicht in das Filtrat geht und auskrystallisiert. Verwendet man einen Überschuß von Nitro-xylydin, so steigen die Ausbeuten entsprechend dem Massenwirkungs-Gesetz stark an. So erhält man aus 1 g *d*-Ribose und 5 g Nitro-xylydin 1.50 g Kondensationsprodukt (75% d. Th.), das nach katalytischer Hydrierung mit Alloxan und Borsäure sofort Lactoflavin liefert. Da die unveränderten Ausgangs-Substanzen durch einmalige chromatographische Analyse zurückgewonnen werden, läßt sich nicht nur der Zucker, sondern auch das in großem Überschuß angewandte Nitro-xylydin nahezu vollständig zur Umsetzung bringen.

Das Kondensationsprodukt aus 1.2-Dimethyl-4-nitro-5-amino-benzol und *l*-Arabinose ist eine ausgezeichnet krystallisierende, sehr säure-empfindliche, orange-gelbe Substanz vom Schmp. 166°.

Die 6.7-Dimethyl-9-*d*-riboflavin-Präparate, die wir über die verschiedenartigen Zwischenprodukte hinweg erhalten haben, schmelzen alle unt. Zers. bei 292° (k. Th.). Sie geben untereinander und mit natürlichem Lactoflavin vom Schmp. 292° (k. Th.) keine Depression. Dasselbe gilt für die bei 242° (k. Th.) schmelzenden Tetraacetylverbindungen, die auch in Krystallform und Löslichkeit keine Unterschiede erkennen lassen.

Tabelle 1: Vergleich von synthetischem und natürlichem Lactoflavin.

	synthet. 292°	natürl. 292°
Schmp. (k. Th.) unt. Zers.		
Farbstärke der wäßrigen Lösung ¹¹⁾ für 0.100 mg in 1 ccm, Filter S 47	$\epsilon = 3.23 \pm 0.15$	$\epsilon = 3.20 \pm 0.15$
Lage der Haupt-absorptionsbanden ¹²⁾ λ in m μ (± 1)	445 m μ 359 m μ 266 m μ 221 m μ	445 m μ 360—365 m μ 265 m μ 220 m μ
Drehungsvermögen ¹³⁾ in n_{10} -NaOH (l = 1 dm)	c = 0.502 $[\alpha]_D^{20} = -116^\circ$ c = 0.251 $[\alpha]_D^{20} = -111^\circ$ c = 0.125 $[\alpha]_D^{20} = -96^\circ$ c = 0.062 $[\alpha]_D^{20} = -72^\circ$	$[\alpha]_D^{20} = -118^\circ$ $[\alpha]_D^{20} = -112^\circ$ $[\alpha]_D^{20} = -93^\circ$ $[\alpha]_D^{20} = -72^\circ$
Drehungsvermögen in n_{20} -NaOH + ges $_{1/2}$ Borax (l = 1)	c = 0.125 $[\alpha]_D^{20} = +332^\circ$	$[\alpha]_D^{20} = +333^\circ$
Alkalische Photolyse ¹⁴⁾ : Halbwerts-Zeit ¹⁵⁾ in Min.	t = 8.0 \pm 0.3	t = 7.9 \pm 0.3
Endwert der Photolyse ¹⁶⁾	70 \pm 3% d. Th.	68 \pm 3% d. Th.
Schmp. der Tetraacetylverbindung (k. Th.)	242°	242°
Wachstums-Wirkung von 10 γ je Tag und Ratte	+1.43 g	+1.45 g

¹¹⁾ 1.396 mg Farbstoff in 20 ccm Wasser (*d* = 2,5 mm) und in 100 ccm Wasser (*d* = 2,5 mm). Stufen-Photometer C. Zeiß.

¹²⁾ Licht-elektrische Photometrie: Je 1.396 mg Farbstoff in 20 ccm Wasser. Die schwächste der 4 Hauptbanden bei $\lambda =$ etwa 360 m μ zeigt in ihrer Gestalt und Höhe sowohl bei natürlichen wie synthetischen Flavinen Schwankungen.

¹³⁾ Für c = 0.50 ist die Genauigkeit von $[\alpha]_D = \pm 3^\circ$, für c = 0.125 $[\alpha]_D = \pm 8^\circ$.

¹⁴⁾ Je 147 γ Farbstoff pro ccm 0.5-n. Natronlauge aus etwa 30 cm Entfernung mit einer 500-Watt-Lampe bestrahlt. Von 3 zu 3 Min. wurden je 2 ccm mit der Pipette entnommen, zu 0.30 ccm Eisessig gegeben, mit Wasser verdünnt, 3-mal mit Chloroform ausgeschüttelt, durch trockenes Filter gegossen, mit Chloroform auf 10.0 ccm verdünnt und am Stufen-Photometer abgelesen.

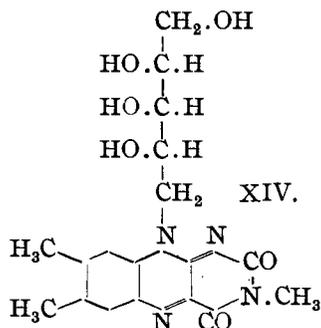
¹⁵⁾ vergl. Abbild. 2 bei R. Kuhn, H. Rudy u. F. Weygand, B. 68, 625 [1935].

¹⁶⁾ Ausbeute an Lumi-lactoflavin.

Weitere, in Tabelle 1 verglichene, physikalische Konstanten stimmen ebenso wie die Wachstums-Wirkung an B₂-frei ernährten Ratten innerhalb der Fehlergrenzen überein. Damit ist die Konstitution des Lactoflavins eindeutig im Sinne der von R. Kuhn und F. Weygand vorgeschlagenen Formel III bewiesen.

Das Lactoflavin läßt in seiner Konstitution Beziehungen zu 4 verschiedenen Körperklassen der organischen Chemie erkennen, deren Eigenschaften es in sich vereinigt: 1) Zu den Zuckern durch seine Pentit-Kette, 2) zu den Pyrimidinen (Purinen) durch den alkali-labilen Ring (N-Atome 1 und 3), 3) zu den Azinfarbstoffen (N-Atome 9 und 10), unter denen natürliche Farbstoffe (Chlororaphin, Pyocyanin) bereits bekannt waren, 4) zu den Benzolderivaten, wobei die *o*-Stellung der beiden Methyl- für Naturstoffe neuartig erscheint. Unterscheidend von den Nucleosiden, an die das Lactoflavin in seiner Gesamtheit erinnert, ist die bereits hervorgehobene Tatsache¹⁾, daß die zucker-ähnliche Seitenkette (*d*-Ribose) nicht glucosidisch gebunden ist, sondern als Pentit-Kette vorliegt, woraus sich die Beständigkeit des Vitamins gegen verd. Mineralsäuren auch in der Hitze erklärt. Es ist denkbar, daß das Lactoflavin in den Pflanzen durch Hydrierung einer glucosidischen Vorstufe, eines echten *d*-Ribosids, gebildet wird.

Einen neuen Beitrag zur Spezifität des Lactoflavins bietet die Beobachtung, daß das 3.6.7-Trimethyl-9-*d*-riboflavin (XIV) = 3-Methyl-lactoflavin, das wir aus dem Diamin I und Methyl-alloxan dargestellt haben und das sich wie andere 3-Methyl-flavine durch besonders schöne Krystalle auszeichnet, in Gaben von 10 γ je Tag und Ratte nicht die geringste Wachstums-Wirkung an B₂-Tieren zeigt. Der freien NH-Gruppe in 3-Stellung kommt also neben der sterischen Anordnung der Pentit-Kette Bedeutung für die Vitamin-Wirksamkeit zu.



Beschreibung der Versuche.

d(—)-Ribose.

Künstliche *d*(—)-Ribose haben M. Gehrke und F. X. Aichner¹⁷⁾ schon vor mehreren Jahren aus einem Sirup als Benzyl-phenyl-hydrizon krystallisiert erhalten und in dieser Form mit dem natürlichen Zucker identifiziert. Die für die Synthese des Lactoflavins benötigte freie, reine *d*(—)-Ribose stellten wir im wesentlichen auf dem von M. Gehrke und F. X. Aichner angegebenen Wege dar, wobei neuere Angaben von W. C. Austin und F. L. Humoller¹⁸⁾ über die Synthese der *l*(+)-Ribose berücksichtigt werden konnten.

2 kg *d*-gluconsaures Calcium¹⁹⁾ lieferten beim Abbau nach O. Ruff in der von R. C. Hocket und C. S. Hudson²⁰⁾ verbesserten Ausführungs-

¹⁷⁾ B. 60, 918 [1927].

¹⁸⁾ Journ. Amer. chem. Soc. 56, 1152 [1934].

¹⁹⁾ Calcium Sandoz. Hrn. Prof. Dr. A. Stoll möchten wir für die freundliche Überlassung des Ausgangsmaterials auch an dieser Stelle herzlich danken.

²⁰⁾ Journ. Amer. chem. Soc. 56, 1632 [1934].

form, nämlich mit Hydroperoxyd und Ferrisulfat in Gegenwart von Bariumacetat, 520 g reine *d*-Arabinose. Aus 500 g *d*-Arabinose erhielten wir 320 g Aceto-brom-*d*-arabinose, 140 g Diacetyl-*d*-arabinal, 80 g *d*-Arabinal und schließlich 53 g *d*(—)-Ribose. Bei einzelnen Zwischenstufen wurden in Teilansätzen günstigere Ausbeuten erzielt als den angegebenen Gesamt-werten entspricht.

In Übereinstimmung mit den Angaben für den natürlichen Zucker²¹⁾ fanden wir für die synthetische *d*(—)-Ribose nach Ablauf der Mutarotation $[\alpha]_D^{23} = -23.7^{\circ}$ (Mittelwert für verschiedene, nur sehr wenig differierende Präparate) und den Schmp. bei 87° .

6.672 mg Sbst.: 9.77 mg CO₂, 4.09 mg H₂O.

C₅H₁₀O₅ (150.1). Ber. C 39.98, H 6.73. Gef. C 39.94, H 6.86.

$[\alpha]_D^{22} = (-0.40^{\circ} \times 100) : (0.90 \times 2) = -22.5^{\circ}$ (Wasser),

$[\alpha]_D^{24} = (-0.45^{\circ} \times 100) : (0.90 \times 2) = -25.0^{\circ}$ (Wasser).

d-Ribose-oxim.

6 g *d*-Ribose wurden in kleinen Anteilen in eine Lösung von 2 g freiem Hydroxylamin in 70 ccm absol. Alkohol, die auf 75° erwärmt war, eingetragen. Beim Stehen über Nacht schieden sich 4.7 g Oxim aus. Das *d*-Ribose-oxim ist leicht löslich in Wasser. Aus absol. Alkohol krystallisiert es in feinen, weißen Nadelchen, die zu Büscheln oder Doppelbüscheln angeordnet sind und bei 141° (k. Th.) schmelzen.

Zur Analyse wurde bei 100° unter 0.1 mm 1 Stde. getrocknet. 4.243 mg Sbst.: 5.690 mg CO₂, 2.60 mg H₂O. — 4.162 mg Sbst.: 0.307 ccm N (21° , 757 mm).

C₅H₁₁NO₃ (165.1). Ber. C 36.34, H 6.71, N 8.48.

Gef. „ 36.57, „ 6.86, „ 8.53.

Die wäßrige Lösung zeigt Mutarotation:

$[\alpha]_D^{20} = (+3.78^{\circ} \times 100) : (7.00 \times 1) = +54^{\circ}$ (nach 10 Min.),

$[\alpha]_D^{20} = (+2.83^{\circ} \times 100) : (7.00 \times 1) = +40^{\circ}$ (nach 70 Min.),

$[\alpha]_D^{20} = (+1.93^{\circ} \times 100) : (7.00 \times 1) = +28^{\circ}$ (nach 270 Min.),

$[\alpha]_D^{20} = (+0.66^{\circ} \times 100) : (7.00 \times 1) = +9.5^{\circ}$ (nach 17 Stdn.),

$[\alpha]_D^{20} = (+0.44^{\circ} \times 100) : (7.00 \times 1) = +6.3^{\circ}$ (Endwert).

Die Substanz besitzt keinen ausgesprochenen Geschmack.

1.2-Dimethyl-4-nitro-5-[*d*-1'-ribityl-amino]-benzol (VII).

5 g *d*-Ribose-oxim wurden in 100 ccm Wasser gelöst und mit insgesamt 300 g 3-proz. Natrium-amalgam reduziert, wobei durch Einwerfen von Eis die Temperatur zwischen 20° und 25° und die Reaktion durch Zutropfen von 1-*n.*, später 2-*n.* Schwefelsäure eben lackmus-sauer gehalten wurde. Die Aufarbeitung erfolgte nach der von M. Roux²²⁾ angegebenen Vorschrift. Eine Probe der alkohol. Lösung des *d*-Ribamins schied auf Zusatz von alkohol. Oxalsäure kein krystallisierendes Oxalat aus (Unterschied zu Arabinamin). Wir verwendeten daher für die weiteren Versuche den durch Einengen der alkohol. Lösung im Vakuum erhaltenen Sirup, dessen Gehalt an Ribamin durch Titration mit 0.1-*n.* Schwefelsäure (Methylrot) zu 1.2 g bestimmt wurde. 1.2 g öliges *d*-Ribamin und 0.8 g 1.2-Dimethyl-4.5-dinitrobenzol (Schmp. 115 — 116°) wurden mit 15 ccm 80-proz., wäßrigem Äthylalkohol 6 Stdn. auf 130° erhitzt. Nach dem Erkalten haben wir die mit

²¹⁾ Tollens-Elsner, Kohlenhydrate, 4. Aufl., S. 116 [Leipzig 1935, J. A. Barth].

²²⁾ Ann. Chim. [8] 1, 160 [1904].

Krystallen durchsetzte orangerote Lösung im Vakuum vom Alkohol befreit, 1 Stde. mit Wasserdampf destilliert und im Vakuum eingeengt. Im Eisschrank krystallisierten über Nacht 0.65 g 1.2-Dimethyl-4-nitro-5-[*d*-1'-ribityl-amino]-benzol aus. Die Substanz ist in Äther und Chloroform nahezu unlöslich. Aus Wasser, worin sie sich viel leichter als die entsprechende Arabitylverbindung löst, krystallisiert sie in orangeroten Prismen, die mitunter büschelig vereinigt sind und bei 127° (k. Th.) schmelzen.

4.502 mg Sbst. (2 Stdn. bei 100°, 0.1 mm, getrockn.): 8.57 mg CO₂, 2.61 mg H₂O. — 3.035 mg Sbst.: 0.249 ccm N (27°, 760 mm).

C₁₃H₂₀N₂O₆ (302.2). Ber. C 51.97, H 6.71, N 9.33.

Gef. „ 51.92, „ 6.49, „ 9.33.

Lactoflavin.

0.60 g 1.2-Dimethyl-4-nitro-5-[*d*-1'-ribityl-amino]-benzol wurden in 75 ccm 80-proz. wäßrigem Äthylalkohol mit 0.20 g Platinoxid und Wasserstoff geschüttelt. Nach 20 Min. war die berechnete Menge von 3.0 Molen Wasserstoff (Endwert) aufgenommen und die Lösung entfärbt. Nach dem Abfiltrieren vom Katalysator wurde im Vakuum zur Trockne verdampft, der farblose, noch ölige Rückstand sofort in 30 ccm Eisessig gelöst und zu einer in der Siedehitze bereiteten, auf 30° abgekühlten Lösung von 0.46 g Alloxan-Tetrahydrat und 0.90 g Borsäure in 30 ccm Eisessig zufließen gelassen. Die vor Zugabe des Diamins auskrystallisierte Alloxan-Borsäure-Verbindung (Schmp. 152°) ging zunächst in Lösung, und nach einigen Minuten (Schütteln) setzte die Krystallisation des Farbstoffs ein. Zur Reinigung wurde nach 1 Stde. alles im Vakuum zur Trockne gebracht und der rein gelbe, durchwegs krystalline Rückstand im Soxhlet-Apparat mit absol. Alkohol extrahiert. Dabei schied sich das 6.7-Dimethyl-9-*d*-riboflavin in goldgelben, wollig verfilzten, feinen Nadeln ab, die ohne weitere Reinigung bereits bei 291—292° (k. Th., unt. Zers.) schmolzen und in der elementaren Zusammensetzung, sowie im Drehungsvermögen ebenfalls mit natürlichem Lactoflavin bereits übereinstimmten. Die Ausbeute (0.68 g) entsprach 91 % d. Th.

4.220 mg Sbst. (2 Stdn. bei 100°, 0.1 mm, P₂O₅ getrockn.): 8.41 mg CO₂, 2.10 mg H₂O. — 2.676 mg Sbst.: 0.346 ccm N (25°, 759 mm).

C₁₇H₂₀N₄O₆ (376.2). Ber. C 54.23, H 5.36, N 14.88.

Gef. „ 54.35, „ 5.57, „ 14.79.

Über den eingehenden Vergleich mit dem Naturprodukt ist schon einleitend berichtet worden.

3-Methyl-lactoflavin.

50 mg 1.2-Dimethyl-4-nitro-5-[*d*-1'-ribityl-amino]-benzol wurden in 15 ccm 80-proz. wäßrigem Äthylalkohol mit 15 mg Platinoxid und Wasserstoff geschüttelt. Nachdem die Lösung farblos geworden war, wurde vom Katalysator abfiltriert, im Vakuum zur Trockne verdampft und das Diamin in 5 ccm Eisessig aufgenommen. Diese Lösung ließen wir zu 100 mg Methyl-alloxan-Natriumbisulfit und 200 mg Borsäure in 10 ccm Eisessig zutropfen und schüttelten noch 1 Stde. bei 20—25°. Der in üblicher Weise isolierte Farbstoff krystallisiert aus Wasser in orange-

farbigen, millimeterlangen, derben Prismen, die an den Enden abgeschrägt sind und bei 272° (k. Th., unt. Zers.) schmelzen. Ausbeute 25 mg (38% d. Th.).

2.850 mg Sbst.: 0.362 ccm N (28°, 754 mm).

$C_{18}H_{22}N_4O_8$ (390.2). Ber. N 14.34. Gef. N 14.29.

Das 3.6.7-Trimethyl-9-*d*-riboflavin läßt sich aus wäßriger Lösung nicht durch Chloroform oder Äther ausschütteln. Durch verd. Natronlauge wird es schon bei 15—20° in irreversibler Weise schnell entfärbt (Hydrolyse). Dieses Verhalten entspricht dem anderer 3-Methyl-flavine. Verd. Natriumcarbonat-Lösung löst nicht besser als Wasser und läßt den Farbstoff unverändert. Die im Tierversuch beobachtete Unwirksamkeit des 3-Methyl-lactoflavins dürfte daher nicht auf eine Zerstörung des Farbstoffes durch die Alkaleszenz des Darmes zurückzuführen sein.

1.2-Dimethyl-4-nitro-5-carbimido-benzol.

(2-Nitro-4.5-dimethyl-phenylisocyanat).

10 g 1.2-Dimethyl-4-nitro-5-amino-benzol²³⁾ werden in 400—500 ccm Benzol unter Erwärmen gelöst und langsam in 100 g einer 20-proz. Lösung von Phosgen in Toluol eingetragen²⁴⁾. Dabei entsteht ein Niederschlag von Nitro-xyloidin-Chlorhydrat. Dann gibt man nochmals 100 g einer 20-proz. Phosgen-Lösung in Toluol hinzu und erhitzt etwa 1/2 Stde. unter Rückfluß, bis das ausgeschiedene Chlorhydrat in Lösung gegangen ist²⁵⁾. Phosgen und Lösungsmittel werden im Vakuum abgedampft und der Rückstand mit Benzin (Sdp. 70—80°) ausgekocht. Beim Erkalten krystallisieren 9.0 g Isocyanat, aus der Mutterlauge weitere 0.5 g (zusammen 82% d. Th.). Die Substanz krystallisiert aus Benzin in hell citronengelben, gerade abgeschnittenen Prismen, die oft sternförmig angeordnet sind und bei 87.5° schmelzen.

4.396 mg Sbst.: 9.10 mg CO₂, 1.66 mg H₂O. — 3.150 mg Sbst.: 0.400 ccm N (21°, 747 mm).

$C_9H_8N_2O_3$ (192.1). Ber. C 56.22, H 4.22, N 14.58.

Gef. „ 56.44, „ 4.23, „ 14.49.

1.2-Dimethyl-4-nitro-5-[carbäthoxy-amino]-benzol.

9 g 1.2-Dimethyl-4-nitro-5-carbimido-benzol werden in 25 ccm absol. Äthylalkohol eingetragen (Erwärmung). Zur Vervollständigung der Reaktion erhitzt man noch 15 Min. auf dem Dampfbade. Beim Erkalten scheidet sich das Nitro-urethan in kräftig citronengelben, abgeschrägten Stäbchen ab, die bei 58° schmelzen. Die Ausbeute (11.0 g) ist nahezu theoretisch.

Zur Analyse wurde aus absol. Alkohol umkrystallisiert. 4.418 mg Sbst.: 9.01 mg CO₂, 2.36 mg H₂O. — 3.390 mg Sbst.: 0.339 ccm N (20°, 746 mm).

$C_{11}H_{14}N_2O_4$ (238.1). Ber. C 55.44, H 5.92, N 11.76.

Gef. „ 55.62, „ 5.98, „ 11.46.

²³⁾ E. Noelting u. G. Thesmar, B. **35**, 628 [1902].

²⁴⁾ vergl. M. Henri-Vittenet, Bull. Soc. chim. France [3] **21**, 586, 952 [1899].

²⁵⁾ Geht nicht alles in Lösung, so gibt man noch 20 g Phosgen-Lösung zu und setzt das Erhitzen einige Zeit fort.

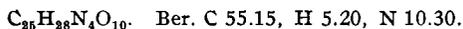
Für ein aus 1.2-Dimethyl-4-nitro-5-amino-benzol und Chlor-kohlensäure-äthylester²⁶⁾ in geringerer Ausbeute gewonnenes Präparat gibt die Literatur²⁷⁾ den Schmp. 46—51° (unkorr.) an.

Die daraus gewonnenen Flavin-Präparate waren weniger rein als die nach Verfahren 1 erhaltenen und mußten nach den für die Isolierung des natürlichen Lactoflavins ausgearbeiteten Methoden durch Adsorption und Elution oder über die Tetraacetylverbindung gereinigt werden.

Das freie 6.7-Dimethyl-9-*d*-riboflavin krystallisierte aus verd. Essigsäure in konzentrisch gruppierten, eigelben, feinen Nadelchen vom Schmp. 292° (k. Th., unt. Zers.) und gab mit natürlichem Lactoflavin vom Schmp. 292° (k. Th., unt. Zers.) keine Depression. Für das Drehungsvermögen fanden wir $[\alpha]_D^{21} = (-0.24^{\circ} \times 100) : (0.22 \times 1) = -110^{\circ}$ (*n*/₁₀-NaOH) und $[\alpha]_D^{21} = (+0.37^{\circ} \times 100) : (0.11 \times 1) = +336^{\circ}$ (*n*/₁₀-NaOH, mit dem gleichen Vol. gesättigter Borax-Lösung verdünnt).

Das Tetraacetyl-6.7-dimethyl-9-*d*-riboflavin wurde nach der zur Acetylierung des natürlichen Lactoflavins gegebenen Vorschrift²⁸⁾ mit Pyridin und Essigsäure-anhydrid dargestellt, an Aluminiumoxyd chromatographisch gereinigt und aus Alkohol umkrystallisiert, wobei wir orangefelbe Prismen vom Schmp. 238° (unkorr.) erhielten, die, mit Tetraacetyl-lactoflavin (natürlich) vom Schmp. 238° (unkorr.) gemischt, bei 237—237.5° schmolzen.

Zur Analyse trockneten wir 2 Stdn. bei 100° (0.1 mm). 4.055 mg Sbst.: 7.83 mg CO₂, 1.84 mg H₂O. — 1.562 mg Sbst.: 0.143 ccm N (29°, 753 mm).



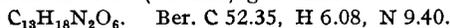
Gef. „ 55.18, „ 5.32, „ 10.25.

$[\alpha]_D^{20} = (+0.565^{\circ} \times 100) : (0.077 \times 2) = +365^{\circ}$ (*n*/₁₀-NaOH, mit dem gleichen Vol. gesättigter Borax-Lösung verdünnt; die Konzentration auf freies Flavin C₁₇H₂₀N₄O₆ umgerechnet).

1.2-Dimethyl-4-nitro-5-amino-benzol und *l*-Arabinose.

0.5 g *l*-Arabinose und 2.2 g Nitro-xyloidin wurden mit 30 ccm absol. Alkohol 6 Stdn. auf 110—120° erhitzt. Die erkaltete, orangefarbene Lösung saugten wir durch eine Säule von Aluminiumoxyd (E. Merck) und entwickelten das Chromatogramm mit absol. Alkohol. Das im Überschuß (4 : 1) angewandte, unveränderte Nitro-xyloidin ging dabei leicht in das Filtrat und krystallisierte aus. Die breite orangefarbene Zone des Kondensationsproduktes wurde mit einem Gemisch von 4 Tln. Methanol und 1 Tl. Wasser eluiert, die Elution im Vakuum auf $\frac{1}{5}$ des Volumens eingengt und das dabei ausfallende Kondensationsprodukt (0.58 g = 55% d. Th.) aus Wasser umkrystallisiert. Die Substanz stellt orangefelbe, konzentrisch gruppierte, schöne Prismen dar, die bei 166° (k. Th.) schmelzen.

Zur Analyse wurde bei 100° (0.1 mm) getrocknet.



Gef. „ 52.28, „ 6.09, „ 9.60.

²⁶⁾ vergl. Ch. Rudolph, B. **12**, 1295 [1879].

²⁷⁾ Helv. chim. Acta **18**, 74 [1935].

²⁸⁾ R. Kuhn u. Th. Wagner-Jauregg, B. **66**, 1577 [1933].

Die orangegelbe wäßrige Lösung gibt an Benzol keine Spur Farbstoff ab (Phasen-Probe). Gibt man etwas Essigsäure oder eine Spur Salzsäure zu, so erfolgt Hydrolyse, und der gesamte Farbstoff (Nitro-xyloidin) geht in das Benzol.

Die Hydrolyse kann auch polarimetrisch verfolgt werden. Das Kondensationsprodukt ist nahezu optisch inaktiv.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = (\pm 0.01^{\circ} \times 100) : (0.40 \times 2) = \pm 2^{\circ} \text{ (4 Vol. CH}_3\text{.OH + 1 Vol. H}_2\text{O).}$$

Auf Zusatz von 2 Tropfen konz. Salzsäure tritt starke Rechtsdrehung auf. In der folgenden Gleichung bedeutet 298 : 150 das Verhältnis der Molekulargewichte zur Umrechnung auf freie Pentose:

$$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = (+0.22^{\circ} \times 100) : (0.22 \times 2) \times 298/150 = +99^{\circ}.$$

Das ist derselbe Wert, den *l*-Arabinose in einem Gemisch von 4 Vol. Methanol und 1 Vol. Wasser auf Zusatz von 2 Tropfen konz. Salzsäure zeigt:

$$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = (+0.34^{\circ} \times 100) : (0.171 \times 2) = +101^{\circ}.$$

Es wird natürlich unser Bestreben sein, die aufgefundenen Kondensationsprodukte von *o*-Nitranilinen²⁰⁾ mit reduzierenden Zuckern in ihrer Konstitution aufzuklären²⁰⁾ (Formel XIII stellt nur ein Beispiel unter 6 Isomeriemöglichkeiten dar) und sie zur Synthese von weiteren Flavinen zu benutzen, ebenso wie das neue Borsäure-Verfahren, welches die grundlegende Kondensation von *N*-monosubstituierten *o*-Diaminen mit Alloxan erst zu einer ergebnisreichen Synthese des Lactoflavins gemacht hat.

Hrn. H. Trischmann, der die Synthese der *d*-Ribose ausgeführt hat, sprechen wir für seine wertvolle Unterstützung unseren besten Dank aus.

349. Otto Neunhoeffler: Über Ringsprengung an *o*-Nitrophenolen durch Schwefelsäure (II. Mitteil.).

[Aus d. Chem. Institut d. Universität Greifswald.]

(Eingegangen am 22. Juli 1935.)

In der ersten Mitteilung¹⁾ wurde gezeigt, daß der von Schultz²⁾ und Pauly³⁾ entdeckte Übergang des *o*-Nitro-*p*-kresols in 2-Methyl-muconsäure und Hydroxylamin unter dem Einfluß von konz. Schwefelsäure einer weiteren Anwendung in der Reihe der *p*-substituierten *o*-Nitrophenole fähig ist. Dabei gelang es, weitere Gesichtspunkte für den Reaktions-Mechanismus zu gewinnen. Hier soll an zwei neuen Beispielen gezeigt werden, wie diese Reaktion zu einer präparativ sicheren Methode ausgestaltet werden kann, um, ausgehend von den leicht zugänglichen Nitrophenolen, gesättigte oder ungesättigte Dicarbonsäuren darzustellen. Das Ziel war die Darstellung der $\Delta^{2,3}$ -Hydro-muconsäure und der Cyclopentan-1.2-dieessigsäure.

Beim Arbeiten in präparativem Maßstabe erwies sich ein sorgfältiges Eingehen auf die spezifischen Bedingungen dieser Spaltungs-Reaktion als

²⁰⁾ Über die Kondensation der einfachsten aromatischen Amine mit reduzierenden Zuckern vergl. unter anderen besonders M. Amadori, Atti R. Accad. Lincei [6] 2, 337 [1925], 9, 68, 226 [1929], 13, 72, 195 [1931].

¹⁾ I. Mitteil.: B. 68, 255 [1935].

²⁾ B. 40, 4324 [1908].

³⁾ A. 403, 119 [1914].