

151. O. Zima und R. R. Williams: Über ein antineuritisch wirksames Oxydationsprodukt des Aneurins.

[Aus d. Hauptlaborat. d. Firma E. Merck, Darmstadt, u. d. Privatlaborat. Summit, New Jersey, U. S. A.]

(Eingegangen am 27. Juli 1940.)

Die Frage, ob Aneurin oder sein Pyrophosphorsäureester (Cocarboxylase), im lebenden Gewebe die Funktion eines Redoxsystems übernehmen kann, ist wiederholt Gegenstand experimenteller Bearbeitung gewesen. In der Tat muß man annehmen, daß das Aneurin einer reversiblen Oxydation-Reduktion zugänglich ist, wenn man seine Funktion als Teil eines oxydativen Enzymsystems erklären will.

F. Lipmann¹⁾ hat Aneurin mit Natriumhydrosulfit reduziert und dabei ein Verhalten des Vitamins festgestellt, das dem von quartären Pyridinverbindungen analog ist, die Komponenten gewisser Cofermente sind. In diesen Fällen wird angenommen, daß die Hydrierung bzw. Dehydrierung an der Doppelbindung am quartären Stickstoff erfolgt. Derselbe Autor²⁾ hat auch das Auftreten gelber Zwischenprodukte während der Reaktion beobachtet und diese als halbreduzierte Thiazoliumverbindungen gedeutet.

F. Lipmann und G. Perlmann³⁾ haben später die Untersuchungen über die Reduktion mit Hydrosulfit auf andere Thiazole ausgedehnt und dabei festgestellt, daß das vorübergehende Auftreten gelber Verbindungen ganz allgemein bei der Reduktion von Stoffen dieser Körperklasse beobachtet wird.

Bisher wurden weder diese farbigen Zwischenprodukte noch das Reduktionsprodukt des Aneurins isoliert. Durch die Reduktion geht die antineuritische Wirkung verloren. Sie konnte auch nach der Hydrosulfitreaktion nicht erwartet werden, da das Aneurinmolekül dabei der „Sulfitspaltung“ unterliegt.

K. G. Stern und J. L. Melnick⁴⁾ haben nach der katalytischen Reduktion von Cocarboxylase mit Wasserstoff antineuritische Wirksamkeit des Reaktionsgemisches festgestellt, und zwar in einer Größenordnung, daß die Annahme berechtigt erschien, das Reduktionsprodukt hätte die gleiche Wirksamkeit wie Aneurin. Indessen sind diese Untersuchungen aus folgenden Gründen nicht überzeugend:

1) Die Reduktion durch Hydrosulfit ist nicht, wie die Autoren vermuten, für Aneurin charakteristisch. Andere Thiazoliumderivate verhalten sich gleich, ohne antineuritische Wirkung zu haben.

2) Die Möglichkeit bleibt offen, daß die von Stern und Melnick beobachtete Wirksamkeit des nach der katalytischen Hydrierung erhaltenen Reaktionsgemisches auf unveränderte Cocarboxylase zurückzuführen ist.

3) Dihydroaneurin und Dihydrococarboxylase sind nicht autoxydabel.

Diese Zweifel reichen freilich nicht aus, Lipmanns Theorie über den Mechanismus der Wirkung des Aneurins zu widerlegen; es erscheint aber angebracht, dieser Theorie mit einer gewissen Reserve zu begegnen, solange nicht weitere Beweise für ihre Richtigkeit veröffentlicht sind.

Die angeführten Untersuchungen gehen von der Voraussetzung aus, daß das Aneurin in der Form, in welcher es isoliert werden kann, in einem oxydierten Zustand vorliegt und im Verlauf seiner Wirkung als Ferment einer

¹⁾ Nature [London] **138**, 1097 [1936]. ²⁾ F. Lipmann, l. c. **140**, 849 [1937].

³⁾ Journ. Amer. chem. Soc. **60**, 2574 [1938].

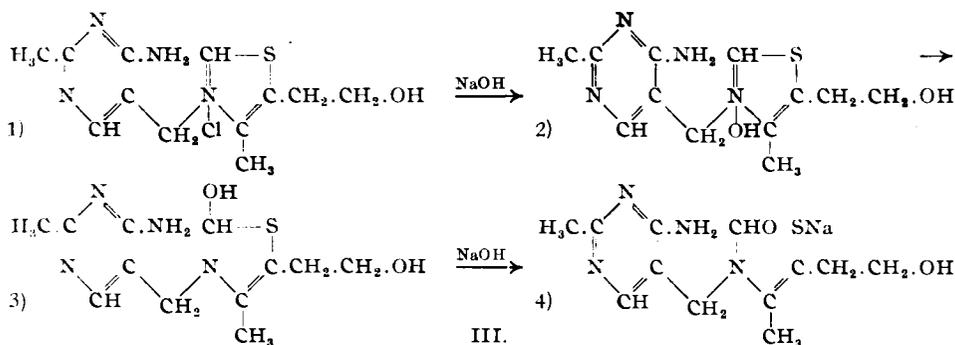
⁴⁾ Journ. biol. Chem. **131**, 597 [1939].

Läßt man starke, wäßrige Natronlauge auf Aneurin einwirken, so erhält man nach weiterer Behandlung des Reaktionsgemisches mit Aceton und nach dem Umkrystallisieren des deutlich gelben Rohproduktes ein weißes Na-Salz. Dieses hat zunächst die Zusammensetzung $C_{12}H_{17}O_2N_4SNa + 4H_2O$ und verliert beim Trocknen über Chlorcalcium bei Zimmertemperatur $2H_2O$. Bei 110° wird es gelb. Ob es sich dabei um eine Zersetzung oder um die Bildung des gelben Na-Salzes handelt, kann noch nicht gesagt werden.

Die Farbverschiedenheit der beiden Na-Salze ist offenbar auf strukturelle Verschiedenheiten zurückzuführen. In wäßrigen Lösungen ist das weiße Na-Salz die stabile Form.

Die Empfindlichkeit der Na-Salze erschwert ihre Analyse. Wir glauben aber, daß die angegebene Zusammensetzung richtig ist, da sie sich auf zahlreiche, in Deutschland und den U. S. A. unabhängig voneinander durchgeführte Herstellungen und Analysen stützt.

Da keines der beiden Natriumsalze eine positive Nitroprussid-Reaktion gibt, wurde zunächst angenommen, daß die Struktur III, 4) für das weiße Salz nicht in Betracht gezogen werden könnte. Es hat sich jedoch gezeigt, daß die Nitroprussid-Reaktion für solche Atomgruppierungen nicht charakteristisch ist, denn sie wird z. B. auch von einer alkalischen Lösung von Benzothiazoljodmethylat, in der der Thiazolring entsprechend der folgenden Formulierung (III) für das Aneurin zweifellos geöffnet ist, nicht gegeben⁵⁾.



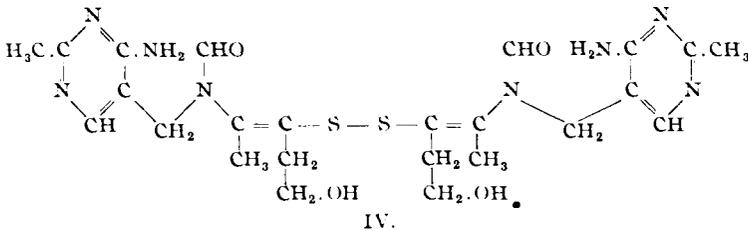
Die gelbe Farbe, die bei Behandlung des Aneurins mit Alkali auftritt, wird von quartären Thiazolen und auch Pyrimidin-Thiazol-Verbindungen im allgemeinen nicht gezeigt. Diese Reaktion ist in gewissem Maße kennzeichnend für Aneurin. Sie hängt wahrscheinlich mit der Stellung der Aminogruppe im Pyrimidinteil des Aneurins zusammen. Das Aneurin-Isomere, in dem die Methylgruppe des Pyrimidinteils in 4 statt in 2 steht, gibt mit Alkali auch eine Gelbfärbung. Dieses Isomere ist im Rattentest unwirksam; im Tauben-test hat es nach Angaben in der Literatur⁶⁾ eine geringere Wirksamkeit als Aneurin. Daraus folgt, daß die gelbe Farbe kein Zeichen für eine die antineuritische Wirksamkeit solcher Verbindungen bedingende Struktur ist.

Titriert man eine wäßrige Lösung des weißen Natriumsalzes bei 0° mit Jod, so wird das Jod sofort entfärbt, so lange, bis 1 Atom Jod für 1 Mol. Aneurin eingetragen ist. Die rasche Entfärbung hört plötzlich auf und auch ein nur geringer Überschuß von Jod wird dann nur sehr langsam verbraucht. Die

⁵⁾ W. H. Mills, L. M. Clark u. J. A. Aeschlimann, Journ. chem. Soc. London **123**, 2353 [1923].

⁶⁾ H. Andersag u. K. Westphal, B. **70**, 2035 [1937].

Oxydation geht also, wenn auch nur mit sehr geringer Geschwindigkeit, weiter. Aus dem Reaktionsgemenge läßt sich in guter Ausbeute ein Oxydationsprodukt des Aneurins isolieren, das der Aufarbeitung entsprechend mit 1 Mol. Aceton + 1 Mol. H_2O krystallisiert. In wasserfreiem Zustand zeigt es die Summenformel $C_{24}H_{34}O_4N_8S_2$, entsprechend dem zu erwartenden Disulfid:



Das Disulfid schmilzt bei 177° unter intensiver Gelbfärbung. Die Molekulargewichtsbestimmung nach der Methode von Rast in Campher ergibt nur das halbe Molekulargewicht. Die leuchtendgelbe Farbe der Campherschmelze deutet darauf hin, daß das Molekül Veränderungen, wahrscheinlich im Sinne einer Dissoziation erfährt, die vielleicht von Ringbildungen wie in II begleitet sind. Dissoziationen gewisser Disulfide zu freien Radikalen mit einwertigem Schwefel sind bekannt⁷⁾. Die Verwendung eines niedrig siedenden Lösungsmittels könnte diese Dissoziationserscheinung verhindern. Als niedrig siedendes Lösungsmittel kam nur Methanol in Betracht, mit dem aber in Anbetracht des relativ hohen Molekulargewichts des Disulfids einwandfreie Ergebnisse nicht zu erwarten waren und auch nicht erhalten wurden. Erst die Anwendung der von A. W. C. Menzies und S. L. Wright⁸⁾ beschriebenen Methode zur ebullioskopischen Molekulargewichtsbestimmung unter Verwendung eines Differentialthermometers gab annähernd das erwartete Molekulargewicht. Bei der Temperatur des siedenden Methanols war also die Dissoziation nur in geringem Maße oder gar nicht vorhanden.

Benzothiazoljodmethylat wird durch Jod in ganz analoger Weise oxydiert. Das erhaltene Disulfid zeigt aber nach der Methode von Rast ein normales Molekulargewicht.

Eigentümlich sind das Verhalten des Aneurinsulfids gegenüber Lösungsmitteln und die durch Aufnahme der Lösungsmittel bei der Krystallisation überraschend stark beeinflussten Löslichkeitseigenschaften. So ist das wasserfreie Oxydationsprodukt in kaltem Wasser nur sehr schwer löslich (etwa 5 mg je l), ferner sehr schwer löslich in Benzol, Aceton, Äthylalkohol und Äther. Enthält das Oxydationsprodukt jedoch Krystallaceton und Krystallwasser, so ist es spielend löslich (1:1 in warmem Wasser).

Das Disulfid bildet ein salzsaures Salz. Es wird durch Zinn-Salzsäure zu Aneurin reduziert. Durch Säure wird 2-Methyl-5-aminomethyl-6-amino-pyrimidin abgespalten. Beim Erhitzen mit hochsiedenden Lösungsmitteln tritt eine weitgehende Veränderung des Disulfids ein; aus den Erhitzungsprodukten läßt sich Thiochrom isolieren und ein Oxydationsprodukt $C_{12}H_{16}O_2N_4S$, das bei $233-234^{\circ}$ schmilzt. Von diesem Oxydationsprodukt wurde festgestellt, daß es physiologisch unwirksam ist, im übrigen

⁷⁾ A. Schönberg, E. Rupp u. W. Gumlich, B. **66**, 1932 [1933].

⁸⁾ Journ. Amer. chem. Soc. **43**, 2314 [1921].

Beim Trocknen im Vak. bei 78° verlor die Substanz 15.94 % H₂O⁹⁾.
 C₁₂H₁₆ON₄SNa + 3H₂O (340.2). Ber. C 42.33, H 6.22, N 16.47, Na 6.76, H₂O 15.88.
 Gef. „ 42.38, „ 6.32, „ 16.43, „ 6.75, „ 15.94.

Weißes Natriumsalz.

35 g Aneurin wurden in einer Reibschale mit 40 ccm Eiswasser verrieben; zu dieser Lösung wurde eine eiskalte Lösung von 12 g NaOH in 40 ccm Wasser zugefügt. Dann wurde allmählich mit Aceton versetzt. Das Natriumsalz schied sich dabei als Öl ab, das beim Kratzen der Gefäßwände allmählich krystallisierte. Nachdem 1 l Aceton hinzugefügt worden war, ließ man noch $\frac{1}{2}$ Stde. stehen. Die Krystallisation war dann beendet. Das Natriumsalz wurde abgesaugt und sofort in möglichst wenig absol. Alkohol gelöst (etwa 200 ccm). Die Lösung wurde zur Entfernung des ausgeschiedenen Natriumchlorids filtriert. Die klare, alkohol. Lösung erhielt einen Zusatz von 40 ccm Wasser. Dann wurde das Natriumsalz durch Hinzugabe von viel Äther (2 l) in Form einer konz. wäßrigen Lösung abgeschieden. Die alkohol.-ätherische überstehende Flüssigkeit wurde abgegossen und die dicke, wäßrige Lösung nach Verdünnung mit 10 ccm Wasser bis zur beginnenden Trübung mit Aceton versetzt. Nunmehr wurde nach Zugabe von Tierkohle filtriert und das klare, schwach gelbgefärbte Filtrat weiter mit Aceton verdünnt, bis nach Impfung mit einem Krystall des rohen Salzes Krystallisation eintrat. Das so erhaltene Natriumsalz war weiß. Durch Lösen in sehr wenig Wasser und Fällen mit Aceton wurde das Natriumsalz gereinigt und zur Analyse an der Luft getrocknet.

5.755 mg Sbst.: 8.260 mg CO₂, 3.220 mg H₂O. — 4.603 mg Sbst.: 0.588 ccm N (23°, 762 mm). — 0.2131 g Sbst.: 0.0429 g Na₂SO₄. — 6.470 mg Sbst.: 1.270 mg H₂O (110°, Vak.).
 C₁₂H₁₇O₂N₄SNa + 4H₂O (376). Ber. C 38.28, H 6.70, N 14.89, Na 6.12, H₂O 19.15.
 Gef. „ 39.14, „ 6.26, „ 14.77, „ 6.52, „ 19.63.

Eine Substanzprobe, die über Nacht im Vak. über CaCl₂ bei Zimmer-temperatur getrocknet war, ergab folgende Analysenzahlen:

C₁₂H₁₇O₄NSNa + 2H₂O (340.2).
 Ber. C 42.33, H 6.22, N 16.47, H₂O 10.56.
 Gef. „ 41.99, 41.65, „ 6.59, 6.35, „ 16.50, 16.19, „ 9.48.

Qualitative Reaktionen von Thiazoliumverbindungen.

Es wurden die folgenden Thiazoliumverbindungen auf ihr Verhalten gegen Nitroprussidnatrium geprüft. Zur Anwendung gelangten 1-proz. Lösungen, die mit dem gleichen Volumen 10-proz. Natronlauge versetzt waren. Die positive Reaktion bei den Präparaten 4 und 5 war wahrscheinlich auf eine geringe Abspaltung von Schwefelwasserstoff unter dem Einfluß des Alkalis zurückzuführen. Die Purpurfarbe verblaßte und verschwand nach etwa 1 Minute. Alle Nitroprussid-Reaktionen verliefen in der folgenden charakteristischen Weise: Die nach Zufügen von Nitroprussid erhaltene gelbe Lösung wurde beim Schütteln mit Luft grün. Bei ruhigem Stehenlassen verschwand nach einigen Minuten die grüne Färbung. Die Lösung wurde wieder gelb. Dieser Vorgang konnte einige Male wiederholt werden. Offenbar war in der Lösung ein reduzierender Bestandteil vorhanden, der Ferri-Eisen reduzierte. Durch das Schütteln mit Luft wurde das Ferro-Eisen wieder oxydiert. Die

⁹⁾ Für die Ausführung dieser Bestimmung sowie zahlreicher anderer Kontrollanalysen danken wir Hrn. Dr. Haymann.

	Verbindung	Farbe der verd. alkal. Lösg.	Nitroprussid- Reaktion d. alkal. Lösg.
1	Aneurin	gelb	negativ
2	Gelbes Na-Salz von Aneurin	gelb	negativ
3	Weißes Na-Salz von Aneurin	bläßgelb	negativ
4	4-Methyl-5- β -oxyäthyl-thiazol-jodmethylat	farblos	itweise schwach positiv
5	4-Methyl-5- β -oxyäthyl-thiazol-chlormethylat	farblos	zeitweise schwach positiv
6	4-Methyl-thiazol-jodäthylat	farblos	negativ
7	Benzothiazol-jodmethylat	farblos	negativ
8	Aneurin-Isomeres mit Methyl in 4-statt 2-Stellung am Pyrimidinkern	gelb	negativ

reduzierenden Eigenschaften der Lösung können den negativen Ausfall der Nitroprussid-Reaktion trotz der zweifellosen Anwesenheit von Sulfhydryl-Gruppen begründen.

Oxydationsprodukt des Aneurins.

70 g Aneurin wurden in 100 ccm Wasser eingetragen und mit einer Lösung von 24 g NaOH in 140 ccm Wasser versetzt. Zu dieser gelben Lösung ließ man langsam unter Rühren eine Jodlösung (10 g Jod, 7 g Jodkalium auf 100 ccm Wasser) zufließen. Das Jod wurde auch bei Eiskühlung augenblicklich verbraucht, bis 250 ccm dieser Jodlösung (= 1 Atom Jod) eingetragen waren. Die Lösung wurde im Vak. weitgehend eingengt. Der blaßgelbe, sirupöse, von Krystallen durchsetzte Rückstand wurde mit 200 ccm Butanol (40°) erwärmt. Die anorganischen Salze blieben ungelöst zurück. Das Filtrat wurde abermals im Vakuum zu einem dicken, lösungsmittelfreien Sirup eingedampft, der in 100 ccm Aceton aufgenommen wurde. Nach Abtrennung eines unlöslichen Rückstandes wurde mit 100 ccm Aceton verdünnt, wieder filtriert und dann mit weiteren Mengen Aceton auf 1.5 l verdünnt. Nach mehrtägigem Stehenlassen bei 0° kristallisierte das Oxydationsprodukt aus. Ausb. 41 g.

Reinigung durch Umkrystallisation aus Wasser-Aceton.

5 g des Rohproduktes wurden in 10 ccm Wasser gelöst und mit Tierkohle filtriert. Das Filtrat wurde mit 250 ccm Aceton verdünnt. Nach Impfen und Stehenlassen über Nacht kristallisierte das Oxydationsprodukt in großen Krystallen aus. Die lufttrockne Substanz wurde analysiert.

5.436, 6.292 mg Sbst.: 10.060, 11.685 mg CO₂, 3.190, 3.755 mg H₂O. — 5.438 mg Sbst.: 6.75 ccm n₁₀₀-HCl (Aufschluß nach Friedrich). — 5.167 mg Sbst.: 6.48 ccm n₁₀-HCl. — 0.4038 g Sbst.: 0.0387 g Aceton (die angesäuerte wäßrige Lösung wurde destilliert, das Aceton im Destillat jodometrisch bestimmt). — 0.6030 g Sbst.: Gewichtsabnahme bei 110°, 2 mm 0.0830 g. Dabei trat teilweise Zersetzung ein; nach Abzug des Acetons: 0.0283 g H₂O.



Ber. C 50.74, H 6.63, N 17.55, Aceton 9.08, H₂O 2.82.
Gef. „ 50.47, 50.65, „ 6.57, 6.68, „ 17.56, 17.57, „ 9.58, „ 4.70.

Wasserfreies Oxydationsprodukt.

3 g des Rohproduktes wurden in 3 ccm heißem Wasser gelöst. Nach Zugabe von 50 ccm Alkohol wurde filtriert und mit 200 ccm Äther verdünnt. Nach 2-tägigem Stehenlassen war die Krystallisation beendet. Die großen durchsichtigen Krystalle schmolzen bei 177°.

6.120 mg Sbst.: 11.530 mg CO₂, 3.430 mg H₂O. — 4.300 mg Sbst.: 6.13 ccm *n*₁₀₀-HCl (Aufschluß nach Friedrich). — 4.584 mg Sbst.: 3.992 mg BaSO₄.

C₂₄H₃₄O₄N₈S₂ (562.2). Ber. C 51.25, H 6.05, N 19.92, S 11.39.
Gef. „ 51.38, „ 6.27, „ 19.98, „ 11.96.

Molekulargewichtsbestimmung nach Rast:

1.920 mg Sbst. in 19.86 mg Campher (K = 36): Δ = 12.4°.
Ber. Mol.-Gew. 562. Gef. Mol.-Gew. 282.

Molekulargewichtsbestimmung nach Menzies-Wright:

1) 0.726 g Sbst. in 33.0 ccm Methanol (K = 11.8, 1 Mol/100 ccm): Δ = 0.0526°.
2) 0.636 g Sbst. (1 Stde. bei 100° im Vak. getrocknet) in 34.7 ccm Methanol: Δ = 0.0416°.

Ber. Mol.-Gew. 562. Gef. Mol.-Gew. 1) 495, 2) 520.

Die biologische Prüfung des wasserfreien Oxydationsproduktes durch subcutane Injektion an polyneuritischen Ratten hatte folgendes Ergebnis:

Dosis	Zahl der Ratten	geheilt	nicht gebessert
4.6 γ	5	0	5
6.1 γ	6	2	4
7.6 γ	8	8	0

Da 5γ Aneurin (entspr. etwa 4γ Oxydationsprodukt) ungefähr 7 von 10 Ratten in analoger Weise beeinflussen, so könnte man daraus auf eine etwas geringere Wirksamkeit als die des Aneurins schließen.

Krystallisation aus Butanol.

Beim Umkrystallisieren aus Butanol wurde das Oxydationsprodukt in feinen, farblosen Krystallen vom Schmp. 173° erhalten. Wegen des verhältnismäßig hohen Siedepunktes des Lösungsmittels kann man nur kleine Mengen des Oxydationsproduktes in dieser Weise umkrystallisieren, da auch schon in diesem Falle Thiochrom gebildet wird.

6.243 mg Sbst.: 12.090 mg CO₂, 3.935 mg H₂O. — 4.732 mg Sbst.: 5.89 ccm *n*₁₀₀-HCl (Aufschluß nach Friedrich). — 4.451 mg Sbst.: 3.270 mg BaSO₄.

C₂₄H₃₄O₄N₈S₂ + C₄H₉.OH (636.5). Ber. C 52.79, H 6.97, N 17.61, S 10.08.
Gef. „ 52.82, „ 7.05, „ 17.44, „ 10.09.

Hydrochlorid des Oxydationsproduktes.

5 g Rohprodukt wurden in 20 ccm absol. Alkohol gelöst und mit alkohol. Salzsäure angesäuert (kongosauer). Durch Fällen mit Äther wurde das salzsaure Salz abgeschieden und in 10 ccm 80-proz. Alkohol gelöst. Nach längerem Stehenlassen krystallisierte das Hydrochlorid aus. Es wurde aus sehr wenig Wasser, zu dem nach Lösung die 25-fache Menge Methanol zugesetzt wurde, umkrystallisiert. Schmp. 231°.

5.999 mg Sbst.: 9.951 mg CO₂, 3.300 mg H₂O. — 4.895 mg Sbst.: 2.209 mg AgCl. — 5.279 mg Sbst.: 3.900 mg BaSO₄. — 5.096 mg Sbst.: 6.27 ccm *n*₁₀₀-HCl (Aufschluß nach Friedrich).

C₂₄H₃₄O₄N₈S₂, 2HCl (635.4). Ber. C 45.33, H 5.71, N 17.64, S 10.09, Cl 11.16.
Gef. „ 45.08, „ 6.16, „ 17.24, „ 10.17, „ 11.16.

Reduktion des Oxydationsproduktes.

3 g des aus Butanol umkrystallisierten Rohproduktes wurden mit 30 ccm 10-proz. alkohol. Salzsäure und 1 g Zinnfolie 24 Stdn. bei Zimmertemperatur stehengelassen. Nach dem Verdünnen mit Wasser wurde das Zinn mit H₂S entfernt, das Filtrat zur Trockne eingedampft. Der Rückstand schmolz bei 245° und war mit Aneurin identisch.

Spaltung mit Säure.

3 g des Rohproduktes wurden 1/2 Stde. auf dem Dampfbad mit 5 ccm Wasser + 40 ccm 2-*n*. alkohol. Salzsäure unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Beim Erkalten schieden sich Krystalle ab, die durch Lösen in Methanol und Fällen mit Äther gereinigt wurden; Schmp. 258°, Misch-Schmp. mit 2-Methyl-5-aminomethyl-6-amino-pyrimidin (2HCl) 258°.

6.878 mg Sbst.: 9.270 mg AgCl.

C₆H₁₀N₄, 2HCl (211.0). Ber. HCl 34.57. Gef. HCl 34.29.

Alkalisplaltung des Oxydationsproduktes.

10 g des Rohproduktes wurden mit 50 ccm Alkohol auf dem Dampfbad zum Sieden erhitzt und 2-proz. Natriumäthylatlösg. in Alkohol so lange eingetragen, bis die Lösung gegen Phenolphthalein alkalische Reaktion zeigte. Nach dem Abkühlen wurde mit alkohol. Salzsäure angesäuert; dabei entwickelte sich Schwefelwasserstoff. Die auskrystallisierte Substanz erwies sich nach wiederholtem Umkrystallisieren aus 96-proz. Alkohol nach Mischschmelzpunkt und Analyse als identisch mit Aneurin.

Umwandlung des Oxydationsproduktes durch Erhitzen.

20 g wasserfreies Oxydationsprodukt wurden 5 Min. mit 20 ccm Äthylenglykol unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Beim Erkalten schieden sich feine, farblose Krystalle ab (3.5 g). Sehr schwer löslich in Wasser. Aus Wasser umkrystallisiert Schmp. 233—234°.

5.557, 6.140 mg Sbst.: 10.510, 11.580 mg CO₂, 2.835, 3.175 mg H₂O. — 5.521 mg Sbst.: 4.622 mg BaSO₄. — 4.640 mg Sbst.: 6.67 ccm *n*₁₀₀-HCl (Aufschluß nach Friedrich). — 1.822 mg Sbst. in 40.1 mg Campher (K = 36): Δ = 6.3°.

C₁₂H₁₆O₂N₄S (280.2).

Ber. C 51.39, H 5.76, N 20.00, S 11.44, Mol.-Gew. 280.2.

Gef. „ 51.58, 51.44, „ 5.71, 5.79, „ 20.11, „ 11.50, „ 260.

Die intensiv gefärbten Äthylenglykol-Mutterlaugen wurden im Vak. zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde mit heißem Chloroform aufgenommen. Es schieden sich 1.5 g einer intensiv gelbgefärbten Substanz ab, die sich nach dem Umkrystallisieren aus wenig Wasser als mit Thiochrom identisch erwiesen.