

Die filtrierte Flüssigkeit trübte sich auch beim Erkalten nicht. Es wurden daher 120 cm³ Wasser hinzugegeben und die Lösung im Vakuum eingengt. Nachdem der grösste Anteil des Pyridins abdestilliert war, fiel die Substanz krystallin aus. Sie wurde abgenußt, mit Essigsäure, Aceton und Petroläther gewaschen. Ausbeute 0,1 g.

Die Iso-alloxazin-9-propionsäure ist in den meisten gebräuchlichen Lösungsmitteln, mit Ausnahme von Alkalien, äusserst schwer löslich.

C ₁₃ H ₁₀ O ₄ N ₄	Ber. C 54,52	H 3,52	N 19,59%
	Gef. .. 53,82	.. 3,53	.. 19,76%

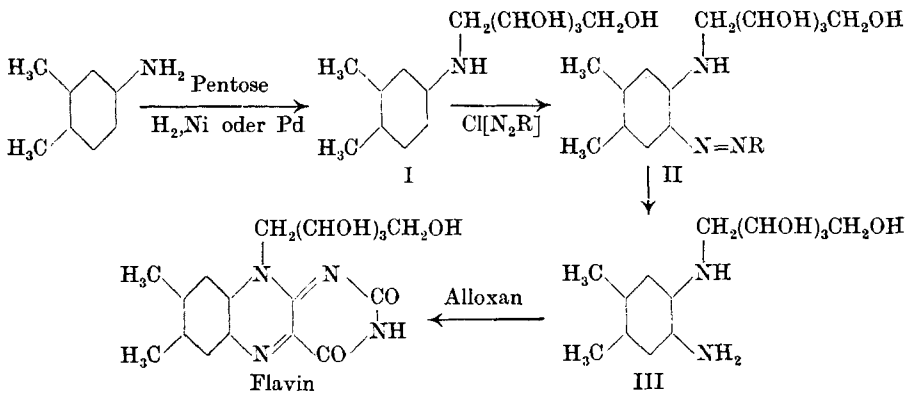
Zürich, Chemisches Institut der Universität.

36. Eine verbesserte Synthese des Lactoflavins und 6,7-Dimethyl-9-[1'-arabityl]-iso-alloxazins

von P. Karrer und Hans F. Meerwein.

(13. II. 36.)

In einer früheren Arbeit¹⁾ berichteten wir über eine Synthese des Lactoflavins und 6,7-Dimethyl-9-[1',1'-arabityl]-iso-alloxazins, in welcher Azofarbstoffe der Formel II als Zwischenprodukte auftraten:



Bei jenen ersten Versuchen waren die Flavinausbeuten noch unbefriedigend gewesen. Inzwischen ist es uns gelungen, die Methode so zu verbessern, dass sie zu der besten und ausgiebigsten Lactoflavinsynthese geworden ist.

Die Abweichungen von der ursprünglichen Arbeitsweise sind nicht gross. Es erwies sich zweckmässig, zur Darstellung des Azo-

¹⁾ P. Karrer und Hans F. Meerwein, Helv. **18**, 1130 (1935).

farbstoffes II Benzol-diazoniumsalz statt des früher benützten p-Nitrophenyl-diazoniumsalzes zu gebrauchen; ferner führen wir die Reduktion des Azofarbstoffes zum Diamin III jetzt mit Natriumhyposulfit $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ aus. Bei der Kondensation des Diamins mit Alloxan zum Flavin wird die Ausbeute an letzterem durch den von *R. Kuhn* und *F. Weygand*¹⁾ vorgeschlagenen Borsäurezusatz gegenüber Borsäure-freien Ansätzen etwa verdoppelt. Alle anderen Einzelheiten der Synthese ergeben sich aus dem experimentellen Teil dieser Abhandlung.

Aus einer gegebenen Menge *d*-Ribose gelingt es nach unserer neuen Methode, fast dieselbe Gewichtsmenge Lactoflavin zu erhalten; auf angewandten Zucker berechnet ist die Ausbeute etwa 38% (mit Borsäurezusatz, anderenfalls ungefähr die Hälfte). Demgegenüber erlaubte unsere frühere Darstellungsweise²⁾, die sich des 4,5-Dimethyl-2-carbäthoxyamino-phenyl-*d*-ribamins als Zwischenprodukt bediente, nur eine 14—15-proz. Ausnützung der *d*-Ribose (mit Borsäure), und die Methode von *R. Kuhn*, *Reinemund*, *Weygand* und *Ströbele*³⁾, bei welcher *d*-Ribamin mit 1,2-Dimethyl-4,5-dinitrobenzol zum 1,2-Dimethyl-4-nitro-5-[*d*,1'-ribitylamino]-benzol umgesetzt wird, konnte sogar nur 4,5% der als Ausgangsmaterial dienenden *d*-Ribose in Flavin verwandeln (ebenfalls unter Borsäurezusatz). Da die *d*-Ribose die schwerst zugängliche Komponente bei der künstlichen Lactoflavinsynthese ist, so geht aus diesen Zahlen die Überlegenheit der neuen, modifizierten Flavinsynthese hervor.

Bei der Darstellung des 6,7-Dimethyl-9-[*l*,1'-arabityl]-iso-alloxazins und des entsprechenden, den *d*-Arabinoserest enthaltenden Flavins sind die Ausbeuten ähnlich gut, wenn man die Azofarbstoffe als Zwischenprodukte verwendet.

In unserer früheren Mitteilung⁴⁾ haben wir die Frage offen gelassen, ob die Kupplungsprodukte aus 3,4-Dimethyl-phenyl-*d*-ribamin usw. und Diazoniumsalzen einheitlich sind, d. h. nur die Farbstoffe der Formel II enthalten oder ob ein Gemisch stellungs-isomerer Azofarbstoffe vorliegt. Nachdem sich nun gezeigt hat, dass sie in solch vorzüglichen Ausbeuten in 6,7-Dimethyl-9-[*d*,1'-ribityl]-iso-alloxazin, 6,7-Dimethyl-9-[*l*,1'-arabityl]-iso-alloxazin usw. überführbar sind, ist an ihrer Einheitlichkeit kaum zu zweifeln.

In der Zwischenzeit haben wir das Verhalten des Phenyl-glucamins und seiner im Benzolkern substituierten Derivate gegenüber Diazoniumsalzen eingehender verfolgt. *A. Seebach* hat dabei unter anderem festgestellt, dass Phenyl-glucamin mit Diazoniumsalzen leicht in *p*-Stellung zu Azofarbstoffen der Formel IV kuppelt, wäh-

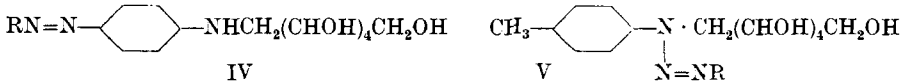
¹⁾ B. 68, 1282 (1935).

²⁾ Helv. 18, 1435 und zwar S. 1447 (1935).

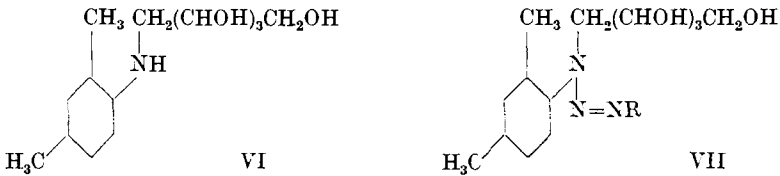
³⁾ B. 68, 1770 (1935).

⁴⁾ Helv. 18, 1130 (1935).

rend [4-Methyl-phenyl]-glucamin, wie wir bereits früher hervorhoben¹⁾, keine Kupplung in ortho-Stellung zur basischen Seitenkette aufweist; es bildet sich in letzterem Fall der Diazoamidokörper V



Ferner hat *F. M. Strong* gefunden, dass sich auch [2,4-Dimethyl-phenyl]-arabamin (VI) mit Diazoniumsalzen nicht zu Azofarbstoffen, sondern zu Diazoamidoverbindungen (VII) umsetzt.

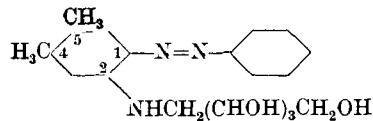


Demnach kann unsere neue Flavinsynthese nur zur Gewinnung solcher Flavine dienen, bei deren Synthese man von 3,4-Dialkylanilinen ausgeht, und die demnach in 6,7-Stellung ihrer Molekel zwei Alkylreste enthalten²⁾. Sie ist also nicht so allgemeiner Natur, nicht so variationsfähig wie die früher benutzte, welche die Monocarbäthoxyderivate aromatischer Diamine verwendete. Für die Synthese des Lactoflavins selbst und diejenige analoger Flavine mit anderen Zuckerresten stellt sie aber einen wesentlichen Fortschritt dar.

Der Jubiläumsspende für die Universität Zürich, welche unsere Untersuchungen unterstützte, sprechen wir unseren verbindlichsten Dank aus.

Experimenteller Teil.

Herstellung von Lactoflavin über 2-[d-Ribitylamino]-4,5-dimethylazobenzol.



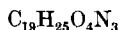
Die erste Reaktionsstufe besteht in der reduzierenden Kondensation von *d*-Ribose mit 3,4-Dimethylanilin zum 3,4-Dimethylphenyl-*d*-ribamin. 2 g *d*-Ribose und 1,6 g 3,4-Dimethylanilin werden in absolutem Methanol 3 Stunden erhitzt; hierauf bringt man die Lösung in den Autoklaven und reduziert bei 80—100° und 25 Atm.

¹⁾ Helv. 18, 1131 (1935).

²⁾ Ob an Stelle von Alkylresten auch andere Substituenten wie OCH₃, Cl usw. einen analogen dirigierenden Einfluss ausüben, wurde noch nicht untersucht.

Wasserstoffdruck während 4 Stunden. Die Aufarbeitung der Reaktionsflüssigkeit ergibt 2,5 g 3,4-Dimethylphenyl-ribamin entsprechend 71 % der Theorie.

Zwecks Kupplung des 3,4-Dimethylphenyl-ribamins mit der Diazoniumsalzlösung löst man 2,5 g der erstgenannten Substanz unter schwachem Erwärmen in 250 cm³ Wasser, gibt einige Tropfen Essigsäure hinzu, kühlt die Lösung wieder auf Zimmertemperatur ab und versetzt sie mit einer solchen von Phenyl-diazoniumsulfat und zwar in solcher Menge, dass ein Überschuss von ca. 10 % Diazoniumsalz besteht. Die Flüssigkeit färbt sich tief rot. Nach einer Viertelstunde setzt man tropfenweise 2-n. Natronlauge hinzu, bis eben einige Flocken auszufallen beginnen. In diesem Zustande wird die Lösung 20 Stunden stehen gelassen. Während dieser Zeit bildet sich ein dunkelroter, krystalliner Niederschlag des Azofarbstoffs, den man abnutscht und zwecks Entfernung von Verunreinigungen mit 50-proz. Alkohol auf der Nutsche nachwäscht. Das 2-[*d*-Ribitylamino]-4,5-dimethyl-azobenzol lässt sich aus heissem Alkohol umkrystallisieren. Die Rohausbeute an Farbstoff beträgt 3,0 g. Aus der Mutterlauge lassen sich durch weiteres Abstumpfen der Mineralsäure mit Natriumhydroxyd, wobei aber die Reaktion der Lösung noch lakmussauer bleiben muss, noch weitere 0,25 g des Azofarbstoffs erhalten. Somit ergibt sich eine Totalausbeute von 3,25 g oder 91 % der Theorie. Aus verdünntem Alkohol in zu Drusen gruppierten Nadeln.



Ber. N 11,70

Gef. N 11,76%

Die Reduktion des Azofarbstoffs zum Diamin wird am zweckmässigsten mit Natriumhyposulfit Na₂S₂O₄ unternommen. Wir lösen z. B. 3,25 g der Verbindung in 250 cm³ reinem Alkohol in der Hitze auf. Zu der kochenden Lösung setzt man 50—75 cm³ Wasser und reduziert hierauf durch Zugabe einer kalt gesättigten Natriumhyposulfitlösung. Von der letzteren wird so viel zugesetzt, bis die rotorange Farbe der Flüssigkeit nach hell goldgelb umgeschlagen hat. Nun setzt man zur abgekühlten Lösung tropfenweise so viel konz. Salzsäure, dass die Reaktion kongosauer wird und verdampft hierauf das Lösungsmittel im Vakuum, wobei sich Anilinchlorhydrat krystallin ausscheidet. Durch Erwärmen des Trockenrückstandes mit 150 cm³ Eisessig, dem 2,5 g Natriumacetat zugesetzt wurden, bringt man das gebildete 1-Amino-2-*d*-ribitylamino-4,5-dimethylbenzol in Lösung. Gleichzeitig bereitet man sich eine Lösung von 3,75 g Alloxantetrahydrat und 3,5 g Borsäure in 75 cm³ Eisessig und giesst diese Flüssigkeit, in der noch gewisse Mengen Alloxan und Borsäure ungelöst sind, zur Eisessiglösung des Diamins. Nun erhitzt man die Flüssigkeit während einer Viertelstunde auf dem

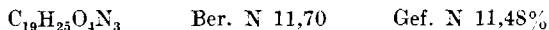
Wasserbad, wobei es zweckmässig ist, zur Erleichterung der vollständigen Auflösung noch etwas Eisessig (ca. 100 cm³) hinzuzufügen.

Hierauf wird die dunkel orangegefärbte Flüssigkeit mit Wasser auf 7,5 Liter verdünnt, wobei oft eine Trübung auftritt. Ohne dass man diese entfernt, werden jetzt 200 g Frankonit eingerührt und die Masse 1 Stunde turbiniert. Hierauf nutsch man den Frankonitniederschlag ab, eluiert ihn mehrmals mit Pyridin-Alkohol-Wasser-Gemisch und dampft die vereinigten Eluate im Vakuum zur Trockene ein. Dabei hinterbleibt ein gelber krystalliner Rückstand. Nach dem Anreiben mit kaltem Wasser wird dieser abgenutscht und hierauf aus kochendem Wasser umkrystallisiert. So können direkt 1,25 g krystallisiertes Lactoflavin vom Smp. 278^o erhalten werden.

Die in der Mutterlauge der Frankoniteluate noch enthaltene Flavinmenge wird am besten durch zweimalige Adsorption an Bleisulfid konzentriert und gereinigt. So liessen sich noch weitere 0,82 g an Flavin gewinnen. Die Totalausbeute an Lactoflavin entspricht daher 2,05 g. Schmelzpunkt nach einmaligem Umkrystallisieren 282^o (unkorr.).

6,7-Dimethyl-9-[d, 1'-arabityl]-iso-alloxazin.

2-[d-Arabitylamino]-4,5-dimethyl-azobenzol wurde in analoger Weise wie das entsprechende Ribosederivat aus 3,4-Dimethyl-phenyl-d-arabamin und diazotiertem Anilin erhalten. Der Farbstoff krystallisiert aus Alkohol in breiten Nadeln und zersetzt sich um 200^o.



0,5 g dieses orangefarbenen Azofarbstoffs wurden in 100 cm³ reinem Alkohol in der Hitze gelöst. Dazu setzte man 20 cm³ Wasser und hierauf soviel von einer wässerigen, konzentrierten Natriumhyposulfidlösung, bis Entfärbung eingetreten war. Dann machte man durch vorsichtigen Zusatz von konz. Salzsäure die Lösung eben kongosauer und dampfte sie im Vakuum zur Trockne ein.

Der Rückstand wurde mit 20 cm³ warmem Eisessig nach Zusatz von 0,5 g Natriumacetat digeriert, wobei das 1-Amino-2-d-arabitylamino-4,5-dimethylbenzol in Lösung ging. Nach Zusatz einer Suspension von 0,5 g Borsäure und 0,5 g Alloxan in 10 cm³ Eisessig erwärmten wir die Flüssigkeit während 10 Minuten auf dem siedenden Wasserbad, wobei sie sich tief gelbbraun färbte und starke Fluorescenz annahm. Nach 2-stündigem Stehen wurde die Lösung mit Wasser verdünnt und der gebildete Flavinfarbstoff an 30 g Frankonit adsorbiert. Nach der Elution mit dem Pyridin-Alkohol-Wasser-Gemisch wurde eine zweite Reinigung des Flavins durch Adsorption an Bleisulfid in bekannter Weise vorgenommen. Die Eluate ergaben nach dem Eindampfen auf ein kleines Volumen

0,3 g 6,7-Dimethyl-9-[*d*-arabityl]-iso-alloxazin, welches im Rohzustand bei 285° (unkorr.), nach nochmaligem Umkrystallisieren bei 294° (unkorr.) schmolz.

Einwirkung von Phenyl-diazoniumchlorid auf N-p-Tolyl-glucamin.

(Bearbeitet von A. Seebach.)

Das N-p-Tolyl-glucamin entsteht in gewohnter Weise durch Reduktion der aus p-Toluidin und Glucose dargestellten Schiff'schen Base mit Wasserstoff und Nickel im Autoklaven. Die Verbindung wurde schon kürzlich erwähnt¹⁾. Infolge eines Versehens ist der dort genannte Schmelzpunkt unrichtig angegeben worden. N-p-Tolyl-*d*-glucamin $\text{CH}_3 \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2(\text{CHOH})_4\text{CH}_2\text{OH}$ schmilzt nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Alkohol bei 139,5°.

$\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{O}_5\text{N}$	Ber. C 57,56	H 7,81	N 5,17%
	Gef. „ 57,59	„ 7,80	„ 5,33%

Wenn man 1 g des N-p-Tolyl-*d*-glucamins in 20 cm³ Wasser löst und mit etwas mehr als der berechneten Menge Phenyl-diazoniumsalzlösung versetzt, so beginnt die Flüssigkeit nach einiger Zeit sich langsam rot zu färben. Sie wird über Nacht stehen gelassen und die überschüssige Säure hierauf durch Zugabe von Natriumacetat abgestumpft. Dabei fällt ein krystalliner Brei aus, der abgutscht und unter Zusatz von 2 Tropfen Essigsäure und etwas Tierkohle aus Alkohol umkrystallisiert wird. Das Umsetzungsprodukt ist eine krystalline, hell bräunlichgelbe Substanz, die sich bei etwa 146° zersetzt. Ausbeute fast quantitativ.

$\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{O}_5\text{N}_3$	Ber. C 60,80	H 6,67	N 11,20%
	Gef. „ 60,67	„ 6,54	„ 11,52%

Die Analyse stimmt also mit den Werten überein, die sich für ein Kupplungsprodukt aus N-p-Tolyl-*d*-glucamin und Phenyl-diazoniumsalz berechnen. Die Eigenschaften der Verbindung zeigen, dass es sich nicht um einen Azofarbstoff, sondern um eine Diazoaminoverbindung handelt. Dafür spricht insbesondere neben der hellen Farbe der Umstand, dass sich die Substanz nicht zu einem Diaminoderivat des Toluols reduzieren lässt; alle diesbezüglichen Versuche haben ein negatives Resultat ergeben.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

¹⁾ Helv. **18**, 1339 (1935).