

**63. Synthese des Lactoflavins (Vitamin B<sub>2</sub>) und anderer Flavine**  
von H. v. Euler, P. Karrer, M. Malmberg, K. Schöpp, F. Benz, B. Becker und P. Frei.  
(26. III. 35.)

Die in unserer letzten Abhandlung<sup>1)</sup> ausgesprochene Auffassung, dass das von uns synthetisierte 6,7-Dimethyl-9-[d,1'-ribityl]-iso-alloxazin mit Lactoflavin bzw. dessen Hauptanteil wahrscheinlich identisch ist, hat sich durch die weitere chemisch-physikalische und biologische Untersuchung bestätigt. Durch wiederholtes Umkrystallisieren des synthetischen Präparates konnten die geringfügigen Schmelzpunktsdifferenzen von 1 bis 2°, die früher noch bestanden hatten, behoben werden, und die ausgezeichnete Wirksamkeit des 6,7-Dimethyl-9-[d,1'-ribityl]-iso-alloxazins als B<sub>2</sub>-Präparat stimmt mit derjenigen des schwer löslichen Lactoflavin-Hauptanteils ebenfalls überein.

Der Schmelzpunkt mehrfach umkrystallisierter Lactoflavinpräparate liegt bei ca. 282°<sup>2)</sup> (unkorr.). Durch Umkrystallisieren grosser Lactoflavinmengen ist es uns allerdings seinerzeit gelungen, eine kleine Spitzenfraktion abzutrennen, die gegen 285—286° schmolz; um diesen hohen Schmelzpunkt zu erreichen, muss aber viel Material sehr häufig fraktioniert werden. Unser bestes synthetisches, über das Acetat gereinigte 6,7-Dimethyl-9-[d,1'-ribityl]-iso-alloxazin (Krystalldrüsen, Fig. 1) schmilzt ebenfalls bei 282° und der Mischschmelzpunkt mit Lactoflavin zeigt keine Depression.



Fig. 1.

6,7-Dimethyl-9-[d,1'-ribityl]-iso-alloxazin.  
(Synthet. Lactoflavin).



Fig. 2.

Tetra-acetat des 6,7-Dimethyl-9-[d,1'-ribityl]-iso-alloxazins. (Tetra-acetat des synthet. Lactoflavins).

<sup>1)</sup> P. Karrer, K. Schöpp, F. Benz, *Helv.* **18**, 426 (1935).

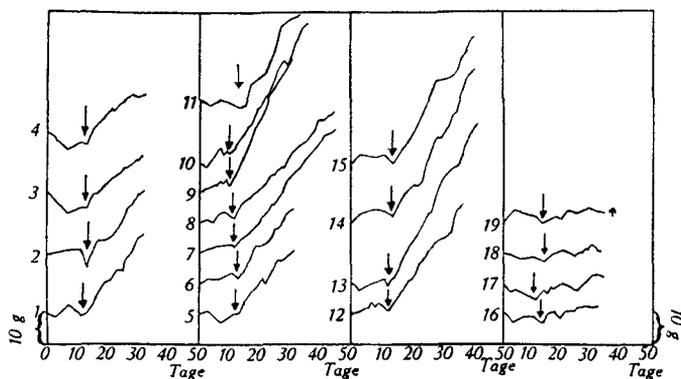
<sup>2)</sup> Wie schon mehrfach bemerkt worden ist, hängt die Höhe des Schmelzpunktes auch etwas von der Schnelligkeit des Erhitzens ab.

Das Tetra-acetat der synthetischen Verbindung krystallisiert aus Wasser in langen, orange-gelben Nadeln (Fig. 2), die nach mehrfachem Umkrystallisieren bei 238—239° (unkorr.) schmolzen; der Mischschmelzpunkt mit dem gleich hoch schmelzenden Lactoflavin-acetat liegt gleich hoch.

Auf die gleichen spezifischen Drehungen von 6,7-Dimethyl-9-[d,1'-ribityl]-iso-alloxazin und Lactoflavin wurde schon früher hingewiesen<sup>1)</sup>.

Die im Stockholmer Institut durchgeführte Prüfung des synthetischen 6,7-Dimethyl-9-[d,1'-ribityl]-isoalloxazins auf B<sub>2</sub>-Wirkung führte zu dem Ergebnis, dass dem Präparat eine ausgezeichnete B<sub>2</sub>-Aktivität zukommt. Bei Tagesdosen von 10  $\gamma$  zeigten acht Versuchstiere in vier Wochen einen täglichen Zuwachs von durchschnittlich 1,2 g. Dieselbe starke Wirkung von 1,2 g Tageszuwachs wird aber auch schon mit 5  $\gamma$ -Tagesdosen des 6,7-Dimethyl-9-[d,1'-ribityl]-iso-alloxazins erzielt. 3  $\gamma$  Tagesdosen bewirken 0,9 g Tageszuwachs. Die Wirkung entspricht somit derjenigen guter Lactoflavinpräparate. Tierversuche mit weiter reduzierten Tagesdosen an Flavin sind im Gang.

*Wachstumskurven bei Verabfolgung von 6,7-Dimethyl-9-[d,1'-ribityl]-iso-alloxazin als B<sub>2</sub>-Präparat.*



Versuchstiere 1—4: Versuchstiere 5—11: Versuchstiere 12—15: Versuchstiere 16—19:  
 5  $\gamma$  „Riboflavin“    10  $\gamma$  „Riboflavin“    20  $\gamma$  „Riboflavin“    Kontrolltiere: Flavin-  
 freier Hefekochsaft.

Die Tierversuche wurden mit derselben Methodik ausgeführt, die wir in Helv. 17, 1157 (1934) beschrieben haben.

Besondere Beachtung verdienen die Kontrollversuche (letzte Spalte in der Kurventafel), welche zeigen, dass die Grundkost und der Hefekochsaft völlig frei an B<sub>2</sub>-Wirkung waren.

<sup>1)</sup> P. Karrer, K. Schöpp, F. Benz, Helv. 18, 426 (1935).

Im Gegensatz hierzu erwiesen sich andere von uns geprüfte synthetische Flavine biologisch unwirksam oder hatten geringen Einfluss; in einem Fall, dem 6,7-Dimethyl-9-[1,1'-arabityl]-iso-alloxazin, macht sich zu Beginn der Tierversuche eine stimulierende Wirkung geltend.

Der genaue Vergleich des synthetischen 6,7-Dimethyl-9-[d,1'-ribityl]-iso-alloxazins mit Lactoflavin erlaubt nunmehr, auch bezüglich der Einheitlichkeit des Naturproduktes ein bestimmteres Urteil. Wir hatten früher mitgeteilt<sup>1)</sup>, dass es durch sehr oft wiederholte fraktionierte Krystallisation von ca. 12 g Lactoflavin gelungen war, eine schwer lösliche und eine leichter lösliche Spitzenfraktion abzutrennen, die sich in der spezifischen Drehung und in der biologischen Wirksamkeit deutlich unterschieden, bei der Analyse aber keine Differenzen erkennen liessen. Auch aus Ovocoflavin hatte man früher gelegentlich aktivere und weniger aktive Fraktionen erhalten<sup>2)</sup>. Es scheint jetzt, dass diese weniger aktiven Produkte offenbar mengenmässig nur einen kleinen Bestandteil des natürlichen Lactoflavins ausmachen, d. h. als eine Verunreinigung aufzufassen sind. Ob es sich um ein anderes Flavin oder um ein Abbauprodukt bzw. Umwandlungsprodukt des Lactoflavins handelt, ist bisher nicht zu entscheiden. In den oft umkrystallisierten, schwer löslichen Lactoflavinpräparaten, die mit dem synthetischen 6,7-Dimethyl-9-[d,1'-ribityl]-iso-alloxazin in allen Eigenschaften übereinstimmen, dürfte jene Beimengung in nennenswerten Mengen kaum noch vorkommen.

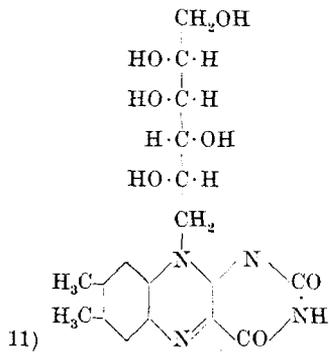
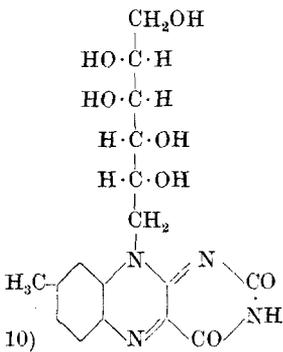
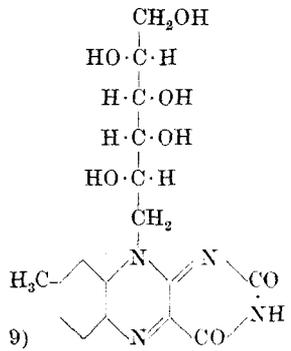
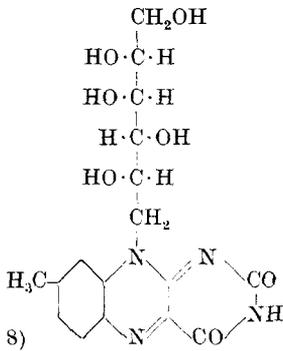
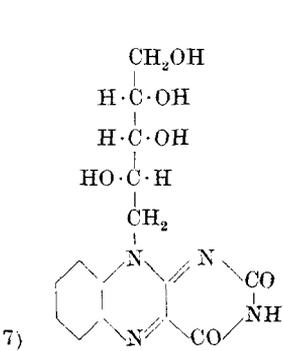
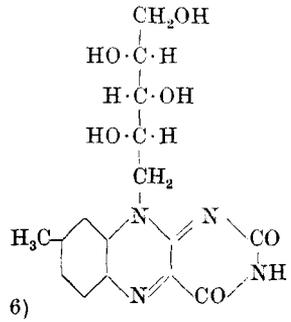
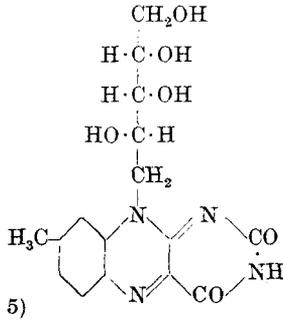
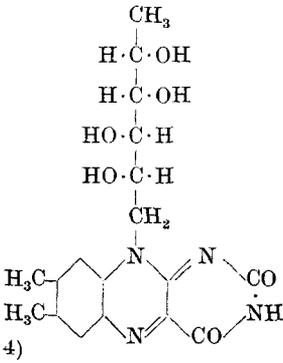
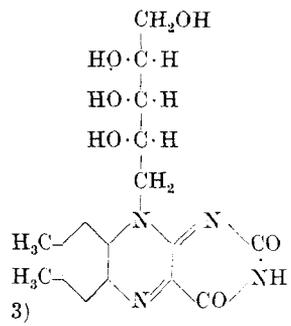
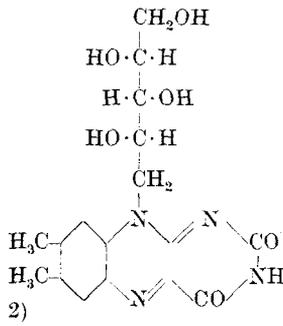
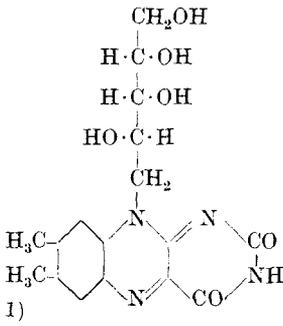
Die vollständige Übereinstimmung der chemisch-physikalischen Eigenschaften von Lactoflavin und 6,7-Dimethyl-9-[d,1'-ribityl]-iso-alloxazin und die gleichartige biologische Wirkung der beiden Verbindungen, die in der gleichartigen Gewichtszunahme und in der normalen Entwicklung der Versuchstiere zum Ausdruck kommen, zeigen die Identität der beiden Substanzen; damit soll indessen nichts über die Bedeutung des Lactoflavins und des synthetischen Flavins für die Antipellagra Wirkung ausgesagt werden, die noch eines eingehenderen Studiums bedarf. Wir möchten Lactoflavin und das mit ihm identische synthetisierte Produkt bis auf weiteres lediglich als Zuwachsfaktor (Vitamin B<sub>2</sub>) ansprechen und seine Beziehung zum Antipellagrafaktor offen lassen.

Im folgenden geben wir eine Übersicht über die bisher synthetisierten Flavine mit Zuckerresten; einige dieser Verbindungen haben wir bereits früher eingehend beschrieben<sup>3)</sup>, für die anderen finden sich genaue Angaben über ihre Darstellung und ihre Eigenschaften im experimentellen Teil dieser Abhandlung:

<sup>1)</sup> Helv. **18**, 19 (1935).

<sup>2)</sup> R. Kuhn, Z. angew. Ch. **47**, 105 (1934); György, Kuhn, Wagner-Jauregg, Z. physiol. Ch. **223**, 241 (1934).

<sup>3)</sup> Helv. **18**, 69, 426 (1935).



Art des synthetisierten Flavins <sup>1)</sup>	Krystallform	Smp.	[ $\alpha$ ] (in 0,05-n. NaOH)	Smp. der Tetra- bzw. Penta-acetate
A. Flavine mit Pentose- und Methylpentose-Resten.				
1. 6, 7-Dimethyl-9-[1,1'-arabityl]-isalloxazin . . . . .	Nadelbüschel	298 <sup>o</sup>	[ $\alpha$ ] <sub>D</sub> . . . . . - 78 <sup>o</sup> ( $\pm$ 10 <sup>o</sup> )	215 <sup>o</sup>
2. 6, 7-Dimethyl-9-[d,1'-xylyl]-isalloxazin . . . . .	Nadelbüschel	278—280 <sup>o</sup>	[ $\alpha$ ] <sub>D</sub> . . . . . - 82,2 <sup>o</sup> ( $\pm$ 7 <sup>o</sup> )	216 <sup>o</sup>
3. 6, 7-Dimethyl-9-[d,1'-ribityl]-isalloxazin . . . . .	Nadelbüschel	282 <sup>o</sup>	[ $\alpha$ ] <sub>D</sub> . . . . . - 92,6 <sup>o</sup> ( $\pm$ 7 <sup>o</sup> )	238—239 <sup>o</sup>
4. 6, 7-Dimethyl-9-[1,1'-rhamnityl]-isalloxazin . . . . .	Spindelförmige Nadeln	269—270 <sup>o</sup>	[ $\alpha$ ] <sub>D</sub> . . . . . - 51,9 <sup>o</sup> ( $\pm$ 6 <sup>o</sup> )	224 <sup>o</sup>
5. 7-Methyl-9-[1,1'-arabityl]-isalloxazin . . . . .	Breite Nadeln	284—285 <sup>o</sup>	[ $\alpha$ ] <sub>644</sub> . . . . . - 46,3 <sup>o</sup> ( $\pm$ 6 <sup>o</sup> )	—
6. 7-Methyl-9-[d,1'-xylyl]-isalloxazin . . . . .	Dünne Nadeln	270 <sup>o</sup>	[ $\alpha$ ] <sub>D</sub> . . . . . - 61,0 <sup>o</sup> ( $\pm$ 6 <sup>o</sup> )	—
7. 9-[1,1'-Arabityl]-isalloxazin . . . . .	Drusenförmige Krystalle	292 <sup>o</sup>	[ $\alpha$ ] <sub>D</sub> . . . . . - 108 <sup>o</sup> ( $\pm$ 10 <sup>o</sup> )	—
B. Flavine mit Hexoseresten.				
8. 7-Methyl-9-[d,1'-sorbityl]-isalloxazin . . . . .	Drusen	2) <sup>o</sup>	[ $\alpha$ ] <sub>D</sub> . . . . . - 58,4 <sup>o</sup> ( $\pm$ 6 <sup>o</sup> )	2) <sup>o</sup>
9. 7-Methyl-9-[d,1'-dulcilyl]-isalloxazin . . . . .	Krystallrusen	239 <sup>o</sup>	[ $\alpha$ ] <sub>644</sub> . . . . . - 30,6 <sup>o</sup> ( $\pm$ 6 <sup>o</sup> )	222 <sup>o</sup>
10. 7-Methyl-9-[d,1'-mannityl]-isalloxazin . . . . .	Nadeln	272 <sup>o</sup>	Drehung nicht messbar	199 <sup>o</sup>
11. 6, 7-Dimethyl-9-[d,1'-sorbityl]-isalloxazin . . . . .	Nadeln	272 <sup>o</sup>	[ $\alpha$ ] <sub>D</sub> . . . . . - 47,7 <sup>o</sup> ( $\pm$ 4 <sup>o</sup> )	237 <sup>o</sup>

<sup>1)</sup> Die zugehörigen Konfigurationsformeln finden sich unter den Nummern I—II auf der vorhergehenden Tafel.

<sup>2)</sup> Dieses Flavins ist besonders schwierig zu reinigen, so dass wir seinen Schmelzpunkt sowie denjenigen des Acetats noch nicht als definitiv angeben möchten.

Anmerkung bei Korrektur: Inzwischen wurde auch das 6, 7-Dimethyl-9-[1,1'-ribityl]-isoalloxazin, d. h. der Antipode des Lactoflavins, synthetisiert, dessen physikalische Eigenschaften mit Ausnahme der entgegengesetzten Drehung dem Naturprodukt entsprechen.

Ein Vergleich der physikalischen Eigenschaften der zusammengestellten Flavine lehrt, dass diese in unerwartet geringem Mass von der Art des Zuckerrestes abhängen. Dies gilt insbesondere für die spezifischen Drehungen, die trotz der verschiedenartigen Rotationen der benutzten Zucker, z. T. sehr nahe beisammen liegen. Auch die Schmelzpunktdifferenzen der synthetisierten Farbstoffe sind teilweise auffallend gering. Unser früher ausgesprochener Verdacht<sup>1)</sup>, dass die Bestimmung der spez. Drehungen und der Schmelzpunkte zur Entscheidung der Frage, ob ein natürliches Flavin einheitlich ist, nicht zuverlässig genug sein könnte, findet sich gerechtfertigt.

Die Flavine mit Pentoseresten lösen sich in Wasser durchgehend schwerer als die mit Hexosegruppen, eine Folge der verschiedenen Zahl der Hydroxyle. Hand in Hand damit geht ein besseres Krystallisationsvermögen der Pentose-flavine; die Pigmente mit Hexitresten neigen zur Bildung übersättigter und gelatinierender Lösungen; immerhin gelingt es nicht allzu schwer, auch sie krystallisiert zu erhalten.

Der Lichtabbau der neuen Flavine ist noch nicht genauer untersucht; es wird zu prüfen sein, inwieweit die Unterschiede der Konstitution auf die Photolyse von Einfluss sind.

Dagegen sieht man in biologischer Hinsicht bereits klarer. Es ist offensichtlich, dass die B<sub>2</sub>-Wirkung in entscheidender Weise von der Natur der Zuckerseitenkette der Flavine abhängt. So weit die bisherigen Erfahrungen reichen, führt der Ersatz des d-Riboserestes im Flavin durch andere Zucker zu einer vollständigen Aufhebung oder starken Schwächung der Wirkung.

Nachdem die für die B<sub>2</sub>-Wirkung spezifische Natur der Flavinseitenkette sichergestellt ist, erhebt sich die Frage, ob auch für den übrigen Teil der Flavinmolekel dieselbe Spezifität gilt, oder ob Riboseflavine, die im Benzolkern nur eine oder keine Methylgruppe enthalten, ebenfalls wirksam sind. Geeignete Beispiele zur Abklärung dieser Sachlage sind in Bearbeitung.

Die nunmehr völlig geklärte Struktur und Konfiguration des Lactoflavins lässt erkennen, dass trotz völlig verschiedener Konstitution doch gewisse gemeinsame Züge zwischen ihm und den Nucleosiden bestehen. Wie in den Hefenucleosiden ist auch der Zucker des Lactoflavins d-Ribose; und wie die Hefenucleoside sich mit Phosphorsäure zu den Nucleotiden paaren können, so tritt nach den Untersuchungen von *H. Theorell*<sup>2)</sup> auch Lactoflavin-phosphorsäure im *Warburg*'schen gelben Oxydationsferment auf. Es ist z. Z. unmöglich, sich ein Bild davon zu machen, wie ein Stoff von der

<sup>1)</sup> Helv. **17**, 1557 (1934).

<sup>2)</sup> Bioch. Z. **275**, 37, 344 (1934).

Struktur des Lactoflavins im Organismus gebildet wird. Die nahen Beziehungen zu den Nucleotiden legen aber den Gedanken nahe, dass zwischen letzteren und den Flavinen doch irgendwelche genetische Beziehungen vorkommen.

Die Angabe *Kuhn's*<sup>1)</sup>, Arabinose-flavin werde in vivo<sup>2)</sup> mit Phosphorsäure zum gelben Oxydationsferment von *Warburg* gekuppelt, ist unrichtig, denn letzteres leitet sich vom Ribose-flavin und nicht vom Arabinose-flavin ab.

Der Chemischen Fabrik *F. Hoffmann-La Roche & Co.* in Basel, welche diese Arbeit unterstützt hat, sprechen wir dafür unseren verbindlichsten Dank aus.

### Experimenteller Teil.

#### *I. Darstellung von 6,7-Dimethyl-9-[d,1'-ribityl]-iso-alloxazin.*

Als Ausgangsprodukt verwendeten wir das 4,5-Dimethyl-2-carbäthoxy-amino-phenyl-d-ribamin. Diese Verbindung wird in gleicher Weise wie die früher beschriebenen Urethane aus 1-Amino-2-carbäthoxyamino-4,5-dimethylbenzol und Zucker, in unserem Fall also d-Ribose, durch katalytische Reduktion im Autoklaven dargestellt.

Statt des früher empfohlenen Nickelkatalysators kann auch ein Palladiumkatalysator Verwendung finden, welcher erlaubt, die Reaktionstemperatur wesentlich unter 100° zu halten.

Die d-Ribose lässt sich verhältnismässig bequem aus d-Aceto-brom-arabinose über das Arabinal und Oxydation des letzteren mit Hilfe von Benzopersäure darstellen. Dieses Verfahren ist für die Gewinnung von l-Ribose von *W. C. Austin* und *F. L. Humoller* kürzlich beschrieben worden<sup>3)</sup>.

Das 4,5-Dimethyl-2-carbäthoxy-amino-phenyl-d-ribamin krystallisiert aus Wasser in Nadeln und schmilzt bei 170°.

$C_{16}H_{26}O_6N_2$	Ber. C 56,10	H 7,65%
	Gef. „ 56,10	„ 7,69%

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{-0,08 \times 20}{2 \times 1 \times 0,0613} = -13,0^\circ (\pm 2^\circ) \text{ in Wasser.}$$

Zur Verseifung des Urethanrestes haben wir 4,5 g 4,5-Dimethyl-2-carbäthoxy-amino-phenyl-d-ribamin in 200 cm<sup>3</sup> heissem Wasser gelöst und dazu konzentrierte Natronlauge gefügt, bis die Lösung 2-n. geworden war. Die Lösung blieb vier Stunden bei 55° stehen, wurde nachher abgekühlt, mit Salzsäure angesäuert, mit 5 g Alloxan versetzt und 15 Minuten lang im Dunkeln zum gelinden Sieden erhitzt, wobei tiefe Rotgelbfärbung auftrat. Man verdünnte mit ca. 3 Liter Wasser und rührte in die stark fluorescierende Flüssigkeit 45 g Frankonit ein. Aus dem Adsorbat wurde der Farbstoff durch ein

<sup>1)</sup> Nature **135**, 185 (1935).

<sup>2)</sup> Die ursprüngliche Angabe, dass der Umsatz auch in vitro ausgeführt worden sei, musste bereits zurückgenommen werden (Nature **135**, 185 (1935)).

<sup>3)</sup> Am. Soc. **56**, 1152 (1934).

Gemisch von 25% Pyridin, 25% Alkohol und 50% Wasser eluiert. Hierauf haben wir das Eluat zur Trockene verdampft, den Rückstand in 2 Liter Wasser gelöst und den fluoreszierenden Farbstoff an Bleisulfid, welches aus 15 g Bleiacetat in der Lösung erzeugt wurde, adsorbiert. Das Flavin wird dabei vollständig vom Bleisulfid aufgenommen. Man eluiert es daraus durch kochendes Wasser und wiederholt zur Reinigung die Bleisulfidadsorption. Nach dem Eindampfen des zweiten Eluats wurde der Rückstand in mit Essigsäure angesäuertem Wasser gelöst, worauf nach dem Erkalten das 6,7-Dimethyl-9-[d,1'-ribityl]-iso-alloxazin in hübschen Nadelbüscheln auskrystallisierte. Nach zweimaligem Umkrystallisieren lag der Schmelzpunkt bei 280°. Ausbeute 0,4 g reines Flavin.

$C_{17}H_{20}O_6N_4$	Ber. C 54,23	H 5,36	N 14,88%
	Gef. „ 53,95	„ 5,25	„ 15,10%

$$[\alpha]_D^{20} = -92,6^\circ (\pm 7^\circ) \text{ in } 0,05\text{-n. NaOH.}$$

Die Acetylierung des 6,7-Dimethyl-9-[d,1'-ribityl]-iso-alloxazins wurde nach der Vorschrift ausgeführt, die *R. Kuhn* und *Th. Wagner-Jauregg* für die Acetylierung des Lactoflavins angegeben haben<sup>1)</sup>. Wir haben dementsprechend 120 mg des synthetischen Flavins in 40 cm<sup>3</sup> absolutem Pyridin gelöst und nach dem Erkalten mit 40 cm<sup>3</sup> Essigsäure-anhydrid versetzt. Danach kochte man die Lösung kurze Zeit, kühlte ab und verdünnte sie mit 60 cm<sup>3</sup> Chloroform. Sie wurde hierauf mit verdünnter Salzsäure gut durchgeschüttelt und die Chloroformschicht einige Male mit Wasser ausgewaschen. Nach dem Verdunsten der Chloroformlösung nahm man den Rückstand in 100 cm<sup>3</sup> heisser, verdünnter Essigsäure auf, worauf nach einigem Stehen die Krystallisation des Tetra-acetats begann. Dieses wurde zweimal aus warmem Wasser umkrystallisiert und dabei in langen, dünnen, gelben Nadeln vom Smp. 238—239° erhalten. Der Mischschmelzpunkt mit Lactoflavin-acetat lag gleich hoch. Ausbeute 110 mg.

$C_{25}H_{28}O_{10}N_4$	Ber. C 55,12	H 5,14	N 10,29%
	Gef. „ 54,89	„ 5,09	„ 10,51%

Zur Regenerierung des 6,7-Dimethyl-9-[d,1'-ribityl]-iso-alloxazins löste man das Acetat in wenig verdünnter Natronlauge, liess so lange stehen, bis mit Chloroform der wässerigen Lösung kein Farbstoff mehr entzogen werden konnte und säuerte hierauf mit Essigsäure an. Nach einiger Zeit begann die Krystallisation des 6,7-Dimethyl-9-[d,1'-ribityl]-iso-alloxazins, welches wiederum in den bekannten, zu Drusen vereinigten Nadeln erhalten wurde. Die Ausbeute war nahezu quantitativ. Der Schmelzpunkt des so gereinigten Flavins lag bei 282°.

<sup>1)</sup> B. 66, 1580 (1933).

II. Darstellung von 6,7-Dimethyl-9-[d,1'-xylityl]-iso-alloxazin.

2,6 g 4,5-Dimethyl-2-carbäthoxy-amino-phenyl-d-xylamin, die aus 1-Amino-2-carbäthoxy-amino-4,5-dimethylbenzol und d-Xylose durch gemeinsame Reduktion dargestellt wurden, haben wir zwecks Verseifung des Urethanrestes in einer Mischung von 8 cm<sup>3</sup> Alkohol und 15 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst und durch Zugabe von konz. Natronlauge diese Lösung 2-n. gemacht. Die Flüssigkeit blieb dann während 24 Stunden bei 38° stehen. Hierauf säuerten wir mit Salzsäure an, gaben 2,6 g Alloxan hinzu und kochten 1 Viertelstunde lang. Die Lösung nahm dabei eine intensiv dunkelgelbe Farbe an. Nach dem Erkalten schied sich eine farblose Substanz aus, von der abgesaugt wurde. Das Filtrat verdünnte man mit 2 Liter Wasser und rührte 40 g Frankonit ein. Das Flavin wird an Frankonit adsorbiert. Nach 1½-stündigem Rühren haben wir den Frankonitniederschlag abgenutscht, den Farbstoff durch die Mischung von Wasser, Pyridin und Alkohol eluiert und das Eluat im Vakuum zur Trockne eingedampft. Hierauf löste man den Rückstand in Wasser auf und reinigte ihn durch zweimalige Adsorption an Bleisulfid. Der nach der Verdampfung des zweiten Eluats zurückbleibende Rückstand wurde aus Wasser, welches mit Essigsäure schwach angesäuert war, krystallisiert. Das 6,7-Dimethyl-9-[d,1'-xylityl]-iso-alloxazin krystallisiert in gelben Nadelchen, die zu Drusen verwachsen sind, und schmilzt bei 278—280°.

C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> O <sub>6</sub> N <sub>4</sub>	Ber. C 54,23	H 5,36%
	Gef. „ 54,19	„ 5,47%

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{-0,125 \times 10}{1 \times 1 \times 0,0152} = -82,2^\circ (\pm 7^\circ) \text{ in } 0,05\text{-n. NaOH.}$$

Zwecks Darstellung des Tetra-acetats wurden 20 mg des vorbeschriebenen Flavins in 8 cm<sup>3</sup> absolutem Pyridin gelöst und mit 8 cm<sup>3</sup> Essigsäure-anhydrid erhitzt. Man erhält nach dem Aufnehmen des Rohacetats in Essigester und Zufügen von wenig Petroläther Krystalle, die nachher aus Wasser in schönen gelben Drusen krystallisieren. Nach wiederholtem Umkrystallisieren lag der Schmelzpunkt bei 216°. Mischschmelzpunkt mit Lactoflavin-acetat unscharf bei 215—220°.

III. 6,7-Dimethyl-9-[l,1'-rhamnityl]-iso-alloxazin.

Das 4,5-Dimethyl-2-carbäthoxy-amino-phenyl-l-rhamnamin, aus 1-Amino-2-carbäthoxy-amino-4,5-dimethylbenzol und l-Rhamnose durch reduzierende Kondensation dargestellt, schmolz nach wiederholtem Umkrystallisieren aus Wasser bei 183°.

C <sub>17</sub> H <sub>23</sub> O <sub>6</sub> N <sub>2</sub>	Ber. C 57,26	H 7,92	N 7,86%
	Gef. „ 57,27	„ 7,92	„ 8,06%

Eine Lösung von 56 mg der Substanz in 30 cm<sup>3</sup> Wasser liess im Zweidezimeterrohr keine deutliche Drehung erkennen; die optische Aktivität der Verbindung muss also sehr gering sein.

Zwecks Darstellung des 6,7-Dimethyl-9-[1,1'-rhamnityl]-iso-alloxazins haben wir 10 g 4,5-Dimethyl-2-carbäthoxy-amino-phenyl-1-rhamnamin in 200 cm<sup>3</sup> 50-proz. Alkohol gelöst, durch Zufügen von konz. Natronlauge diese Lösung doppelt-normal gemacht, während 5 Stunden bei 55° stehen gelassen, hierauf mit Salzsäure angesäuert und im Vakuum den grössten Teil des Alkohols abdestilliert. Dabei schied sich eine bedeutende Menge einer farblosen Substanz (Substanz A) aus. Nach dem Abtrennen derselben wurde das Filtrat mit 3 g Alloxan versetzt und die Lösung während einer Viertelstunde in schwachem Sieden gehalten. Dann rührte man in die auf 3 Liter verdünnte Lösung 25 g Frankonit ein, eluierte hernach aus dem Adsorbat das Flavin mit dem Gemisch von 25% Pyridin, 25% Alkohol und 50% Wasser und verdampfte das Eluat im Vakuum zur Trockene. Es erwies sich als vorteilhaft, auch hier den gebildeten Farbstoff durch Adsorption an Bleisulfid weiter zu reinigen, wozu zweimal je 10 g Bleisulfid angewandt wurden. Aus dem stark eingeeengten, wässrigen Eluat krystallisierte hierauf das 6,7-Dimethyl-9-[1,1'-rhamnityl]-iso-alloxazin in schönen, blassgelben, spindelförmigen Nadeln vom Smp. 269—270°.

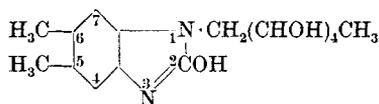
C <sub>18</sub> H <sub>22</sub> O <sub>6</sub> N <sub>4</sub>	Ber. C 55,36	H 5,68	N 14,35%
	Gef. „ 55,34	„ 5,89	„ 14,42%

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{-0,08 \times 10}{1 \times 1 \times 0,0154} = -51,9^{\circ} (\pm 6^{\circ}) \text{ in } 0,05\text{-n. NaOH}$$

Das Tetra-acetat des 6,7-Dimethyl-9-[1,1'-rhamnityl]-iso-alloxazins wurde aus 30 mg des Flavins in der bei den anderen Flavin-acetaten schon beschriebenen Weise bereitet. Wir erhielten es in blassgelben, drusenförmigen Krystallen vom Smp. 224°.

C <sub>28</sub> H <sub>30</sub> O <sub>10</sub> N <sub>4</sub>	Ber. C 55,89	H 5,42%
	Gef. „ 56,16	„ 5,70%

Die oben erwähnte farblose *Substanz A* vom Smp. 219—220°, welche bei der Kondensation zum Flavinfarbstoff als Nebenprodukt auftrat, ist sehr wahrscheinlich das Benzimidazolderivat der folgenden Formel:



d. h. das 1-1-Rhamnityl-2-oxy-5,6-dimethylbenzimidazol, welches durch Abspaltung von Alkohol aus dem 4,5-Dimethyl-2-carbäthoxy-amino-phenyl-1-rhamnamin entstanden ist.

C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>5</sub> N <sub>2</sub>	Ber. C 58,05	H 7,15	N 9,04%
	Gef. „ 57,70	„ 6,96	„ 9,28%

IV. *Tetra-acetat des 6,7-Dimethyl-9-[l,1'-arabityl]-iso-alloxazins.*

Dieses Flavin und seine Darstellung sind schon früher beschrieben worden<sup>1)</sup>. Wir tragen hier noch die Angaben über die Darstellung seines Tetra-acetats nach.

10 mg des Flavins werden in 6 cm<sup>3</sup> absolutem Pyridin gelöst und in bekannter Weise mit 6 cm<sup>3</sup> Essigsäure-anhydrid acetyliert. Nach dem Umkrystallisieren des Acetats aus Wasser erhält man gelbe, drusenförmige Krystalle vom Smp. 215°.

V. *Darstellung von 7-Methyl-9-[d,1'-dulcetyl]-iso-alloxazin.*

Das für diese Versuche als Ausgangsmaterial dienende 5-Methyl-2-carbäthoxy-amino-phenyl-d-galactamin wurde in gewohnter Weise aus 1-Amino-2-carbäthoxy-amino-5-methylbenzol und d-Galactose durch gemeinsame Reduktion im Autoklaven dargestellt. Die Verbindung krystallisiert aus Wasser in farblosen Nadeln und schmilzt bei 139°.

C <sub>16</sub> H <sub>26</sub> O <sub>7</sub> N <sub>2</sub>	Ber. C 53,60	H 7,31%
	Gef. „ 53,55	„ 7,27%

60 mg Substanz, in 20 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst, liessen im Zwei-dezimeterrohr keine deutliche Drehung erkennen. Die optische Aktivität dieser Verbindung ist also sehr gering.

Zwecks Darstellung des Flavinfarbstoffs haben wir 15 g 5-Methyl-2-carbäthoxy-amino-phenyl-d-galactamin in 200 cm<sup>3</sup> heissem Wasser gelöst, diese Lösung durch Zufügen von konz. Natronlauge 2-n. gemacht und durch 5-stündiges Erwärmen auf 55° den Urethanrest verseift. Hierauf wurde die Lösung mit Salzsäure schwach angesäuert. Nach Zugabe von 15 g Alloxan erhitzte man 15 Minuten zum schwachen Sieden, wobei sich die Flüssigkeit tief rotgelb färbte. Die erkaltete Lösung schied nach längerem Stehen wenig farblose, schwer lösliche Substanz aus. Diese wurde abgetrennt, das Filtrat mit 3 Liter Wasser verdünnt und der gebildete Farbstoff an 350 g Frankonit adsorbiert. Aus dem Adsorbat eluierten wir das Flavin mit alkoholisch-wässriger Pyridinlösung. Den nach dem Verdampfen der Eluierflüssigkeit zurückbleibenden Rückstand haben wir durch zweimalige Adsorption an je 80 g Bleisulfid gereinigt und das Flavin aus dem Bleisulfidadsorbat jeweilen durch kochendes Wasser wieder abgelöst. Das zweite Eluat wurde auf 200 cm<sup>3</sup> eingedampft und hierauf mit dem dreifachen Volumen Aceton versetzt. Nach einigem Stehen bildete sich ein gelber, flockiger Niederschlag, der nachher in Alkohol gelöst wurde. Aus der eingeengten Lösung krystallisierte das 7-Methyl-9-[d,1'-dulcetyl]-iso-alloxazin in gelben Drusen vom Smp. 239°. Ausbeute 1,3 g.

C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> O <sub>7</sub> N <sub>4</sub>	Ber. C 52,01	H 5,14%
	Gef. „ 51,95	„ 5,35%

$$[\alpha]_{644}^{20} = \frac{-0,045 \times 10}{1 \times 1 \times 0,0147} = -30,6^\circ (\pm 6^\circ) \text{ in } 0,05\text{-n. NaOH.}$$

<sup>1)</sup> Helv. 18, 79 (1935).

Das *Penta-acetat* des 7-Methyl-9-[d,1'-dulcetyl]-iso-alloxazins wurde in der für die anderen Flavlin-acetate beschriebenen Weise durch Acetylierung mit Essigsäure-anhydrid und Pyridin dargestellt. Die Verbindung krystallisiert aus Wasser in langen, teilweise zu Drusen strahlig angeordneten Nadeln. Sie sintert bei 150° und schmilzt bei 222°.

$C_{27}H_{30}O_{12}N_4$	Ber. C 53,80	H 5,02	N 9,30%
	Gef. „ 53,53	„ 5,09	„ 9,48%

VI. *Darstellung von 7-Methyl-9-[l,1'-arabityl]-iso-alloxazin.*

Das als Ausgangsmaterial dienende 5-Methyl-2-carbäthoxy-aminophenyl-l-arabamin krystallisiert aus Wasser in weissen Nadeln vom Smp. 170°.

$C_{15}H_{24}O_6N_2$	Ber. C 54,84	H 7,37	N 8,53%
	Gef. „ 54,73	„ 7,25	„ 8,71%

Eine Lösung von 60 mg der Verbindung in 20 cm<sup>3</sup> Wasser zeigte im Zweidezimeterrohr eine nur sehr schwache Linksdrehung.

Für die Gewinnung des 7-Methyl-9-[l,1'-arabityl]-iso-alloxazins gingen wir von 6 g 5-Methyl-2-carbäthoxy-amino-phenyl-l-arabamin aus, die wir in 90 cm<sup>3</sup> Wasser und 10 cm<sup>3</sup> Alkohol heiss auflösten und durch Zusatz von konz. Natronlauge und 24-stündiges Aufbewahren bei 35° verseiften. Nach dem Ansäuern der Lösung mit Salzsäure und Zugabe von Alloxan wurde die Lösung 15 Minuten lang gekocht. Auch hier schied sich nach dem Abkühlen der Flüssigkeit eine kleine Menge farbloser, schwer löslicher Substanz aus, die wir nicht weiter untersuchten. Nach der Abtrennung dieses Niederschlags verdünnten wir das Filtrat mit 3 Liter Wasser und adsorbierten den gebildeten Flavinfarbstoff an 350 g Frankonit. Aus dem Adsorbat wurde er in bekannter Weise durch die wässerig-alkoholische Pyridinlösung eluiert und hierauf zwecks weiterer Reinigung noch zweimal an je 30 g Bleisulfid adsorbiert. Die Elution aus den Bleisulfidadsorbaten erfolgte durch kochendes Wasser. Das zweite Eluat wurde stark eingengt, worauf nach einigen Stunden das 7-Methyl-9-[l,1'-arabityl]-iso-alloxazin krystallin ausfiel. Es liess sich aus Wasser, dem wenig Essigsäure zugesetzt war, gut umkrystallisieren und kam daraus in orangegelben, langen Nadeln vom Smp. 284° heraus.

$C_{16}H_{18}O_6N_4$	Ber. C 53,02	H 5,01	N 15,46%
	Gef. „ 52,83	„ 5,16	„ 15,37%

$$[\alpha]_{644}^{20} = \frac{-0,07 \times 10}{1 \times 1 \times 0,0151} = -46,3^{\circ} (\pm 6^{\circ}) \text{ in } 0,05\text{-n. NaOH.}$$

VII. *Darstellung von 7-Methyl-9-[d,1'-sorbityl]-iso-alloxazin.*

Als Ausgangsmaterial diente in diesem Falle 5-Methyl-2-carbäthoxy-amino-phenyl-d-glucamin, eine Verbindung, welche aus 1-Amino-2-carbäthoxy-amino-5-methylbenzol und d-Glucose durch

reduzierende Kondensation dargestellt worden ist. Sie krystallisiert aus Wasser in weissen Nadeln vom Smp. 137—138°.

$C_{16}H_{26}O_7N_2$	Ber. C 53,60	H 7,31	N 7,81%
	Gef. „ 53,53	„ 7,27	„ 8,01%

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{-0,07 \times 20}{1 \times 2 \times 0,0574} = -12,2^0 (\pm 2^0) \text{ in Wasser.}$$

Für die Gewinnung des Flavinfarbstoffs sind wir folgendermassen verfahren: 4,5 g 5-Methyl-2-carbäthoxy-amino-phenyl-d-glucamin wurden in 90 cm<sup>3</sup> heissem Wasser gelöst. Durch Zugabe von konz. Natronlauge wurde die Flüssigkeit 2-n. gemacht und hierauf während 24 Stunden bei 35° aufbewahrt. Dann säuerte man mit Salzsäure an, gab 4,5 g Alloxan hinzu und erhitzte 15 Minuten zum schwachen Sieden. Beim Stehen der erkalteten Lösung über Nacht schied sich ein farbloser, schwer löslicher Niederschlag aus, den wir abnutschten. Das Filtrat wurde auf 2 Liter mit Wasser verdünnt und der gebildete Flavinfarbstoff an 400 g Frankonit adsorbiert. Nach der Elution mit wässrig-alkoholischer Pyridinlösung reinigten wir das Flavin durch zweimalige Adsorption an je 50 g Bleisulfid. Aus dem stark eingeeengten zweiten Eluat krystallisierte der Farbstoff in gelben, strahligen Drusen.

$C_{17}H_{20}O_7N_4^1$	Ber. C 52,01	H 5,14	N 14,28%
	Gef. „ 52,00	„ 5,04	„ 14,16%

Das *Penta-acetat* des 7-Methyl-9-[d,1'-sorbityl]-iso-alloxazins wurde aus 0,3 g Flavin in gewohnter Weise hergestellt. Diese Acetats krystallisiert aus Wasser in Nadeln.

$C_{27}H_{30}O_{12}N_4$	Ber. C 53,80	H 5,02	N 9,30%
	Gef. „ 53,58	„ 4,95	„ 9,47%

#### VIII. Darstellung von 7-Methyl-9-[d,1'-mannityl]-iso-alloxazin.

Das als Ausgangsmaterial dienende 5-Methyl-2-carbäthoxy-amino-phenyl-d-mannamin wurde aus 1-Amino-2-carbäthoxy-amino-5-methylbenzol und d-Mannose durch reduzierende Kondensation dargestellt. Man krystallisiert die Verbindung aus Wasser um und erhält weisse Nadeln vom Smp. 168—169°.

$C_{16}H_{26}O_7N_2$	Ber. C 53,60	H 7,31	N 7,81%
	Gef. „ 53,84	„ 7,20	„ 8,04%

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{+0,08 \times 20}{1 \times 2 \times 0,0595} = +26,7^0 (\pm 3^0) \text{ in Wasser.}$$

Zur Darstellung des 7-Methyl-9-[d,1'-mannityl]-iso-alloxazins haben wir 4 g 5-Methyl-2-carbäthoxy-aminophenyl-d-mannamin in 60 cm<sup>3</sup> heissem Wasser gelöst und mit konz. Natronlauge versetzt, bis die

<sup>1)</sup> Bei unserer früheren Beschreibung der Darstellung des 7-Methyl-9-[d,1'-sorbityl]-iso-alloxazins (Helv. **18**, 75—76 (1935)) sind leider infolge einer Verwechslung unrichtige N-Analysenresultate eingesetzt worden. Durch die obenstehenden Zahlen wird dieser Irrtum hiemit korrigiert.

Lösung 2-n. geworden war. Dann verseifte man 48 Stunden lang bei 35°, säuerte mit Salzsäure an und saugte den hierbei ausfallenden, farblosen Niederschlag ab. Zum Filtrat wurden 3 g Alloxan hinzugefügt und die Lösung eine Viertelstunde lang im gelinden Sieden gehalten. Zur Adsorption des gelben Farbstoffes an 350 g Frankonit verdünnte man die Flüssigkeit zuvor mit 3 Liter Wasser und rührte dann die Frankonitsuspension 1½ Stunden lang. Aus dem Adsorbat konnte der Flavinfarbstoff durch wässerig-alkoholische Pyridinlösung wieder eluiert werden. Nach dem Eindampfen des Eluates und Aufnehmen des Rückstandes in 2 Liter Wasser wurde dieser zu weiterer Reinigung in gewohnter Weise zweimal an 35 g Bleisulfid adsorbiert. Das auf ca. 30 cm<sup>3</sup> eingeeengte zweite Eluat schied schön krystallisierte Substanz ab, die nach dem Umkrystallisieren aus verd. Essigsäure blassgelbe, einzeln liegende Nadeln vom Smp. 272° ausbildete.

Dis Ausbeute betrug 0,3 g.

$C_{17}H_{20}O_7N_4$	Ber. C 52,01	H 5,14	N 14,28%
	Gef. „ 52,08	„ 5,09	„ 14,43%

15 mg Subst., gelöst in 10 cm<sup>3</sup> 0,05-n. NaOH, liessen im 1 dm-Rohr keine messbare Drehung erkennen

Das Penta-acetat des 7-Methyl-9-[d,1'-mannityl]-iso-alloxazins wurde in gleicher Weise wie die oben beschriebenen Flavinetate aus 0,05 g Farbstoff dargestellt. Smp. 199°.

$C_{27}H_{30}O_{12}N_4$	Ber. C 53,80	H 5,02	N 9,30%
	Gef. „ 54,05	„ 5,13	„ 9,13%

Zürich, Chem. Institut der Universität.

#### 64. Die Darstellung des 2-Methyl-4-phenyl-n-valer-aldehydes

von H. Rupe, H. Hirschmann und H. Werdenberg.

(26. III. 35.)

Im Laufe der Untersuchung der bei der Einwirkung von Ameisensäure auf das Acetylen-carbinol I (aus Phenyläthyl-methylketon) entstehenden zwei Verbindungen<sup>1)</sup>, wurde auch die Annahme gemacht, der eine dieser Körper könnte die Formel II oder III besitzen, doch wurde damals von uns diese Ansicht fallen gelassen zugunsten einer möglichen Keto-Formel. Wir versuchten darauf verschiedene Ketone, die uns in Betracht zu kommen schienen, synthetisch darzustellen, und zwar nicht die ungesättigten Ketone selbst, sondern ihre Hydrierungsprodukte. Denn der eine der beiden,

<sup>1)</sup> Rupe und Hirschmann, Helv. 14, 687 (1931).