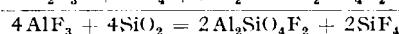
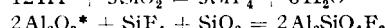
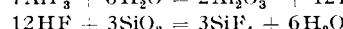
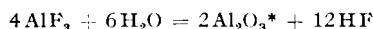


4) Durch Versuche mit einem Überschuß von AlF_3 oder SiO_2 bestätigt sich der vorgeschlagene Reaktionsmechanismus für die Topasbildung über die Gasphase des SiF_4 nach folgendem Reaktionsschema:



Die scharfen Temperaturgrenzen dürften damit zusammenhängen, daß das SiF_4 einer bestimmten Anregungsenergie bedarf.

5) Versuche, bei denen Topas durch Einwirkung von Siliciumfluorid auf Aluminiumoxyd bzw. auf ein Gemisch von $2 \text{Al}_2\text{O}_3 + 1 \text{SiO}_2$ hergestellt wird, zeigen, daß für diese Reaktion dieselben Temperaturgrenzen bestehen.

6) Unter bestimmten Bedingungen gelingt es, Topase mit erweitertem Gitter zu erhalten. Es ist unter Berücksichtigung dieser Bedingungen wahrscheinlich, daß diese Erscheinung einem Einbau von Aluminiumoxyd parallel geht. Das Aluminiumoxyd muß dazu in besonderer „aktiver“ Form vorliegen. Die Gitteraufweitung erfolgt, wenn Topas bei Gegenwart von überschüssigem Aluminiumfluorid gebildet wird, das durch Hydrolyse oder Reaktion mit Kiesel säure dieses aktive Aluminiumoxyd liefert, oder wenn γ -Aluminiumoxyd bei Temperaturen von 700—800°, bei denen mit α -Aluminiumoxyd noch kein Topas erhältlich ist, mit Siliciumfluorid behandelt wird.

7) Im untersuchten Temperaturbereich bis 1050° wird bei der Reaktion von SiF_4 mit $\text{Al}_2\text{O}_3 + \text{SiO}_2$ kein mullitähnlicher Stoff gebildet. Daraus folgt, daß die Mullitbildung aus AlF_3 und SiO_2 nicht wie die Topasbildung über SiF_4 , sondern auf einem anderen Wege — wahrscheinlich durch Reaktion im festen Zustand — vor sich geht. Dafür spricht auch der große Unterschied in den Bildungsgeschwindigkeiten des Topases und dieses mullitähnlichen Stoffes.

197. Alfons Schöberl und Max Stock: Über Ringspaltungen bei Thiazoliumsalzen.

[Aus d. Chem. Institut d. Universität Würzburg.]
(Eingegangen am 9. Oktober 1940.)

Die Strukturaufklärung des antineuritischen Vitamins wurde durch die wichtige Entdeckung von Windaus, Tschesche, Ruhkopf, Laquer und Schultz¹⁾ im Jahre 1931, daß dieses Vitamin Schwefel enthält, entscheidend angeregt. Über die Reaktionsfähigkeit des Schwefels im Vitaminmolekül gaben diese Autoren schon damals an, daß Erhitzen von stark alkalischen Lösungen in Gegenwart von Bleisalz zu einer Abspaltung von Schwefelwasserstoff führt. Dieser Reaktion kommt direkt und indirekt für verschiedene Fragen Bedeutung zu. Besonders wenn man bedenkt, daß im Aneurin ein Thiazoliumsalz vorliegt und daher das Schwefelatom in einen heterocyclischen Ring eingebaut ist, wird man in erster Linie nach dem Chemismus der H_2S -Abspaltung aus solchen Verbindungen fragen. Hierüber sind systematische Untersuchungen auf breiter Grundlage bis jetzt nicht durchgeführt worden. Es sei auch daran erinnert, daß man bislang ausschließlich als Ursache des alkalilabilen Schwefels in Naturstoffen SH- und SS-Gruppen verantwortlich machte. Da mit dem Aneurin erstmalig der Substanztyp eines Thiazoliumsalzes in der Natur aufgefunden wurde, interessiert das bisher ver-

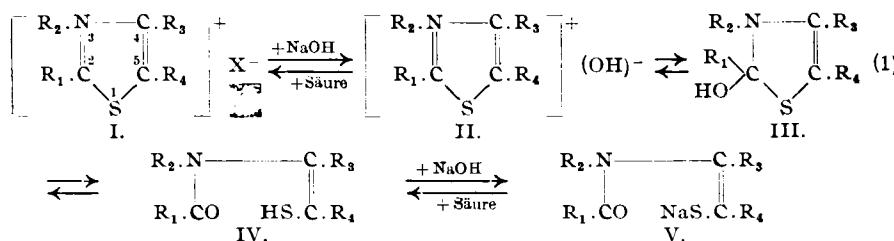
¹⁾ Nachr. Ges. Wiss. Göttingen, Math.-physik. Kl. 3, 211 [1931]; Ztschr. physiol. Chem. 204, 123 [1932].

nachlässigte Studium der Reaktionsfähigkeit dieser Verbindungsklasse nicht nur in chemischer, sondern auch in physiologisch-chemischer Hinsicht; denn die Wirkungsweise des Vitamins ist heute noch unbekannt, wenngleich man ihm auch Funktionen eines Redoxsystems zugewiesen hat.

Unter Berücksichtigung dieser und ähnlicher Gesichtspunkte sind von uns schon vor längerer Zeit Untersuchungen über Thiazole und Thiazoliumsalze begonnen worden. Sie nahmen ihren Ausgang von einigen spärlichen Angaben über die Einwirkung von Alkali und über die Isolierung von Zwischenprodukten bei der Synthese solcher Verbindungen.

Was zunächst die Reaktionsfähigkeit mit Alkalien anlangt, so ist vor allem auf die Arbeiten von Williams und Ruehle²⁾, von Birch und Harris³⁾ und von Moggridge und Ogston⁴⁾ über die elektrometrische Titration des Vitamin-hydrochlorids und von Thiazoliumsalzen mit Lauge hinzzuweisen. Mit der H_2S -Abspaltung durch Alkalien befaßten sich Clarke und Gurin⁵⁾ und Buchmann, Williams und Keresztesy⁶⁾. Als besonders auffällig ist dabei beobachtet worden, daß bezüglich der Labilität des Schwefels in Thiazoliumsalzen und Thiazolen erhebliche Unterschiede vorhanden sind. In den freien Thiazolen erwies sich nämlich der Schwefel als sehr fest gebunden. Man hat mit Recht dieses Kriterium mit als Beweis für die Thiazoliumsalznatur von Aneurin gewertet⁷⁾. Am wichtigsten sind aber in diesen Untersuchungen die Feststellungen, die für eine überraschende Leichtigkeit des Eintretens reversibler Ringspaltungen bei Thiazoliumsalzen unter der Einwirkung von Alkalien sprechen. Eine ähnliche Ringspaltung ist schon im Jahre 1923 von Mills, Clark und Aeschlimann⁸⁾ am Benzo-thiazol-jodmethylestern aufgefunden und formuliert worden. Es ist ziemlich sicher, daß damit auch die H_2S -Abspaltung durch Alkali direkt verknüpft ist. Man sieht, daß hier ebenfalls zur Klärung der Verhältnisse zwischen Primär- und Sekundärreaktion zu unterscheiden ist.

Die z. B. mit Natronlauge bei Thiazoliumsalzen (I) erzielbare Reaktionsfolge lässt sich in Gleichung 1 zusammenfassen⁹⁾:



Das Alkali setzt zunächst, wobei 1 Mol. Lauge verbraucht wird, aus dem Salz die starke, quartäre Ammoniumbase (II) in Freiheit, die aber nicht

²⁾ Journ. Amer. chem. Soc. **57**, 1856 [1935].

³⁾ Nature [London] **135**, 654 [1935]. ⁴⁾ Biochem. Journ. **29**, 866 [1935].

⁵) Journ. Amer. chem. Soc. **57**, 1876 [1935].

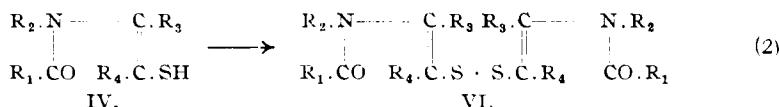
⁶⁾ Journ. Amer. chem. Soc. **57**, 1849 [1935].

7) Eine Ausnahme scheint nur die 4-Methyl-thiazol-carbonsäure-(5) zu bilden (Clarke u. Gurrin, *l. c.*; Windaus, Tschesche u. Grewe, *Ztschr. physiol. Chem.* **228**, 27 [1934]), jedoch sind quartäre Salze von ihr noch nicht untersucht worden.

⁸⁾ Journ. chem. Soc. London **123**, 2353 [1923].

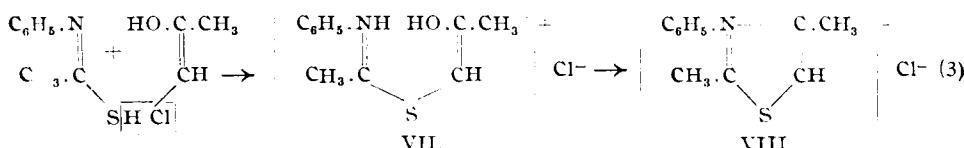
⁹) Vergl. Williams, Ind. Engin. Chem. **29**, 980 [1937].

stabil ist, sondern sich sofort langsam in die Pseudo- oder Carbinolbase (III) umlagert. Hierbei erfolgt Wanderung der OH-Gruppe an das C-Atom in 2-Stellung. Dieses nicht beständige Carbinol nun erleidet glatt unter Bildung einer sauren SH-Gruppe eine Ringsprengung (IV), und die sich anschließende Mercaptidbildung (V) führt dann zum Verbrauch eines zweiten Äquivalentes Lauge. Mit Säure bildet sich aus dem Mercaptid das Thiazoliumsalz wieder zurück. Im Rahmen des uns interessierenden Problems ist das Charakteristische der Umsetzungen in der Entstehung eines Thiols zu erblicken, dessen leichte Oxydierbarkeit zum Disulfid (VI) noch besonders zu betonen ist. Damit kann die Abspaltung von H_2S aus Thiazoliumsalzen letzten Endes auf Substanzklassen zurückgeführt werden, deren Instabilität gegen Alkali an vielen Beispielen bekannt ist. Die Oxydation der so in alkalischen Lösungen sich bildenden Thiole lässt sich mit O_2 , H_2O_2 oder Jod durchführen (Gleichung 2):



Entsprechende Disulfide (VI) sind von Mills und Mitarbeitern (l. c.) aus Benzothiazol-jodmethylat, von Clarke und Gurin⁵⁾ aus 4-Methyl-thiazol-jodäthylat und von uns in der vorliegenden Arbeit aus 2,4-Dimethylthiazol-brombenzylat erhalten worden. Über ihr Verhalten gegenüber Alkali ist man nicht unterrichtet. Das Schema der Alkalieinwirkung weist auf die Leichtigkeit der Aufsprengung der Bindung zwischen dem S-Atom und dem C-Atom in 2-Stellung hin. Schließlich ist noch zu erwähnen, daß Kuhn und Vetter¹⁰⁾ auch bei der nur in stark alkalischer Lösung möglichen Oxydation von Aneurin zu Thiochrom als wesentliche, vorbereitende Reaktion die Umwandlung des quartären Salzes in die Pseudobase ansehen, an der die Dehydrierung ansetzt¹¹⁾.

Eine andere Möglichkeit der Ringöffnung wird durch Untersuchungen von Todd und Mitarbeitern¹²⁾ nahegelegt, denen es gelang, bei einer neuen, gleichzeitig auch von Clarke und Gurin⁵⁾ angegebenen Synthese von Thiazoliumsalzen Zwischenprodukte in Gestalt von Thioäthern zu isolieren. Die Kondensation von Thioacetanilid mit Chloraceton führte nämlich bei tiefer Temperatur zum Hydrochlorid des *S*-Acetyl-thioacetanilids als Zwischenprodukt (VII), das sich bei höherer Temperatur glatt unter Wasserabspaltung ins Thiazoliumsalz (VIII) umlagerte (Gleichung 3):



Die hier nur kurz angedeutete Auswertung dieser Versuchsergebnisse, die sich auf ein geringes experimentelles Material stützen, gab die Richtlinien

¹⁰⁾ B. **68**, 2375 [1935].

¹¹⁾ Vergl. Windaus, Tschesche u. Grewe, Ztschr. physiol. Chem. **237**, 98 [1935]; Barger, Bergel u. Todd, B. **68**, 2257 [1935]. ¹²⁾ B. **69**, 217 [1936].

ab, nach denen wir uns mit dem Problem der Ringöffnung bei Thiazoliumsalzen und Aneurin und dem Chemismus der H_2S -Abspaltung aus diesen Verbindungen in präparativ-chemischer und analytisch-chemischer Richtung zu beschäftigen begannen. Die Untersuchungen mußten durch die Einberufung des einen von uns (Stock) im Sommer 1939 unterbrochen werden. Infolge einer eben erschienenen Mitteilung von Zima und Williams¹³⁾ sehen wir uns aber genötigt, die bisher erzielten Teilergebnisse mitzuteilen.

Durch die erwähnte Veröffentlichung von Zima und Williams, die sich in erster Linie mit dem antineuritischen Vitamin beschäftigt, hat die oben erläuterte Problemstellung an Wichtigkeit erheblich gewonnen, nicht zuletzt dadurch, daß diese Arbeit Anhaltspunkte über die katalytische Funktion des Aneurins enthält, die völlig neuartig sind und sich von den bisherigen Vorstellungen¹⁴⁾ wesentlich unterscheiden. Zima und Williams konnten nämlich durch Oxydation des Aneurins in alkalischer Lösung mit Jod ein Oxydationsprodukt isolieren, dessen Bildung sie im Sinne der Gleichungen 1 und 2 formulierten und das als Disulfid (vergl. Formel VI) noch mindestens 60—70% der Wirksamkeit des Aneurins bei der biologischen Prüfung durch subcutane Injektion an polyneuritischen Ratten besaß. Zugleich haben diese Autoren das nach Gleichung 1 aus Aneurin¹⁵⁾ durch Einwirkung von Lauge entstehende Thiol als Natriummercaptid direkt isoliert. Es konnten 2 gut krystallisierte und verhältnismäßig beständige Natriumsalze, und zwar ein gelbes und ein weißes Salz, erhalten werden, die sich in ihrer Struktur von einander unterscheiden sollen (vergl. Formel V). Zweifellos ist auch bei Aneurin die glatte Aufspaltung des Thiazolringes von besonderer Bedeutung, wobei vor allem die Umkehrbarkeit des Vorganges zu betonen ist. Auch die Disulfidstufe des Vitamins ließ sich durch Reduktion in saurer Lösung in Aneurin zurückverwandeln.

Im Verlaufe dieser Untersuchungen wollten Zima und Williams in den beiden aus Aneurin isolierten Natriumsalzen die SH-Gruppen durch die bekannte Farbreaktion auf Thiole mittels Nitroprussidnatriums nachweisen, kamen aber ebenso wie mit alkalischen Lösungen von Benzothiazol-jodmethylat nur zu negativen Ergebnissen. Auch bei einigen anderen einfachen Thiazoliumsalzen, und zwar bei 4-Methyl-5- β -oxyäthyl-thiazol-jodmethylat und -chlormethylat und 4-Methyl-thiazol-jodäthylat fanden sie diese Farbreaktion in natronalkalischer Lösung negativ. Eine schwach positive Reaktion im Falle der beiden zuerst genannten quartären Salze führen die Autoren auf eine geringe Abspaltung von H_2S unter dem Einfluß von Alkali zurück.

Auch wir zogen den empfindlichen Nitroprussidnatrium-Test für den Nachweis von SH-Gruppen bei der Aufspaltung von Thiazoliumsalzen heran und kamen zu anderen, eindeutig positiven Ergebnissen¹⁶⁾. Es war möglich, die Farbreaktion nicht nur für den qualitativen Nachweis der Thiole zu benutzen, sondern sie konnte sogar glatt zu einer empfindlichen colorimetrischen Bestimmungsmethode für Thiazoliumsalze ausgearbeitet werden. Allerdings gelang es auch uns bis jetzt noch nicht, trotz mehrfacher Abänderung

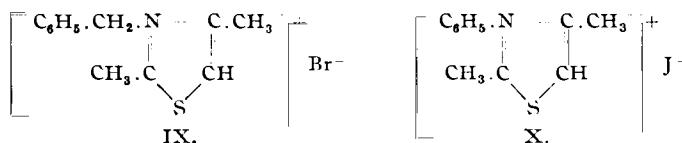
¹³⁾ B. **73**, 941 [1940].

¹⁴⁾ Vergl. Stern u. Melnick, Journ. biol. Chem. **131**, 597 [1939].

¹⁵⁾ Die Gleichung bezieht sich sinngemäß selbstverständlich nur auf das neutrale Salz des Vitamins.

¹⁶⁾ Die ersten Beobachtungen wurden bereits im Dezember 1938 gemacht.

der Versuchsbedingungen mit Aneurin einen positiven Nitroprussidnatrium-Test zu erzielen, wir kamen aber mit *N*-Benzyl-2,4-dimethyl-thiazolium-bromid (IX) und *N*-Phenyl-2,4-dimethyl-thiazolium-jodid (X) glatt zum Ziel.



Diese beiden quartären Ammoniumsalze liefern mit Nitroprussidnatrium in ammoniakalischer Lösung intensive, bei Ausschluß von Licht recht beständige Rotfärbungen. Für die Beständigkeit der roten Farbe ist aber von ausschlaggebender Bedeutung, daß man in ammoniakalischer Lösung und nicht in natronalkalischer Lösung arbeitet, da der Farbkomplex durch starkes Alkali rasch zerstört wird. In starker Natronlauge geben auch die von uns untersuchten Thiazoliumsalze mit Nitroprussidnatrium keine Rotfärbung. Diese Beobachtungen decken sich mit Erfahrungen beim entsprechenden Nachweis etwa der Thiole Cystein oder SH-Glutathion und sind mit einfachen Handversuchen leicht überprüfbar. Wir vermuten, daß auch die negativen Befunde von Zima und Williams an 4-Methyl-5-β-oxyäthyl-thiazol-jodmethylat bzw. -chlormethylat und 4-Methyl-thiazol-jodäthylat darauf zurückzuführen sind, daß in natronalkalischer Lösung gearbeitet wurde, möchten damit jedoch nicht sagen, daß die Substituenten in den Thiazoliumsalzen die Farbreaktion überhaupt nicht beeinflussen können. Besonders interessant ist, daß sich mit dem Nitroprussidnatrium-Test die Geschwindigkeit der Aufspaltung des Thiazolringes direkt sehen läßt, da sich die maximale Farbstärke erst nach einiger Zeit einstellt. Insgesamt gesehen besitzt die aufgefundene Farbreaktion der Thiazoliumsalze alle charakteristischen Merkmale des bekannten Nachweises auf Thiole mittels Nitroprussidnatriums¹⁷⁾ und erscheint daher zur Untersuchung der angestrebten Ringspaltungen besonders geeignet. Unterschiede in der Farbintensität sind von uns¹⁷⁾ früher schon an Thiolcarbonsäuren aufgefunden worden, so daß das abweichende Verhalten von Aneurin auch aus diesem Grund nicht ganz vereinzelt dasteht.

Für die quantitative colorimetrische Bestimmung der Thiazoliumsalze mittels des Pülfrich-Photometers haben wir am Beispiel von *N*-Benzyl-2,4-dimethyl-thiazolium-bromid (IX) die entsprechenden Versuchsbedingungen festgelegt und durch Ermittlung der Eichkurve (Abbild. 1) erwiesen, daß das Beersche Gesetz gut erfüllt ist.

Die Empfindlichkeit der Farbreaktion ist recht groß; 10 γ Salz/ccm lassen sich noch bequem erfassen. Die mit *N*-Phenyl-2,4-dimethyl-thiazolium-jodid (X) erzielbare Farbintensität ist nicht viel schwächer, was durchaus verständlich erscheint.

Thiole kann man ferner mitunter bequem durch ihr Reduktionsvermögen gegenüber 9(18)-Wolframsäure-phosphorsäure (WPS) nachweisen¹⁸⁾. Die

¹⁷⁾ Vergl. Schöberl u. Ludwig, B. **70**, 1422 [1937].

¹⁸⁾ Vergl. Schöberl und Mitarbb., B. **70**, 1186, 1422 [1937]; B. **71**, 2361 [1938].

Heteropolysäure wird dabei zu einer intensiv blauen komplexen Säure reduziert. Wir konnten nun zeigen, daß tatsächlich auch die alkalischen Lösungen der untersuchten Thiazoliumsalze mit Phosphorwolframsäure intensive Blaufärbungen geben, womit erneut die Bildung von SH-Gruppen in solchen Lösungen erwiesen wird. Von besonderer Bedeutung ist es, daß bei dieser Farbreaktion im Gegensatz zum Nitroprussidnatrium-Test auch das antineuritische Vitamin positiv reagiert. Versetzt man also alkalische Lösungen von Aneurin, die einige Zeit gestanden haben, mit Phosphorwolframsäure, so tritt sofort eine intensive blaue Farbe auf, und es ist zu erwarten, daß sich dieser Test nicht nur zum qualitativen Nachweis, sondern auch zur quantitativen Bestimmung des Vitamins wird heranziehen lassen. Damit ist Aneurin ebenfalls in die Gruppe biochemisch wichtiger Naturstoffe eingereiht, die die Heteropolysäure reduzieren. Gegenüber dem SH-Glutathion- und Ascorbinsäurenachweis ist aber auf die stark alkalische Reaktion hinzuweisen, die für die Prüfung auf Aneurin erforderlich ist.

Der Phosphorwolframsäure-Test läßt ebenfalls die Geschwindigkeit der Ringspaltung und damit der Entstehung von Thiolen aus Thiazoliumsalzen und Aneurin deutlich erkennen. Es liegt eine ausgeprägte Zeitreaktion vor, wie dies auf Grund von Gleichung 1 und Erfahrungen bei anderen Stoffklassen auch zu erwarten war. In diesem Zusammenhang sei noch erwähnt, daß bei der Behandlung von *N*-Benzyl-2,4-dimethyl-thiazolium-bromid (IX) und *N*-Phenyl-2,4-dimethyl-thiazolium-jodid (X) mit Natronlauge gelbe Lösungen wie bei Aneurin entstehen und man deshalb nach den Beobachtungen von Zima und Williams schon an dem Auftreten dieser gelben Farbe auf die Ringsprengung rückschließen kann. Für unsere Beispiele trifft daher die Angabe von Zima und Williams nicht zu, daß quartäre Thiazole im Gegensatz zum Aneurin im allgemeinen diese Farbreaktion mit Alkali nicht zeigen sollen.

Wir haben auch den von Rheinboldt¹⁹⁾ angegebenen Nachweis auf Thiole mittels Salpetriger Säure, der auf der Bildung von Nitrosyl-mercaptiden beruht, im vorliegenden Fall überprüft. Jedoch fällt dieser ebenfalls nur mit den einfachen Thiazoliumsalzen, nicht aber mit Aneurin, positiv aus.

Für den Chemismus der H_2S -Abspaltung aus Thiazoliumsalzen kann der folgende Versuch lehrreich werden. *N*-Benzyl-2,4-dimethyl-thiazolium-bromid (IX) wurde mit Natronlauge 1 Stde. unter Ausschluß von O_2 gekocht. Hierbei erfolgte keine Spur einer Abspaltung von H_2S . Man wird daraus den Schluß ziehen, daß das in der alkalischen Lösung vorhandene Thiol stabil

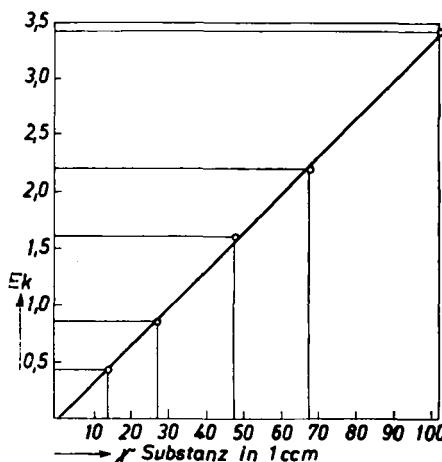
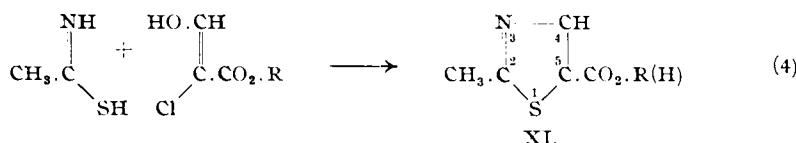


Abbildung 1. Eichkurve für die Bestimmung von *N*-Benzyl-2,4-dimethyl-thiazolium-bromid mit Nitroprussidnatrium.

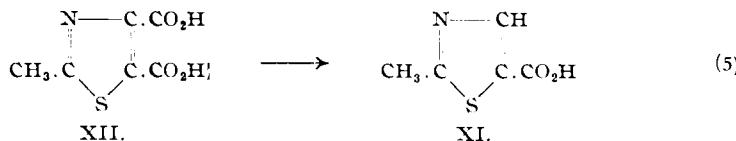
¹⁹⁾ B. 60, 184 [1927].

ist und nicht die Ursache von H_2S -Entstehung sein kann. Vielleicht muß in solchen Fällen dann der Weg über eine gegen Alkali instabile Disulfidstufe gegangen werden. Für diese Ansicht spricht die von Zima und Williams¹⁹⁾ bereits durchgeführte Alkalispaltung des Disulfids aus dem Vitamin, bei der die Entstehung von H_2S und von Aneurin (also des Vitaminthiols, das sich in saurer Lösung in das Thiazoliumsalz zurückverwandelt!) beobachtet wurde. Nach unseren früheren Untersuchungen über die Alkalieinwirkung auf Disulfide²⁰⁾ muß auch hierbei eine hydrolytische Aufspaltung der SS-Bindung als Primärreaktion angenommen werden. Zima und Williams deuteten ihre Befunde nicht und nahmen auch keine quantitative Untersuchung des Spaltungsvorganges vor. Daß bei dem Zwischenprodukt VII eine Aufspaltung mit Lauge unter Bildung eines Thiols gelingt, war zu erwarten.

Die bisher erzielten Ergebnisse ließen es als vordringlich erscheinen, eine größere Zahl verschieden substituierter Thiazoliumsalze in ihrem Verhalten zu überprüfen. Aus gewissen Erwägungen heraus sollten zunächst die quartären Ammoniumsalze von Thiazol-carbonsäuren untersucht werden, und so bauten wir unter Benutzung des Prinzips der bekannten Hantzschschen Thiazolsynthese durch Kondensation von Formyl-chloressigester und Thioacetamid die 2-Methyl-thiazol-carbonsäure-(5)⁹ (XI) auf (Gleichung 4):



Die anfallende, ausgezeichnet krystallisierende Carbonsäure besaß einen Schmp. von 209° und war nicht identisch mit einer schon in der Literatur beschriebenen Thiazol-monocarbonsäure mit dem Schmp. von 144—145°, der Roubleff²¹⁾ ebenfalls die Formel XI zugewiesen hatte. Roubleff stellte allerdings seine Säure auf einem anderen Weg, und zwar durch CO₂-Abspaltung aus der 2-Methyl-thiazol-dicarbonsäure-(4.5) (XII) her und nahm hierbei in Analogie zum Übergang von Chinolinsäure in Nicotinsäure nach Gleichung 5 die Abspaltung der am C-Atom 4 sitzenden CO₂H-Gruppe an:



Wir haben daher die Angaben von Roubleff durch quantitative Verfolgung der CO_2 -Abspaltung aus der Dicarbonsäure nachgearbeitet und wiederum festgestellt, daß dabei eine Monocarbonsäure mit den von diesem Autor angegebenen Eigenschaften entsteht. Zur Erklärung der Verschiedenheit beider Thiazol-monocarbonsäuren liegt die Annahme nahe, daß in der Roubleff-

²⁰⁾ Letzte Mitteil. Schöberl u. Rambacher, A. **538**, 84 [1939]; vergl. auch Schöberl, Angew. Chem. **53**, 227 [1940].

²¹⁾ A. 259, 264 [1890].

schén Säure die isomere 2-Methyl-thiazol-carbonsäure-(4) vorliegt. Da jedoch auch neuerdings Erlenmeyer und von Meyenburg²²⁾ wieder angaben, daß bei der CO_2 -Abspaltung aus der unsubstituierten Thiazol-dicarbonsäure-(4.5) im Sinne von Gleichung 5 die Thiazol-carbonsäure-(5) gebildet wird, möchten wir die endgültige Klärung der Angelegenheit von weiteren Versuchen abhängig machen.

Es sei nochmals ausdrücklich betont, daß die vorliegenden Ergebnisse nur einen ersten Beitrag zur Lösung des Gesamtproblems darstellen. Immerhin kann es schon jetzt als bemerkenswert angesehen werden, daß es gelang, die Chemie des Aneurins und anderer Thiazoliumsalze mit der Thiol-disulfid-Chemie zu verknüpfen. Man darf von dem weiteren Ausbau dieses Arbeitsgebietes in verschiedener Hinsicht neue Erkenntnisse erwarten. Die Versuche werden fortgesetzt.

Für die colorimetrischen Messungen stand ein aus Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft in Berlin beschafftes Pulfrich-Photometer zur Verfügung. Das synthetische Aneurin stiftete die I. G. Farbenindustrie A.-G., Werk Wuppertal-Elberfeld.

Beschreibung der Versuche.

1) *N*-Benzyl-2.4-dimethyl-thiazolium-bromid (IX).

Dieses Salz wurde durch Anlagerung von Benzyl-bromid an 2.4-Dimethylthiazol nach Todd und Mitarbeitern¹²⁾ dargestellt, wobei auf die Vollständigkeit der Reaktion geachtet werden muß. Umkristallisiert wurde 2-mal aus Alkohol-Äther. Schmp. 171°. Das 2.4-Dimethyl-thiazol gewannen wir nach der Synthese von Hantzsch²³⁾ aus Thioacetamid²⁴⁾ und Chloraceton²⁵⁾.

2) *N*-Phenyl-2.4-dimethyl-thiazolium-jodid (X).

Die Darstellung dieses Salzes erfolgte nach einer gleichzeitig von Todd und Mitarbeitern¹²⁾ und Clarke und Gurin⁵⁾ angegebenen, allgemein anwendbaren Methode zur Gewinnung von *N*-Aryl-thiazoliumsalzen durch Kondensation von Thioacetanilid²⁶⁾ mit Chloraceton und Überführung des zunächst entstehenden Chlorides in das Jodid mittels KJ. Führte man die Kondensation nicht in der Siedehitze, sondern bei 15—20° durch, so gelang ohne weiteres die Isolierung des Todd'schen Zwischenproduktes *S*-Acetonyl-thioacetanilid als Hydrochlorid (VII, vergl. Gleichung 3). Dieses Hydrochlorid ließ sich aus Methanol-Äther umkristallisieren. Bei der Schmelzpunktsbestimmung lagerte es sich in das Thiazoliumsalz um. — Die wäßrige Lösung von *S*-Acetonyl-thioacetanilid-chlorhydrat kochte man mehrere Min. mit 2-*n*. NaOH und säuerte die gelbe Lösung nach dem Abkühlen mit 2-*n*. HCl an. Diese Lösung gab mit dem WPS-Reagens eine intensive Blaufärbung (Bicarbonatzusatz) und mit Nitroprussidnatrium eine Rotfärbung (NH_3 -Zusatz).

²²⁾ Helv. chim. Acta **20**, 204 [1937].

²³⁾ A. **250**, 265 [1889].

²⁴⁾ Dargestellt nach Hantzsch (A. **250**, 265 [1889]) aus Acetamid u. umgelöstem P_2S_5 . ²⁵⁾ Vergl. auch Clarke u. Gurin, I. c.

²⁶⁾ Zur Darstellung von Thioacetanilid zogen wir die Umsetzung zwischen Phenylsenföl und Methyl-Mg-jodid nach Sachs u. Loevy (B. **36**, 585 [1903]) der Einwirkung von P_2S_5 auf Acetanilid vor.

3) Einwirkung von heißer Natronlauge auf *N*-Benzyl-2.4-dimethyl-thiazolium-bromid (IX).

Man kochte die Lösung von 200 mg des Thiazoliumsalzes in 10 ccm 2-*n*.NaOH im H₂-Strom 1 Stde. unter Rückfluß. Die anfangs gelbe Lösung wurde in der Hitze farblos. Beim Ansäuern trat keine H₂S-Entwicklung auf. Übrigens zeigte das Brombenzylat auch beim Kochen mit alkalischer Plumbitlösung keine PbS-Bildung, während der Parallelversuch mit Aneurin eindeutig positiv war. Die gekochte Lösung des Thiazoliumsalzes lieferte ferner eine Blaufärbung mit dem WPS-Reagens, eine Braunfärbung bei der Nitrosylmercaptidprobe nach Rheinboldt (vergl. weiter unten) und verbrauchte Jodlösung.

4) Oxydation von *N*-Benzyl-2.4-dimethyl-thiazolium-bromid (IX) in alkalischer Lösung mit Jod (a) oder Luftsauerstoff (b).

a) 135 mg Thiazoliumsalz wurden in 2 ccm Wasser gelöst und dann mit 10 ccm 0.1-*n*.NaOH versetzt. Nach Kühlung in Eiswasser wurde mit 0.1-*n*.Jod titriert, wobei das Jod sofort verbraucht wurde und eine milchige Trübung auftrat. Durch Tüpfelproben ermittelten wir einen Gesamtverbrauch von etwa 5 ccm Jodlösung.

b) 200 mg Thiazoliumsalz löste man in 10 ccm Wasser und versetzte tropfenweise mit 2-*n*.NaOH, bis ein pH von 10 erreicht war. Man konnte durch pH-Kontrolle deutlich verfolgen, wie das Alkali nur recht langsam verbraucht wurde. Die Nitroprussidnatriumreaktion war schon nach wenigen Tropfen NaOH eindeutig positiv (Tüpfelprobe) und nahm mit dem Anstieg der zugesetzten Alkalimenge ebenfalls an Farbstärke zu. Durch Stehenlassen an der Luft und 6-stdg. Durchleiten von Luft bei Anwesenheit einer Spur Eisen II-sulfat schied sich aus der Lösung ein weißer, kristalliner Niederschlag aus, der abgesaugt und mit Wasser gewaschen wurde. Schmelzpunkt dieses Rohproduktes 96—97° (unscharf). Die Nitroprussidnatriumprobe war nach der Oxydation negativ.

5) Farbreaktion auf Thiazoliumsalze mit Salpetriger Säure.

Die Durchführung der von Rheinboldt¹⁹⁾ zum Nachweis von SH-Gruppen angegebenen Farbreaktion, die auf der Bildung von stark gefärbten Nitrosyl-mercaptiden durch nascierende HNO₂ beruht und nur an einfachen Thiolen überprüft wurde, mußte hier eine sinngemäße Abänderung erfahren. Eine Probe des Salzes (*N*-Benzyl(Phenyl)-2.4-dimethyl-thiazolium-bromid (jodid)) in wenig Wasser wurde mit einigen Tropfen 2-*n*.NaOH versetzt und auf das Doppelte mit Äthanol verdünnt. Dann warf man einige Natriumnitrit-Krystallchen ein und ließ Eisessig zutropfen. Es trat eine intensive gelbrote Färbung auf. Die Empfindlichkeit der Farbreaktion wurde nicht überprüft; sie scheint nicht sehr groß zu sein. — Übrigens erhält man auch mit Thiolcarbonsäuren (Thioglykol-, Thiomilchsäure), die in dieser Hinsicht noch nicht überprüft wurden, keine intensiven Färbungen. Thiohydrazysäure und Sulfhydryl-zimtsäure sprechen gar überhaupt nicht an. Auch mit Aneurin war die Farbreaktion negativ.

6) Farbreaktion von Thiazoliumsalzen mit 9 (18)-Wolframsäure-phosphorsäure.

Wäßrige Lösungen von *N*-Benzyl(Phenyl)-2,4-dimethyl-thiazoliumbromid (jodid) und von krystallisiertem, synthetischem Aneurin wurden mit ziemlich viel 2-*n*. NaOH versetzt, wobei in allen drei Fällen bei hinreichender Alkalikonzentration gelbe Lösungen entstanden²⁷⁾. Ließ man dann nach einiger Zeit das WPS-Reagens zutropfen, so traten sofort intensive Blaufärbungen auf, die zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung der Thiazoliumsalze benutzt werden konnten. Störend können weiße Fällungen wirken, die sich in den blauen Lösungen nach einiger Zeit bilden²⁸⁾. Hier erscheint der Hinweis notwendig, daß die Thiazoliumsalze, auch das Aneurin, aus ihrer wäßrigen Lösung durch die Heteropolysäure des WPS-Reagenses quantitativ niedergeschlagen werden. Der wesentliche Einfluß der Dauer der Alkali-einwirkung war gut in sodaalkalischen Lösungen zu beobachten. Man sah bei der Auflösung der Salze in 2-*n*. Na₂CO₃ sehr deutlich eine dauernde Zunahme der Farbintensität. Hierbei zeigten die untersuchten Thiazoliumsalze nicht die gleiche Reaktionsgeschwindigkeit. Besonders rasch reagierte das Vitamin. Zur genauen Untersuchung des gesamten Fragenkomplexes sind umfangreiche Reihenversuche notwendig. Auch in ammoniakalischen Lösungen erfolgte die Reduktion der WPS. Jedoch scheint sich in diesem Fall die Reduktionskraft langsamer als in natronalkalischer Lösung zu entwickeln.

7) Qualitative und quantitative Bestimmung von Thiazoliumsalzen mit Nitroprussidnatrium.

a) Qualitativer Nachweis: Man löst eine kleine Probe des Salzes *N*-Benzyl(Phenyl)-2,4-dimethyl-thiazolium-bromid (jodid) in Wasser, versetzt mit 2-*n*. NH₃ und fügt einige Tropfen frische Nitroprussidnatrium-Lösung zu. Es beginnt sich sofort eine intensive kirschrote Färbung zu entwickeln, die ihr Maximum erst nach einiger Zeit erreicht und recht stabil ist. Natronalkalische Lösungen sind für die Farbreaktion ungünstig. In 2-*n*. NaOH bleicht die Rotfärbung sofort aus, und auch in 0.1-*n*. NaOH ist sie wesentlich instabiler als in ammoniakalischer Lösung²⁹⁾. Mit Aneurin gelingt dieser Nachweis nicht.

b) Quantitative colorimetrische Bestimmungen: Zu den Messungen wurde wie früher bei den Thiolen¹⁸⁾ das Pulfrichsche Stufenphotometer verwendet. Die Ausarbeitung der Methode erfolgte mit *N*-Benzyl-2,4-dimethyl-thiazolium-bromid. Es wurden folgende Lösungen benutzt: 0.001-*m*. Thiazoliumsalz-Lösung in Wasser (27.09 mg in 100 ccm), 0.1-*m*. Nitroprussidnatrium-Lösung (etwa 3 g in 100 ccm Wasser), *n*-NH₃.

²⁷⁾ Die gelbe Lösungsfarbe in methylalkoholischer Natronlauge besitzt eine besonders hohe Intensität.

²⁸⁾ Solche Fällungen entstehen auch mit dem WPS-Reagens allein in soda- oder natronalkalischer Lösung.

²⁹⁾ Die Färbungen in ammoniakalischer und natronalkalischer Lösung unterscheiden sich auch im Farbton. Nach dem Verschwinden der roten Farbe in NaOH sind die Lösungen gelb gefärbt. Die gleiche gelbe Farbe ist zu beobachten, wenn man Nitroprussidnatriumlösung in *n*-NaOH eintropfen läßt. Zu hohe NH₃-Konzentrationen beeinträchtigen übrigens auch die Haltbarkeit der Farbe.

Zur Ermittlung des Einflusses der NH_3 -Konzentration stellten wir die in Tafel 1 verzeichneten Versuche zusammen, die jeweils 3 Tropfen der Nitroprussidnatrium-Lösung enthielten:

Tafel 1.

Thiazoliumsalz- lösung ccm	NH_3 ccm	H_2O ccm	Zeit in Sek. bis zum Beginn der Färbung
1	0.5	8.5	15
1	2	7	8
1	0	9	—

Temperaturerhöhung (55—60°) führte zu einer schnelleren Entwicklung der Farbe. Diese erreichte aber dann nicht ihre volle Stärke, da auch die Zersetzung des Farbkomplexes begünstigt wurde. Schon nach 1—2 Min. war die Farbe nach Gelb umgeschlagen.

Besonders groß erwies sich der Einfluß des Lichtes. Durch Belichtung mit der Photometerlampe bleichte die rote Farbe sehr rasch aus, und auch im Tageslicht war die Beständigkeit der Farbe deutlich herabgesetzt³⁰⁾. Wir fanden jedoch, daß sich die Färbungen im Dunkeln über mehrere Tage hielten und stellten aus diesem Grund die Lösungen für die Messungen nur bei schwach rotem Licht her. Da sich diese Lichtempfindlichkeit naturgemäß besonders stark bei der Ablesung im Stufenphotometer bemerkbar machte, wurden zur Ermittlung eines Absorptionswertes die Cuvetten jeweils 3-mal frisch gefüllt und die Lösungen der Photometerlampe nur sehr kurz ausgesetzt. Bei raschem Arbeiten ließen sich einwandfreie Ergebnisse erzielen.

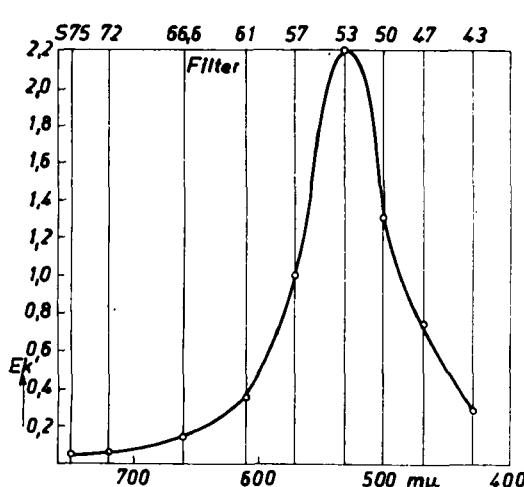


Abbildung 2. Absorptionskurve von *N*-Benzyl-2,4-dimethyl-thiazolium-bromid + Nitroprussidnatrium in ammoniakalischer Lösung.

Zur Ermittlung des Verlaufes der Absorptionskurve und damit für die Auswahl des geeigneten Farbfilters diente folgender Farbansatz: 12.5 ccm Thiazoliumsalzlösung + 2.0 ccm Nitroprussidnatrium-Lösung + 1 ccm NH_3 -Lösung und auf 50 ccm mit Wasser auffüllen. Nach 10 Min. wurde mittels der verschiedenen Farbfilter des Photometers die Extinktion bei geeigneter Schichtdicke (zumeist $s=1$ cm) bestimmt³¹⁾. In Abbild. 2 finden sich die Extinktionskoeffizienten E_k gegen die Wellenlänge aufgetragen.

Für die Aufstellung der Eichkurve wählten wir für

³⁰⁾ Ein Zusatz von KCN bewirkte hier nur eine schwache Stabilisierung.

³¹⁾ Berücksichtigung der Blindwerte in üblicher Weise.

5 verschiedene Substratkonzentrationen folgende Zusammensetzung der Farbansätze: 1, 2, 3, 4, 5 und 7.5 ccm Thiazoliumsalzlösung + 0.5 ccm Nitroprussidnatrium-Lösung³²⁾ + 0.5 ccm NH₃-Lösung. Dann wurde auf 20 ccm aufgefüllt und nach 10 Min. mit dem Grünfilter S 53 gemessen. Tafel 2 enthält die gefundenen Ek und die zur Zeichnung der Eichkurve nötigen Angaben (vergl. Abbild. 1):

Tafel 2.

s in cm.....	1	1	0.5	0.5	0.5
Brombenzylat/ccm	13.6	27.1	47.5	67.8	101.7
Ek f. Filter S 53	0.43	0.86	1.6	2.2	3.41
Ek/10	0.32	0.32	0.34	0.325	0.335

Quantitative Bestimmung von *N*-Phenyl-2,4-dimethyl-thiazolium-jodid: 5 ccm 0.001-*m*. Thiazoliumsalzlösung + 0.5 ccm Nitroprussidnatrium-Lösung + 0.5 ccm NH₃-Lösung auf 20 ccm aufgefüllt und nach 10 Min. mit Filter S 53 und s = 0.5 cm gemessen. Gefunden wurde Ek = 2.04. |

8) 2-Methyl-thiazol-carbonsäure-(5) (XI).

22 g Formylchloressigester, den man nach Wislicenus³³⁾ durch Kondensation von Chloressigsäure-äthylester und Ameisensäure-äthylester mittels Kaliummethylats gewann, wurden auf dem Dampfbad mit 16 g Thioacetaimid behandelt. Es erwies sich als zweckmäßig, die nach dem Durchschmelzen der Komponenten lebhaft einsetzende Reaktion durch kurzes Kühlen in Eiswasser zu mäßigen. Das Reaktionsgemisch (Krystallbrei) färbte sich dabei bräunlich an, und es wurde noch etwa 45 Min. auf dem Dampfbad belassen. Schließlich ließ man abkühlen, versetzte mit Eiswasser und ätherte aus. Nach dem Trocknen der gelbbraun gefärbten ätherischen Lösung mit Natriumsulfat wurde der Äther abdestilliert und der Rückstand (gelbes Öl) im Vak. fraktioniert destilliert. Der Äthylester ging bei 19 mm zwischen 117 und 120° über. Die Ausbeute betrug 13.3 g. Zur Verseifung des Esters wurde nun mit 40 ccm methylalkoholischer Natronlauge, die 3.4 g NaOH enthielten, 2 Stdn. unter Rückfluß gekocht, wobei langsam ein weißer Niederschlag (Na-Salz) ausfiel. Nach dem völligen Abdunsten des Methanols (zuletzt im Vak.) blieb ein schwach gelb gefärbtes Salz zurück, das wir in wenig eiskaltem Wasser lösten und tropfenweise mit 12-*n*. HCl versetzten, bis Kongo-papier geblättert wurde. Dabei entstand ein dicker Brei der rohen Säure. Ausb. 6.8 g. Die Rohsäure wurde aus etwa 300 ccm Wasser unter Zusatz von Carboraffin umkristallisiert. Die reine 2-Methyl-thiazol-carbonsäure-(5) bildet schneeweisse, zentimeterlange Nadeln und schmilzt bei 209° unter lebhaftem Aufschäumen (abgekürztes Thermometer).

Äquivalentgewichtsbestimmung: 26.2 mg Sbst. verbrauchten 18.57 ccm 0.01-*n*. NaOH (Phenolphthalein). Ber. 143.2. Gef. 141.1.

³²⁾ Diese Menge reicht aus, wie durch einen Parallelversuch mit der doppelten Nitroprussidnatriummenge gezeigt wurde.

³³⁾ B. 43, 3528 [1910]. Der Rohester wurde 3-mal sorgfältig fraktioniert destilliert und lag zum großen Teil fest vor. Oftmals gelingt eine Verfestigung flüssiger Fraktionen durch Behandlung mit Petroläther.

2.670 mg Sbst. (im Hochvak. bei 65° über P_2O_5 getr.): 4.13 mg CO_2 , 0.93 mg H_2O . — 3.082 mg Sbst.: 0.276 ccm N_2 (22°, 739 mm). — 29.9 mg Sbst.: 6.70 mg S^{33} .

$C_5H_5O_2NS$ (143.2). Ber. C 41.93, H 3.52, N 9.78, S 22.39.

Gef. „, 42.19, „, 3.94, „, 10.08, „, 22.40.

9) 2-Methyl-thiazol-dicarbonsäure-(4.5) (XII).

Die Dicarbonsäure wurde im wesentlichen nach den Angaben von Roubleff²¹⁾ durch Kondensation von Chloroxalessigsäure-äthylester mit Thioacetamid gewonnen. Jedoch war es vorteilhafter, den Chloroxalessigsäure-äthylester nicht, wie Roubleff angibt, durch Chlorierung von Oxalessigsäure-äthylester mit SO_2Cl_2 , sondern nach Wislicenus³⁵⁾ aus Chloressigester und Oxalsäure-äthylester mittels Na-Äthylats darzustellen. Der Dicarbonsäure-diäthylester ließ sich durch Vakuumdestillation nicht reinigen. Der rohe Ester wurde, wie bei der 2-Methyl-thiazol-carbonsäure-(5) beschrieben, wiederum mit methylalkoholischer Natronlauge verseift und die mit HCl gefällte Säure durch 2-maliges Umkristallisieren aus Wasser unter Zusatz von Carboraffin gereinigt. Schmp. 169°.

Äquivalentgewichtsbestimmung der getrockneten Säure: 6.1 mg Sbst. verbr. 6.50 ccm 0.01-*n*. NaOH (Phenolphthalein). Ber. 93.8. Gef. 93.6.

CO_2 -Abspaltung aus 2-Methyl-thiazol-dicarbonsäure-(4.5): 500 mg der Säure wurden im Ölbad bei 175° bis zum Aufhören der CO_2 -Entwicklung erhitzt. Der Rückstand besaß nach 2-maligem Umlösen aus Wasser einen Schmp. von 145° und bildete dann ein feines, weißes Pulver von sehr kleinen Prismen, die von den langen Nadeln der 2-Methyl-thiazol-carbonsäure-(5) völlig verschieden waren. Während der CO_2 -Abspaltung erfolgte geringe Sublimation einer weißen Substanz vom Schmp. 140°. Auch das Hauptprodukt ließ sich im Vak. bei etwa 120° glatt sublimieren, jedoch änderte sich dabei der Schmelzpunkt der umkristallisierten Substanz nicht (144—145°). Bei der quantitativen CO_2 -Bestimmung war es wegen der Sublimationserscheinungen zweckmäßig, in Diphenylmethan als Lösungsmittel zu arbeiten. 106.6 mg Dicarbonsäure wurden zusammen mit etwa 8 g Diphenylmethan (Schmp. 26°) im Ölbad langsam auf 175° erhitzt, wobei die Substanz um 170° in Lösung ging. CO_2 wurde in vorgelegter 0.1-*n*. Barytlauge (23.8 ccm) aufgefangen. 20 Min. nach Beginn der CO_2 -Entwicklung brach man den Versuch ab. Es wurden 11.5 ccm Lauge verbraucht, entsprechend 101% der für die Abspaltung eines Moleküls ber. CO_2 -Menge. — Aus solchen Spaltungsversuchen in Diphenylmethan wurde die Monocarbonsäure auch präparativ isoliert. Nach der CO_2 -Abspaltung in der eben beschriebenen Weise (z. B. mit 350 mg Dicarbonsäure in 3 g Diphenylmethan) froren wir das Reaktionsgemisch ein, tauten das Lösungsmittel vorsichtig wieder auf und zentrifugierten es rasch wieder ab. Der Rückstand wurde mit Benzin ausgewaschen und dann 2-mal aus Benzin umkristallisiert und im Hochvak. bei 65° getrocknet. Schmp. 143—145° (Sinterung bei 130°).

Äquivalentgewichtsbestimmung: 10.8 mg Monocarbonsäure verbr. 7.53 ccm 0.01-*n*. NaOH (Phenolphthalein). Ber. 143.2. Gef. 143.3.

2.650 mg Sbst.: 4.02 mg CO_2 , 0.86 mg H_2O . — 3.002 mg Sbst.: 0.257 ccm N_2 (19.5°, 742 mm). — 15.6 mg Sbst.: 3.497 mg S.

$C_5H_5O_2NS$ (143.2). Ber. C 41.93, H 3.52, N 9.78, S 22.38.

Gef. „, 41.37, „, 3.63, „, 9.75, „, 22.43.

²⁴⁾ Die S-Bestimmungen wurden durch Verbrennung im Quarzrohr nach der früher beschriebenen Methode vorgenommen (Schöberl u. Mitarbb., Angew. Chem. **50**, 334 [1937]).

³⁵⁾ B. **43**, 3529 [1910].