

beute und als nicht flüchtigen Rückstand die aus C entstehende, chlor-haltige Benzoylverbindung, die beim Animpfen schnell fest wird und sich sofort rein (Schmp. 59–60°) erweist. Ausbeute über 50 % d. Th. Die Reaktion findet mit 10 g ebenso glatt wie mit 300 g statt und läßt sich unter gleichen Bedingungen auf die Homologen des Dibenzoyl-putrescins übertragen. So kann z. B. ⁵⁾ Dibenzoyl-cadaverin mit SOCl_2 ohne jede Verharzung unter Rückgewinnung von etwas Ausgangsmaterial teils zu $\text{Cl} \cdot [\text{CH}_2]_5 \cdot \text{Cl}$, teils zu $\text{Cl} \cdot [\text{CH}_2]_5 \cdot \text{NH} \cdot \text{CO} \cdot \text{C}_6\text{H}_5$ abgebaut werden, deren Mengenverhältnis selbstverständlich etwas vom Destillations-Druck abhängt und mit sinkendem Druck zugunsten von Chloramyl-benzamid verschoben werden kann.

238. Richard Kuhn und Giovanni Moruzzi: Über das Reduktions-Oxydations-Potential des Lacto-flavins und seiner Derivate.

[Aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für medizin. Forschung, Institut für Chemie, Heidelberg.]

(Eingegangen am 4. Juni 1934.)

In der Absicht, den Einfluß der chemischen Konstitution auf das Normal-potential in der Reihe der Flavine kennen zu lernen, haben wir vergleichend mit Lacto-flavin untersucht: Tetraacetyl-lactoflavin¹⁾, Lumi-lactoflavin²⁾, Monomethyl- und Dimethyl-lumilactoflavin³⁾, sowie die durch alkalische Hydrolyse daraus gewonnene Carbonsäure⁴⁾ $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3$. Die Tabelle 1 gibt das Ergebnis der potentiometrischen Titrationen wieder, die reduktiv mit Titantrichlorid bei $p_{\text{H}} = 5.9$ und 20° unter reinem Stickstoff ausgeführt wurden. Je 1–2 mg der Flavin-Präparate wurden in 25 ccm $m/15$ -Phosphat-Puffer gelöst. Zur vollständigen Reaktion waren 1.5–3.0 ccm TiCl_3 -Lösung erforderlich. Bei dem gewählten p_{H} war in keinem Falle das Auftreten einer roten Zwischenstufe im Verlauf der Titrationen zu erkennen. Die Gestalt der Titrationskurven, für die Abbild. 1 einige Beispiele liefert⁵⁾, steht damit in guter Übereinstimmung: Das Index-Potential⁶⁾ $E_i = E_{1/2} - E_{1/4} = E_{3/4} - E_{1/2}$ beträgt nur etwa 0.015–0.020 Volt. Die Zahlen der Tabelle geben das Potential der äquimolekularen Gemische der Flavine und Leuko-flavine (50 % Reduktion) gegen die Normal-Wasserstoff-Elektrode an. Gemessen wurde gegen gesättigte Kalomel-Elektroden; zur Umrechnung auf die Normal-Wasserstoff-Elektrode wurden 0.249 Volt (20°) addiert. Neben den bei $p_{\text{H}} 5.9$ gemessenen Werten sind auch die für $p_{\text{H}} = 7.0$ berechneten verzeichnet.

⁵⁾ nach Versuchen von Frl. A. Jacob.

¹⁾ B. **66**, 1577 [1933], **66**, 1950 [1933].

²⁾ B. **66**, 1950 [1933], **67**, 892 [1934].

³⁾ R. Kuhn u. H. Rudy, B. **67**, 1125 [1934].

⁴⁾ R. Kuhn, H. Rudy u. Th. Wagner-Jauregg, B. **66**, 1950 [1933], **67**, 892 [1934].

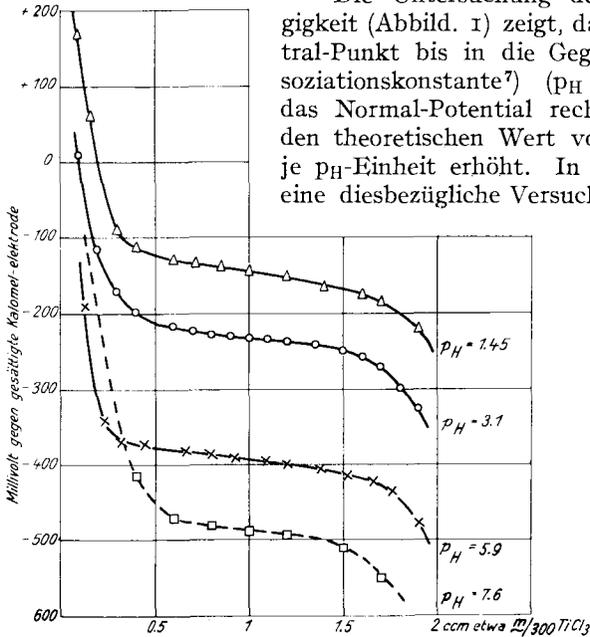
⁵⁾ Von der graphischen Wiedergabe aller Belege wird abgesehen, da die Titrationskurven der untersuchten Flavin-Derivate, insbesondere auch diejenigen für die Carbonsäure $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3$, bei $p_{\text{H}} = 5.9$ durchaus der für Lacto-flavin in Abbild. 1 dargestellten Kurve entsprechen.

⁶⁾ L. Michaelis, Oxydations-Reduktions-Potentiale, 2. Aufl., J. Springer, Berlin 1933, S. 97 u. 121f.

Tabelle 1.

Farbstoff	Formel	Schmp.	Normal-potentiale gegen die Normal-H ₂ -Elektrode bei	
			pH = 5.9	pH = 7.0
Lactoflavin	C ₁₇ H ₂₀ N ₄ O ₆	278°	-0.146 V	-0.21 V
Tetraacetyl-lactoflavin	C ₂₅ H ₂₈ N ₄ O ₁₀	246°	-0.126 V	-0.19 V
Lumi-lactoflavin	C ₁₃ H ₁₂ N ₄ O ₂	334°	-0.156 V	-0.22 V
N-Monomethyl-lumilactoflavin	C ₁₄ H ₁₄ N ₄ O ₂	326°	-0.151 V	-0.215 V
N,N'-Dimethyl-lumilactoflavin	C ₁₅ H ₁₆ N ₄ O ₂	286°	-0.136 V	-0.20 V
Abbau-Carbonsäure	C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₃	215°	-0.136 V	-0.20 V

Die Untersuchung der p_H-Abhängigkeit (Abbild. 1) zeigt, daß vom Neutral-Punkt bis in die Gegend der Dissoziationskonstante⁷⁾ (p_H = 1.7) sich das Normal-Potential recht genau um den theoretischen Wert von 0.058 Volt je p_H-Einheit erhöht. In Tabelle 2 ist eine diesbezügliche Versuchs-Reihe wie-

Abbild. 1: Titration von Lacto-flavin bei wechselndem p_H.

Potentiale gegen die gesättigte Kalomel-Elektrode bei 20°. p_H = 1.45 m/10-Glykokoll-Salzsäure, p_H = 3.1 m/10-Essigsäure-Natriumacetat, p_H = 5.9 m/15-Phosphat-Gemisch; der Versuch p_H = 7.6 ist mit Lumi-lactoflavin (m/15-Phosphat) und Natriumhydrosulfit als Reduktionsmittel ausgeführt. Gesamtvolumen je 25 ccm.

ergegeben, wobei der bei p_H = 5.91 gefundene Wert der Berechnung zugrundegelegt ist.

Tabelle 2.

	Puffer	gef.	ber.	gef. (H ₂ -Elektr.)
p _H = 0.10	n/1-HCl	-0.057	-0.059	+0.192
p _H = 1.45	n/10-HCl-Gl.	-0.143	-0.138	+0.106
p _H = 3.09	n/10-Eg.-Ac.	-0.232	-0.233	+0.017
p _H = 5.91	m/15-Phosph.	-0.395	-0.395	-0.146
p _H = 7.58	m/15-Phosph.	-0.487	-0.492	-0.238

⁷⁾ R. Kuhn u. G. Moruzzi, B. 67, 888 [1934].

Das Ergebnis der Tabelle 1 ist, daß das Redox-Verhalten der Flavine durch alle, teilweise recht tiefgreifenden Veränderungen, die sich bei der Abspaltung der zucker-ähnlichen Seitenkette, bei Acetylierung und Methylierung abspielen, nicht wesentlich verändert wird. Das Normal-Potential der untersuchten Derivate stimmt mit demjenigen des Lacto-flavins durchwegs sehr nahe überein. Unerwartet ist, daß sogar die Carbonsäure $C_{12}H_{12}N_2O_3$, bei der das Absorptionsspektrum der Flavine unter Verlust von 2 N-Atomen bereits zerstört ist, noch immer praktisch dasselbe Redox-Potential besitzt. Es folgt daraus, daß der in seiner Konstitution noch nicht aufgeklärte Bezirk des Flavin-Moleküls, die Stammsubstanz mit nur 2 N-Atomen, das gesamte Reduktions-Oxydations-Verhalten bestimmt. Die Angliederung des alkali-labilen Ringsystems und die weitere Angliederung der zucker-ähnlichen Seitenkette ändern daran fast nichts. Das die Gruppierung $=N-CO-NH-CO-$ enthaltende Ringsystem ist dagegen für die Farbe, nämlich für das charakteristische Absorptionsspektrum der Flavine, ausschlaggebend. Das Hinzukommen der zucker-ähnlichen Seitenkette ändert am Absorptionsspektrum nichts, die weitere Verknüpfung mit einem Protein nur sehr wenig. Die zucker-ähnliche Seitenkette bedingt aber erst die Vitamin-Natur des Lacto-flavins, die in der weiteren Bindung an Protein erhalten bleibt. Die Bindung an Protein schließlich verleiht dem Farbstoff Ferment-Charakter. So ergibt sich ein eindrucksvolles Bild von dem stufenweisen Zustandekommen der verschiedenen wichtigen Eigenschaften, die das „gelbe Ferment“ von O. Warburg und W. Christian in sich vereinigt:

Konstitution			Eigenschaften			
St	—	—	Redox	—	—	—
St + R	—	—	Redox	Farbe	—	—
St + R + Z	—	—	Redox	Farbe	Vitamin	—
St + R + Z + Pr	—	—	Redox	Farbe	Vitamin	Ferment

Hierin ist St = Stammbase $C_{11}H_{10}N_2$, wobei noch ein O-Atom für das Redox-Potential mitverantwortlich sein dürfte; R = Ringsystem mit der Anordnung $-NH-CO-NH-CO-$; Z = zuckerähnliche Seitenkette, vermutlich $-CH(OH)CH(OH).CH(OH).CH_2.OH$ oder ähnlich gebaut; Pr = Protein.

Die von uns gefundenen Potentiale des reinen Lacto-flavins und seiner kristallisierten Derivate stimmen sehr annähernd überein mit denjenigen, die R. Bierich und Mitarbeiter⁸⁾ an ungenügend definierten Flavin-Lösungen aus Hefe und K. G. Stern⁹⁾ an Flavin-Lösungen aus Leber, Malz und Harn bereits kurz mitgeteilt haben. Die genannten Autoren fanden bei $p_H = 7$ durchwegs etwa -0.2 Volt. Die Übereinstimmung ist bemerkenswert, schließt aber etwaige chemische Unterschiede der betreffenden Farbstoffe gegenüber dem von uns untersuchten Flavin der Milch nicht aus, nachdem die Potentiale bei den Derivaten des Lacto-flavins so merkwürdig unabhängig von konstitutiven Veränderungen des Moleküls sind.

In ihrer allgemeinen Bedeutung sind die Potentiale der Flavine, deren Leuko-Verbindungen zu den stärksten Reduktionsmitteln der Zellen und Gewebe gehören, bereits von R. Kuhn und Th. Wagner-Jauregg¹⁰⁾

⁸⁾ R. Bierich, A. Lang u. A. Rosenbohm, Naturwiss. **21**, 496 [1933].

⁹⁾ Nature **133**, 178 [1934].

¹⁰⁾ B. **67**, 361 [1934].

erörtert worden. Am meisten auffallend war die Erkenntnis, daß dem Stoffwechsel Reduktionsmittel von deutlich abgestuftem, immer negativerem Potential zur Verfügung stehen, wenn der Wasserstoff zunächst als $-OH$ an Sauerstoff (Ascorbinsäure etwa $+0.1$ Volt), dann als $-SH$ an Schwefel (Gluthathion ± 0.0 Volt) und schließlich als NH an Stickstoff (Leuko-lactoflavin -0.2 Volt) gebunden auftritt¹¹⁾.

Diese Betrachtungen von R. Kuhn und Th. Wagner-Jauregg sind in einem Vortrag von R. Kuhn¹²⁾ durch den Hinweis ergänzt worden, daß das Potential des Pyocyanins (-0.25 Volt) demjenigen der Flavine nahe liegt. Die Zahl -0.25 Volt war der Monographie von L. Michaelis¹³⁾ entnommen, wo sie als Potential gegenüber der Normal-Wasserstoff-Elektrode angegeben wird. In Wirklichkeit sind aber dort die Potentiale gegen die gesättigte Kalomel-Elektrode wiedergegeben. Der Vergleichswert für Pyocyanin lautet -0.03 Volt. In der ausführlichen Mitteilung von Th. Wagner-Jauregg, H. Rauen und E. F. Möller¹⁴⁾, die colorimetrisch das Potential von Lactoflavin mit Pyocyanin und Rosindulin verglichen haben, ist der Druckfehler in der Monographie bereits berücksichtigt und der richtige Wert für Pyocyanin angegeben.

Bald darauf hat auch K. G. Stern in diesen Berichten¹⁵⁾ mit großer Ausführlichkeit die im Vortrags-Referat¹²⁾ angegebene Zahl berichtigt und auf den Druckfehler in der Monographie von L. Michaelis hingewiesen. An den früher gezogenen Schlußfolgerungen ändert sich nichts, sie erhalten nur noch erhöhte Bedeutung. Man erkennt nämlich, daß die Leuko-flavine ganz besonders starke Reduktionsmittel sind, an die auch das Leuko-pyocyanin bei weitem nicht heranreicht.

Der Rockefeller-Foundation sprechen wir für die Gewährung eines Stipendiums unseren besten Dank aus.

239. L. v. Vargha:

Zur Kenntnis der Acylwanderung in der Zuckergruppe.

[Aus d. I. Chem. Institut d. Kgl. Ungar. Franz-Josef-Universität, Szeged.]

(Eingegangen am 7. Juni 1934.)

Vor einigen Jahren hat K. Josephson durch Tritylierung der 3-Acetyl-monoaceton-glucose eine Substanz erhalten, der er — entsprechend ihrer Synthese — die Formel einer 3-Acetyl-6-trityl-monoaceton-glucose zuerteilte¹⁾. Später verwendete er die Substanz, die am Kohlenstoffatom 5 die einzige freie Hydroxylgruppe tragen soll, zur Synthese eines Glucose-phosphorsäure-esters²⁾, in dem also der 5-Phosphorsäure-ester der Gluco-furanose — eine in biochemischer Hinsicht interessante Substanz — vorliegen soll.

¹¹⁾ R. Kuhn, Über Flavine, IX. Internat. Chemie-Kongreß, Madrid 1934.

¹²⁾ Referat: Angew. Chem. **47**, 105 [1934].

¹³⁾ Oxydations-Reduktions-Potentiale, 2. Aufl., Berlin 1933, J. Springer, S. 123.

¹⁴⁾ Ztschr. physiol. Chem. **224**, 67 [1934].

¹⁵⁾ B. **67**, 654 [1934].

¹⁾ K. Josephson, A. **472**, 217 [1929]; Svensk. kem. Tidskr. **41**, 99 [1929].

²⁾ K. Josephson u. S. Proffe, Biochem. Ztschr. **258**, 147 [1933].