

ging; im Rückstand war sowohl PO_3H wie PO_4H_3 nachweisbar. Das gleiche Resultat ergab sich, als das $\frac{1}{4}$ Mol PCl_5 durch $\frac{1}{3}$ Mol POCl_3 ersetzt wurde.

Von weiteren Amiden wurden untersucht:

o-Nitro-benzamid; der Löslichkeits-Verhältnisse wegen wurde es mit 2.5 Molen POCl_3 40 Min. erwärmt; nach Behandlung mit Wasser resultierte in 95% Ausbeute *o*-Nitro-benzonitril (Schmp. 115°). — Laurinsäureamid, $\text{CH}_3 \cdot [\text{CH}_2]_{10} \cdot \text{CO} \cdot \text{NH}_2$, lieferte nach 40 Min. bei 70° mit $\frac{1}{2}$ Mol POCl_3 , Eingießen in Wasser, Ausäthern und Destillation mit 96% Ausbeute das Nitril der Laurinsäure (Sdp.₁₂ $140-142^\circ$). — Adipinsäureamid, $\text{NH}_2 \cdot \text{CO} \cdot [\text{CH}_2]_4 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH}_2$, ergab mit POCl_3 (1 Mol) äußerst glatt das mit P_2O_5 nicht sehr bequem zu bereitende Dinitril $\text{CN} \cdot [\text{CH}_2]_4 \cdot \text{CN}$. — Dicyclopentyl-essigsäureamid wurde aus dem Säurechlorid (Sdp.₁₁ 140°) mit NH_3 in Äther erhalten; schwer löslich in Äther, Schmp. 215° (Ber. N 7.18. Gef. N 7.38). Es ging mit POCl_3 völlig glatt und quantitativ in 15 Min. in das Nitril über, das unter 0.3 mm bei 90° siedet und schnell zu einer farblosen Krystallmasse vom Schmp. 35° erstarrt.

0.0310 g Sbst.: 2.13 ccm N (17° , 770 mm).

$\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{N}$. Ber. N 7.91. Gef. N 8.19.

Methyl-acetessigsäureamid, $\text{CH}_3 \cdot \text{CO} \cdot \text{CH}(\text{CH}_3) \cdot \text{CO} \cdot \text{NH}_2$, ergab bei der Behandlung mit PCl_5 nur eine braune, harzige Masse. $\frac{1}{2}$ -stdg: Erwärmen mit POCl_3 (1 Mol), Eingießen in Eiswasser, Sättigung mit Pottasche und Ausäthern führte dagegen mit über 60% Ausbeute zu dem bei $68-70^\circ$ unter 12 mm siedenden, früher aus $\text{CH}_3 \cdot \text{CO} \cdot \text{CH}(\text{Cl}) \cdot \text{CH}_3$ und KCN erhaltenen Nitril $\text{CH}_3 \cdot \text{CO} \cdot \text{CH}(\text{CH}_3) \cdot \text{CN}$ ¹³).

0.0294 g Sbst.: 3.47 ccm N (17° , 766 mm).

$\text{C}_5\text{H}_7\text{ON}$. Ber. N 14.4. Gef. N 14.0.

346. Richard Kuhn und Theodor Wagner-Jauregg: Lacto-flavin (Vitamin B₂) aus Leber.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizin. Forschung Heidelberg, Institut für Chemie.]
(Eingegangen am 26. September 1934.)

In der Leber findet sich, wie P. György, R. Kuhn und Th. Wagner-Jauregg¹⁾ gefunden haben, das Vitamin B₂ in einer hochmolekular gebundenen, nicht dialysierbaren Form als Flavo-protein, das vielleicht mit dem gelben Ferment aus Hefe von O. Warburg und W. Christian²⁾ identisch ist. Der Flavin-Gehalt der Rinder-Leber steht nach R. Kuhn, Th. Wagner-Jauregg und H. Kaltschmitt³⁾ in guter Übereinstimmung mit der Wachstums-Wirkung der Leber an B₂-arm ernährten Ratten, wenn man annimmt, daß dem Flavin der Leber dieselbe Vitamin-Wirksamkeit zukommt wie dem aus Milch isolierten Lacto-flavin⁴⁾. Die Identität der Flavine aus Milch und Leber ist aber unbewiesen, obwohl auch letzteres inzwischen

¹³⁾ Beilstein-Handbuch III, 680.

¹⁾ Ztschr. physiol. Chem. **223**, 241 [1934].

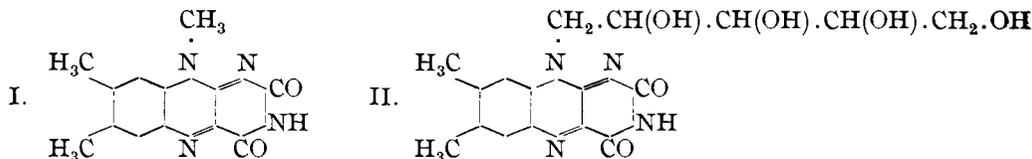
²⁾ Naturwiss. **20**, 688, 980 [1932]; Biochem. Ztschr. **254**, 438 [1932], **257**, 492 [1933].

³⁾ B. **67**, 1452 [1934].

⁴⁾ R. Kuhn, P. György u. Th. Wagner-Jauregg, B. **66**, 1034 [1933].

in krystallisierter Form beschrieben wurde von K. G. Stern⁵⁾, sowie von P. Karrer, H. Salomon und K. Schöpp⁶⁾, die ohne direkten Vergleich Krystall-Habitus, Schmelzpunkt und elementare Zusammensetzung in Übereinstimmung mit der von uns⁴⁾ gegebenen Beschreibung des Lacto-flavins fanden.

Seit 2 Monaten ist die chemische Konstitution des Lumi-lactoflavins, C₁₃H₁₂N₄O₂, durch Abbau und durch Synthese im Sinne der Formel I eines 6.7.9-Trimethyl-flavins gesichert⁷⁾. Unter Berücksichtigung früherer Ergebnisse⁸⁾ ist seither für das Lacto-flavin (Vitamin B₂), C₁₇H₂₀N₄O₆, an erster Stelle das Formelbild II zu diskutieren.



Man erkennt somit jetzt ganz deutlich die Variations-Möglichkeiten, mit denen bei verschiedenen, natürlich vorkommenden Flavinen zu rechnen ist: 1) die am Benzolkern haftenden Methylgruppen, 2) die zucker-ähnliche, in ihrer Konstitution noch nicht endgültig ermittelte Seitenkette. An der Übereinstimmung des tricyclischen Chromophors, der allen Flavinen zugrunde liegt, ist kaum zu zweifeln. Um also eine chemische Identifizierung, z. B. der aus Leber und aus Milch isolierten Farbstoffe, einwandfrei durchzuführen⁹⁾, müßte bewiesen werden, daß in beiden Farbstoffen die 2 Methylgruppen in 6.7-Stellung haften, und daß auch die zucker-ähnlichen Seitenketten übereinstimmen. Es fragt sich, wie weit eine solche Identifizierung möglich ist, wenn nur wenige mg eines Flavin-Präparates zur Verfügung stehen, wie es bei der vorliegenden Untersuchung über den Farbstoff der Leber der Fall war.

Was die Substituenten am Benzolring des Flavinkerns betrifft, so liegen die Verhältnisse durch einen Zufall besonders günstig. Man kann nämlich, wie H. Rudy gefunden hat, durch Einwirkung von 20-proz. Natronlauge im Rohr bei etwa 150° beide Heteroringe der Flavine hydrolytisch aufspalten, wobei man zu *o*-Diaminen der Benzolreihe gelangt¹⁰⁾. Unter allen isomeren Xylylen-*o*-diaminen, deren Kenntnis man E. Nölting verdankt, ist nun allein das 1.2-Dimethyl-4.5-diamino-benzol dadurch ausgezeichnet, daß es mit Ferrichlorid eine grünblaue Farbreaktion gibt. Nach H. Rudy ist das aus Lumi-lactoflavin entstehende 1.2-Dimethyl-4-amino-5-methylamino-benzol durch denselben Ausfall der Eisenchlorid-Reaktion ausgezeichnet. Diese Sonderstellung ist offenbar durch die Besetzung beider *p*-Stellungen zu den Stickstoffatomen bedingt, wodurch die roten bis braunroten Farbreaktionen (*o*-Phenylendiamin gibt bekanntlich mit Ferrichlorid das rote

⁵⁾ Nature **132**, 784 [1933].

⁶⁾ Helv. chim. Acta **17**, 419 [1934].

⁷⁾ R. Kuhn, K. Reinemund u. F. Weygand, B. **67**, 1460 [1934].

⁸⁾ R. Kuhn, H. Rudy u. Th. Wagner-Jauregg, B. **66**, 1950 [1934].

⁹⁾ Die Schmelzpunkte der Flavine hängen von der Art des Erhitzens ab. Das Schmelzen erfolgt stets unter Zersetzung.

¹⁰⁾ Synthetische Flavine verhalten sich ebenso: R. Kuhn u. F. Weygand, B. **67**, 1459 [1934].

2,3-Diamino-phenazin) der anderen Toluyl- und Xylylen-*o*-diamine nicht zustande kommen können. Man hat so die Möglichkeit, mit kleinsten Substanzmengen zu entscheiden, ob ein neu isoliertes Flavin in 6- und 7-Stellung Substituenten trägt, wie Lacto-flavin, oder nicht.

Weniger günstig liegen vorerst die Verhältnisse für die Identifizierung der zucker-ähnlichen Seitenketten. Hier ist die optische Aktivität, die das Lacto-flavin zwar nicht in neutraler, wohl aber in alkalischer Lösung erkennen läßt¹¹⁾ ($[\alpha]_D^{20} = -120^{\circ}$ in $n/20$ -NaOH) ein wichtiger Vergleich, der sich mit wenigen mg Farbstoff anstellen läßt.

Das von uns aus Leber in krystallisierter Form erhaltene Flavin hat sich nach Schmp. und Misch-Schmp., nach elementarer Zusammensetzung und spektroskopisch vom Lacto-flavin aus Milch nicht unterscheiden lassen. Es stimmt mit diesem überdies in der alkalischen Spaltungsprobe (Eisenchlorid-Reaktion) und in der optischen Aktivität überein. Wir halten daher die aus Leber und Milch isolierten Flavine für chemisch identisch und besondere Namen¹²⁾ für entbehrlich. Die gemeinsame Bezeichnung Lacto-flavin ergibt sich daraus, daß der Farbstoff der Milch als erster in krystallisierter Form isoliert und genau beschrieben wurde⁴⁾, sowie daraus, daß sich dieser Farbstoff in der Milch in freiem Zustande (nicht hochmolekular gebunden, wie in der Leber) vorfindet.

In krystallisierter Form ist bisher nur ein sehr geringer Bruchteil des in der Leber vorkommenden Flavins (weniger als 10%) erhalten worden. Die Möglichkeit, daß neben Lacto-flavin noch andere Flavine in der Leber vorkommen, die sich wie Ovo-flavin auch in der Wachstums-Wirkung¹³⁾ unterscheiden könnten, lassen wir demgemäß offen. Nach dem an B_2 -arm ernährten Ratten ausgeführten biologischen Vergleich ist die Wachstums-Wirkung des aus Leber isolierten Lacto-flavins derjenigen des Lacto-flavins aus Milch sehr ähnlich.

Beschreibung der Versuche.

Als Ausgangsmaterial dienten 90 kg Preßrückstände von Rinderleber, die hydraulisch ausgepreßt war. Im Preßsaft ist viel Vitamin B_2 (Flavin) enthalten, das hier nicht weiter untersucht wurde. Aufarbeitung: 1) Auskochen der Preßrückstände mit Wasser, 2) Adsorption des Vitamins aus salzsaurer Lösung an Fuller-Erde und Elution des Adsorbats mit wasserhaltigem Pyridin-Methanol, 3) Fällung als Silbersalz, Zerlegung des Niederschlags mit Schwefelwasserstoff. Hiernach lagen 500 ccm einer gelben, grün fluoreszierenden Lösung vor, die rund 50000 B_2 -Einheiten (H. C. Sherman), entsprechend etwa 500 mg Lacto-flavin in 5.0 g Trockensubstanz, enthielten (Reinheitsgrad: 10%). 4) Adsorption des Flavins aus neutraler Lösung an Frankonit KL und Elution mit wäßrigem Pyridin-Methanol, 5) Fällung von Begleitstoffen (wenig) mit Pikrinsäure, ausäthern, 6) Fällung als Thallium(I)-salz aus ammoniakalischer Lösung, 7) Fällung als Silbersalz. Zuletzt wurde aus 2-n. Essigsäure, aus 96-proz. Alkohol und nochmals aus verd. Essigsäure umkrystallisiert.

¹¹⁾ R. Kuhn, IX. Congreso internacional de química pura y aplicada, Über Flavine, S. 7, Madrid, April 1934.

¹²⁾ Hepato-flavin, Hepa-flavin.

¹³⁾ P. György, R. Kuhn u. Th. Wagner-Jauregg, Ztschr. physiol. Chem. **223**, 241 [1934].

Der so erhaltene Farbstoff (48 mg) bestand aus orangefarbenen, vielfach büschelig vereinigten Nadeln, die unter gekreuzten Nicols gerade Auslöschung zeigten. Schmp. 276° (Berl-Block, unt. Zers., nach vorangehender Dunkel-färbung).

Zur Analyse wurde bei 100° über P₂O₅ im Hochvakuum getrocknet. 2.888 mg Sbst.: 5.73 mg CO₂, 1.43 mg H₂O. — 2.283 mg Sbst.: 0.290 ccm N (25°, 756 mm).

C₁₇H₂₀N₄O₆. Ber. C 54.23, H 5.36, N 14.89.

Gef. „ 54.20, „ 5.54, „ 14.47.

In wäßriger Lösung war wie bei Lacto-flavin aus Milch kein Drehungsvermögen zu erkennen ($c = 0.088\%$, $l = 1$ dm, $\alpha_D^{20} = -0.01^\circ$). In $n/20$ -Natronlauge fanden wir:

$$[\alpha]_D^{20} = (-0.155^\circ \times 100) : (0.132 \times 1) = -118^\circ \pm 10^\circ.$$

Lacto-flavin aus Milch zeigte unter gleichen Bedingungen:

$$[\alpha]_D^{20} = (-0.13^\circ \times 100) : (0.103 \times 1) = -126^\circ \pm 10^\circ.$$

Die licht-elektrische Photometrie ($c = 0.088\%$, Wasser) ergab im Verlauf der Absorptionskurve und in der Lage der Maxima vollkommene Übereinstimmung mit Lacto-flavin¹⁴⁾. Der Misch-Schmelzpunkt mit Lacto-flavin aus Milch vom Schmp. 276° lag bei genau gleicher Temperatur.

Der I.-G. Farbenindustrie A.-G., Werk Elberfeld, sprechen wir für die freundliche Unterstützung der vorliegenden Arbeit unseren besten Dank aus.

347. H. Staudinger und B. Ritzenthaler: Über hochpolymere Verbindungen, 102. Mitteil.¹⁾: Über Poly-isopropenyl-methyl-keton²⁾.

[Aus d. Chem. Universitäts-Laborat. Freiburg i. Br.]

(Eingegangen am 25. September 1934.)

Zur Aufklärung der Konstitution von hochmolekularen kolloid-löslichen Substanzen, wie Kautschuk, wurde als Modell vor allem das Poly-styrol³⁾ untersucht. Dort konnte durch Herstellung einer polymer-homologen Reihe der Zusammenhang zwischen Molekülgröße und „hochmolekularen Eigenschaften“, z. B. Kolloidlöslichkeit, ermittelt werden. Durch solche Untersuchungen wurde der Beweis geliefert, daß die Kolloidteilchen des Eu-poly-styrols in Lösungen nicht micellar, sondern makro-molekular gelöst sind. Ein direkter Beweis für die makro-molekulare Struktur im Sinne der klassischen organischen Chemie konnte dort nicht erbracht werden; denn es gelang nicht, das eu-kolloide Poly-styrol in polymer-analoge⁴⁾ Produkte überzuführen, wie dies beim Kautschuk⁵⁾ und der Cellulose⁶⁾ der Fall ist.

¹⁴⁾ vergl. die Abbild. B. 66, 1034 [1933].

¹⁾ 101. Mitteil. erscheint gleichzeitig in der Ztschr. für physikal. Chem., 100. Mitteil. in Naturwiss.; 99. Mitteil.: B. 67, 1242 [1934].

²⁾ Vorstehende Arbeit wurde vor 3 Jahren experimentell abgeschlossen.

³⁾ vergl. die Mitteilungen über das Poly-styrol im Buch von H. Staudinger: Die hochmolekularen organischen Verbindungen — Kautschuk und Cellulose (VerlagSpringer, Berlin 1932), S. 157 ff; im folgenden als „Buch“ zitiert.

⁴⁾ vergl. H. Staudinger u. H. Scholz, B. 67, 85 [1934].

⁵⁾ vergl. H. Staudinger u. E. O. Leupold, B. 67, 304 [1934].

⁶⁾ vergl. H. Staudinger u. H. Scholz, B. 67, 84 [1934].