Konstantan-Thermopaar, das bei der Kondensation in den Kühler und bei der Destillation in das Rohr G des Kondensators eingesetzt wird.

In diesem Kondensator kann man 200 l des Roh-Paraffins reinigen und etwa 100 l des reinen Paraffins erhalten.

Paraffin	Sdp.	Abkühlungs-Temp. des Kondensators	Temp.-Intervall für die Destillat. d. reinen Paraffins
Äthan	—89°	—130° bis —150°	—95° bis —85°
Propan	—45°	—90° „ —110°	—50° „ —40°
Isobutan	—10°	—50° „ —70°	—15° „ — 5°

Die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Vervollkommnungen des Verfahrens von Sabatier und Senderens haben folgende Vorteile: 1) der Verlust von 30% Olefin ist beseitigt; 2) der Verbrauch von Brom, sowie die umständliche Absorption großer Olefin-Mengen durch Brom scheiden aus; 3) die erhaltenen Paraffine sind frei von Olefin-dibromiden; 4) durch Reinigung der Roh-Paraffine mittels tiefer Abkühlung werden Produkte von 92—94% (statt von 80%) Reinheit erhalten.

15. Oktober 1934.

---

34. Richard Kuhn und Friedrich Weygand: 6.7-Dimethyl-9-*l*-arabo-flavin.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizin. Forschung, Heidelberg, Institut für Chemie.]

(Eingegangen am 24. Dezember 1934.)

Unter den 8 stereoisomeren 6.7-Dimethyl-9-[tetraoxy-*n*-amyl]-flavinen, deren Formeln auf Grund der Synthese von R. Kuhn und F. Weygand[1]) für das natürliche Lacto-flavin in Betracht kommen, läßt sich an Hand des optischen Drehungsvermögens eine engere Auswahl treffen. Das natürliche Lacto-flavin ist in $n/_{20}$-Natronlauge links-drehend. Das spezifische Drehungsvermögen $[\alpha]_D^{20} = -115^0$ stimmt für Präparate aus Milch[2]), Leber[3]) und Luzerne[4]) innerhalb der Fehlergrenzen überein. Das synthetische 6.7-Dimethyl-9-*l*-arabo-flavin, das an B_2-arm ernährten Ratten gute Wachstums-Wirkung zeigt[5]), ist nun, wie wir gefunden haben, ebenfalls links-drehend. Polarimetrisch geprüft wurden 2 Präparate verschiedener Darstellung, von denen das eine aus dem *p*-Toluol-sulfonsäure-ester des 1.2-Dimethyl-4-nitro-5-oxy-benzols (I), das andere aus

[1]) B. **67**, 1939 [1934].

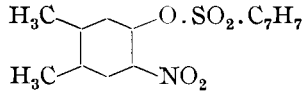
[2]) R. Kuhn nach Messungen von Th. Wagner-Jauregg, IX. Congreso internacional de quimica, Madrid, April 1934.

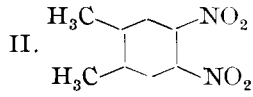
[3]) R. Kuhn u. Th. Wagner-Jauregg, B. **67**, 1770 [1934].

[4]) R. Kuhn u. H. Kaltschmitt, B. **68**, 128 [1935].

[5]) R. Kuhn u. F. Weygand, B. **67**, 2084 [1934].

1.2-Dimethyl-4.5-dinitro-benzol (II) durch Kondensation mit *l*-Arabinamin usw. bereitet war.

I. 

II. 

Das synthetische Tetraacetyl-6.7-dimethyl-9-*l*-arabo-flavin krystallisiert aus verd. Essigsäure in goldgelben, regelmäßig ausgebildeten Prismen von gerader Auslöschung, die denjenigen des natürlichen Tetraacetyl-lacto-flavins vollkommen gleichen. Absorptionsspektrum, Farbstärke (Stufen-Photometer) und Fluorescenz (p_H-Abhängigkeit), sowie das chromatographische und photochemische Verhalten (Bildung von 6.7.9-Trimethyl-flavin) sind gleichfalls zum Verwechseln ähnlich. Die folgenden Bestimmungen sind wie bei Lacto-flavin mit der Tetraacetylverbindung ausgeführt, aber auf freien Farbstoff umgerechnet:

Präparat I: $[\alpha]_D^{20} = (-0.10^0 \times 100) : (0.079 \times 1) = -127^0$,

Präparat II: $[\alpha]_D^{20} = (-0.16^0 \times 100) : (0.145 \times 1) = -110^0$.

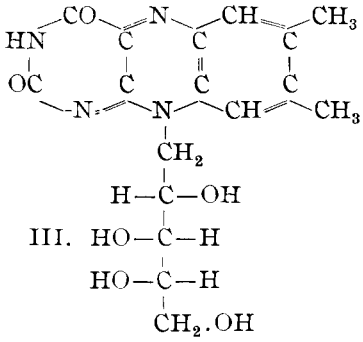
Das Drehungs-vermögen stimmt somit innerhalb der Fehlergrenzen mit demjenigen des Lacto-flavins (—115°) überein.

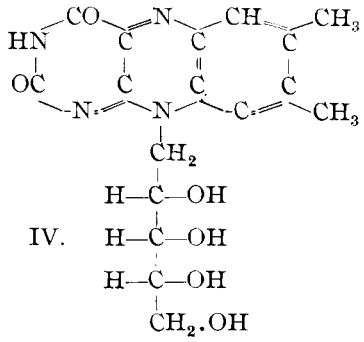
Eine N-Bestimmung des Präparats II ergab: 1.691 mg Sbst.: 0.150 ccm N (19°, 749 mm).

$C_{25}H_{28}N_4O_{10}$ (544.2). Ber. N 10.29. Gef. N 10.22.

Die *l*-Arabinose, von der unsere Synthese ausgegangen ist, dreht stark rechts; der Übergang zur starken Linksdrehung des Flavins vollzieht sich bereits bei der Bildung des *l*-Arabinamins, das schwach linksdrehend ist.

Die Übereinstimmung des Drehungsvermögens zwischen dem synthetischen und dem natürlichen Vitamin wird bindende Schlußfolgerungen erst gestatten, wenn die in Gang befindlichen Synthesen aus anderen Zuckern erkennen lassen, wie weit die Stellung einzelner Hydroxylgruppen das Drehungsvermögen und die Wachstums-Wirkung der entsprechenden Flavine zu beeinflussen vermag. Nimmt man an, daß die dem Chromophor am nächsten stehende Hydroxylgruppe über den Sinn der Drehung entscheidet, so kommen *l*-Arabinose, *d*-Xylose, *l*-Lyxose und *d*-Ribose in Betracht. Mit Sicherheit auszuschließen ist *d*-Arabinose. Neben der *l*-Arabinose ziehen wir besonders in Betracht die *d*-Ribose, wonach dem Lacto-flavin Formel III oder IV zukäme.

III. 

IV. 

Das synthetische 6.7-Dimethyl-9-*l*-arabo-flavin (III) wurde in orientierenden Versuchen auf sein Kupplungs-Vermögen mit dem kolloiden Träger des gelben Ferments von O. Warburg und W. Christian geprüft. Als kolloider Träger dienten bis einschließlich der Chloroform-Stufe nach O. Warburg und W. Christian gereinigte Ferment-Präparate aus Hefe, aus denen durch Dialyse gegen ganz verd. Salzsäure nach H. Theorell[6]) die Farbstoff-Komponente entfernt war. Es ergab sich, daß solche Eiweiß-Lösungen bei neutraler Reaktion den Farbstoff nur zu einem sehr geringen Teil zu binden vermögen[7]). In quantitativen Versuchen, die Hr. Th. Wagner-Jauregg vergleichend mit Lacto-flavin ausgeführt hat, ergab sich, daß dieser geringe Effekt durchaus unspezifisch ist[8]) und die katalytischen Wirkungen (Hexose-monophosphorsäure, *l*-Äpfelsäure), die zu erwarten waren, wenn der synthetische oder natürliche Farbstoff $C_{17}H_{20}N_4O_6$ die wirksame Gruppe des gelben Ferments im Versuch von H. Theorell[6]) ersetzt hätte, ausblieben.

Ganz neuerdings hat nun H. Theorell[9]) mitgeteilt, daß auch der aus reinem (krystallisiertem) gelben Ferment gewonnene Eiweißkörper (kolloider Träger) mit Lacto-flavin nicht reagiert. Er hat entdeckt, daß bei der Denaturierung des gelben Ferments neben der Farbstoff-Komponente noch 1 Mol Phosphorsäure auftritt. Die Vorstellung, daß im Lacto-flavin (Vitamin B_2) ein Pro-ferment[10]) vorliegt, kann jetzt auch in Anbetracht der ergebnislosen Paarungs-Versuche mit dem kolloiden Träger *in vitro* bestehen bleiben, wenn man annimmt, daß nicht Lacto-flavin selbst, sondern eine Lacto-flavin-phosphorsäure die „wirksame Gruppe" des Ferments darstellt. Da im Tier-Versuch schon das Lacto-flavin als „wirksame Gruppe" in Erscheinung tritt, ist anzunehmen, daß dem Organismus nicht nur die Paarung dieses Vitamins mit einem Protein, sondern auch die Veresterung mit Phosphorsäure überlassen bleibt: Vitamin + Phosphorsäure + Protein ⇌ Ferment.

Aus seiner Entdeckung hat H. Theorell[9]) den Schluß gezogen, daß die Wirkungsgruppe des gelben Ferments ein „Nucleotid" ist[11]), in dem an Stelle eines Purins das 6.7-Dimethyl-alloxazin vorkommt. Dazu möchten wir bemerken: 1) Auf Grund der von uns durchgeführten Synthesen halten wir es für ausgeschlossen, daß dem gelben Ferment das 6.7-Dimethyl-alloxazin zu Grunde liegt, und für bewiesen, daß die farbige Stammsubstanz das 6.7-Dimethyl-*iso*-alloxazin = 6.7-Dimethyl-flavin ist. Der große spektroskopische Unterschied zwischen Alloxazinen und Flavinen und die nahe spektroskopische Übereinstimmung zwischen den synthetischen Flavinen und dem gelben Ferment lassen daran keinen Zweifel. Würde sich das Ferment vom Alloxazin ableiten, so könnte sich die zucker-ähnliche Seitenkette — wenn man nicht ammoniumsalz-artige Bindung annehmen will — nicht in 9-Stellung befinden, und sie müßte bei der Abspaltung des Proteins bzw. der Phosphorsäure erst an diesen Ort wandern, was sehr unwahrscheinlich ist. 2) Im Gegensatz zu den Nucleosiden läßt sich die zucker-ähnliche Seitenkette des Lacto-flavins

[6]) Biochem. Ztschr. **272**, 155 [1934].

[7]) Dies wurde von R. Kuhn in einem Vortrag (Kolloquium des Kaiser-Wilhelm-Instituts, Heidelberg 26. Nov. 1934) demonstriert.

[8]) Nach Versuchen von Dr. W. Franke vermögen auch Legumin, Ricin, Kaninchen-Serum, Insulin, Hefe-Nucleinsäure und andere Proteine nicht Lacto-flavin spezifisch zu binden.

[9]) Biochem. Ztschr. **275**, 37 [1934].

[10]) R. Kuhn, Naturwiss. **21**, 561 [1932]; Mitteill. d. Kaiser-Wilhelm-Ges. **2**, 13 [1933].

[11]) Die Anführungszeichen stammen von H. Theorell.

nicht hydrolytisch abspalten[12]). Dieser grundsätzliche Unterschied schließt natürlich etwaige genetische Beziehungen zu echten Nucleotiden nicht aus. Vielleicht ist bei gelben Fermenten verschiedener Herkunft auch die noch unbekannte Stellung des Phosphorsäure-Restes verschieden, wie bei den Adenylsäuren aus Hefe und aus Muskel.

Der Mangel an Hydroxylgruppen, welche für die Veresterung der Phosphorsäure in Betracht kommen, macht es verständlich, daß das synthetische 6.7-Dimethyl-9-*n*-amyl-flavin[13]) auch in Gaben von 100 γ je Tag keine Wachstums-Wirkung an B_2-arm ernährten Ratten zeigt.

---

35. Richard Kuhn und Hermann Rudy: Über die optische Aktivität des Lacto-flavins.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizin. Forschung, Heidelberg, Institut für Chemie.]

(Eingegangen am 24. Dezember 1934.)

In neutraler wäßriger Lösung zeigt Lacto-flavin kein meßbares Drehungsvermögen, in alkalischer Lösung ist es stark linksdrehend (Th. Wagner-Jauregg). Für den Vergleich mit stereoisomeren synthetischen Flavinen $C_{17}H_{20}N_4O_6$ ist es von Wichtigkeit, die optische Aktivität unter verschiedenen Bedingungen genauer zu kennen. Die folgenden Messungen zeigen, daß so wie in neutraler Lösung auch in 2-*n*. Schwefelsäure, worin Lacto-flavin als Kation nicht fluoresciert, das Drehungsvermögen unmeßbar gering ist. In den ebenfalls nicht fluorescierenden alkalischen Lösungen[1]) wird maximale Links-Drehung beobachtet, wenn auf 1 Mol Farbstoff 1 Mol Natronlauge oder nur wenig mehr trifft. Bei höherem Alkali-Gehalt nimmt das Drehungsvermögen wieder ab. Durch Ammoniummolybdat (1 MoO_3 : 1 Lacto-flavin in $n/_{25}$-NaOH) wird die optische Aktivität nicht verändert, durch Borax (halb-gesättigt in $n/_{25}$-NaOH) aber in starke Rechtsdrehung verwandelt. Die stark fluorescierende Lösung in Eisessig dreht ziemlich weit links. Es kommt also nicht nur auf den elektro-chemischen Zustand des amphoteren Farbstoffs an, sondern in Übereinstimmung mit der Erwartung auch auf das Lösungsmittel.

$[\alpha]_D^{20} = (\pm 0.01^0 \times 100) : (0.169 \times 2) = \pm 3^0$ (2-*n*. Schwefelsäure),
$[\alpha]_D^{20} = (\pm 0.01^0 \times 100) : (0.211 \times 1) = \pm 5^0$ (Wasser, $n/_{100}$-NaCl),
$[\alpha]_D^{20} = (-0.56_5^0 \times 100) : (0.492 \times 1) = -114^0$ ($n/_{75}$-Natronlauge),
$[\alpha]_{Cd}^{20} = (-0.34_6^0 \times 100) : (0.492 \times 1) = -70.5^0$ ($n/_{75}$-Natronlauge),
$[\alpha]_D^{20} = (-0.51_4^0 \times 100) : (0.447 \times 1) = -115^0$ ($n/_{10}$-Natronlauge),
$[\alpha]_{Cd}^{20} = (-0.26_8^0 \times 100) : (0.447 \times 1) = -60^0$ ($n/_{10}$-Natronlauge),
$[\alpha]_D^{20} = (-0.52_4^0 \times 100) : (0.473 \times 1) = -110.5^0$ ($n/_5$-Natronlauge),
$[\alpha]_{Cd}^{20} = (-0.28_4^0 \times 100) : (0.473 \times 1) = -60^0$ ($n/_5$-Natronlauge),
$[\alpha]_D^{20} = (-0.326^0 \times 100) : (0.418 \times 1) = -78^0$ (1.4-*n*. Natronlauge),
$[\alpha]_{Cd}^{20} = (-0.14_3^0 \times 100) : (0.418 \times 1) = -34^0$ (1.4-*n*. Natronlauge),
$[\alpha]_D^{20} = (-0.56^0 \times 100) : (0.227 \times 2) = -123.5^0$ (Molybdänsäure)[2]),

---

[12]) R. Kuhn u. Th. Wagner-Jauregg, B. **66**, 1577 [1933].

[13]) R. Kuhn u. F. Weygand, B. **67**, 1941 [1934].

[1]) Zur p_H-Abhängigkeit der Fluorescenz vergl. R. Kuhn u. G. Moruzzi, B. **67**, 888 [1934].

[2]) 22.656 mg Lacto-flavin + 10.665 mg Ammoniummolybdat (4 H_2O) in 10 ccm $n/_{25}$-Natronlauge.