

E. Schlittler und H. Fritzsche¹¹⁾ geben an, daß diese Verbindung auch bei der alkalischen Photolyse nach O. Warburg und W. Christian⁹⁾ entsteht. Nach eigenen Versuchen mit reinem Lacto-flavin möchten wir annehmen, daß daneben auch die Einwirkung von Licht bei der Aufarbeitung der Molke in neutraler oder schwach saurer Lösung Berücksichtigung verdient, wenn nicht neben dem Lacto-flavin noch andere Bestandteile der Milch für den Ursprung in Frage kommen.

37. Richard Kuhn: *Bemerkungen zu Abhandlungen von P. Karrer und Mitarbeitern über Flavine.*

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizin. Forschung, Heidelberg, Institut für Chemie.]
(Eingegangen am 24. Dezember 1934.)

I. Vitamin B₂ und Flavine.

1) Im März dieses Jahres erschien eine Abhandlung von P. Karrer¹⁾ über Flavine, die mit folgendem Prioritäts-Anspruch beginnt: „Seit mehr als 1½ Jahren sind in unserem Laboratorium Versuche zur Isolierung des B₂-Vitamins aus Leber im Gang; eine erste kurze Mitteilung darüber erschien vor längerer Zeit²⁾. Inzwischen wurden die Arbeiten von Warburg und Christian³⁾, Ellinger und Koschara⁴⁾, Kuhn, György und Wagner-Jauregg u. a.⁵⁾ bekannt...“ Gegen diese Darstellung, insbesondere gegen die Wendung „inzwischen wurden bekannt“, muß Verwahrung eingelegt werden, zugleich für O. Warburg und W. Christian, Ph. Ellinger und W. Koschara, P. György und Th. Wagner-Jauregg. Die Unrichtigkeit der Darstellung ist dem Leser für die bereits 1932 erschienenen Arbeiten über das „gelbe Ferment“ von O. Warburg und W. Christian ohne weiteres ersichtlich; nicht dagegen für die Untersuchungen über die Fluoreszenz tierischer Organe und Produkte von Ph. Ellinger und W. Koschara, sowie für die Befunde des hiesigen Instituts über die Farbstoff-Natur des Vitamins B₂, die erst 1933 erschienen sind. P. Karrer¹⁾ zitiert nun diese Abhandlungen, die bereits durch das Februar-Heft 1933 dieser Berichte bekannt waren, ohne näheres Datum, während bei seiner eigenen Notiz vom Jahre 1933 „April“ vermerkt ist. Daß die Arbeit von R. Kuhn, P. György und Th. Wagner-Jauregg „Über eine neue Klasse von Naturfarbstoffen“, die am 6. Februar erschienen war, bis Mitte April Hrn. P. Karrer unbekannt geblieben ist, wie man aus seinem eingangs zitierten Anspruch schließen muß, ist nicht anzunehmen. Der von P. Karrer¹⁾ angegebene Sachverhalt steht im Widerspruch zu der, für den Leser der *Helv. chim. Acta* freilich nicht ersichtlichen, Tatsache, daß seine kurze Mitteilung im (schwedischen) *Ark. Kemi*²⁾ einen Hinweis auf die Arbeiten der anderen Forscher enthielt.

¹¹⁾ *Helv. chim. Acta* **17**, 1010 [1934].

¹⁾ P. Karrer, H. Salomon u. K. Schöpp, *Helv. chim. Acta* **17**, 419 [16. II.—15. III 1934]. ²⁾ P. Karrer, H. v. Euler, *Ark. Kemi* **11**, (B) Nr. 16 [April 1933].

³⁾ *Naturwiss.* **20**, 688, 980 [1932]; *Biochem. Ztschr.* **254**, 438 [1932], **257**, 492 [1932].

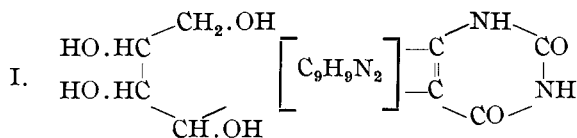
⁴⁾ *B.* **66**, 315, 1411 [1933].

⁵⁾ *B.* **66**, 317, 576, 1577, 1950 [1933].

2) P. Karrer⁶⁾ hält die Bemerkungen, welche R. Kuhn, Th. Wagner-Jauregg und H. Kaltschmitt⁷⁾ zur Isolierung des Flavins aus Leber durch P. Karrer, H. Salomon und K. Schöpp⁸⁾ gemacht haben, für unberechtigt. Die Ausbeute an kristallisiertem Farbstoff sei zwar sehr gering, aber etwa gleich groß gewesen wie diejenige, die R. Kuhn und Th. Wagner-Jauregg⁹⁾ in einer nachfolgenden Arbeit erzielt haben. Unsere Angabe, daß die aus 300 kg Frisch-leber isolierte Flavin-Menge von 30 mg bereits in 2 kg Frisch-leber enthalten ist, bleibt bestehen. Unsere Kritik hat sich, wie aus dem Wortlaut hervorgeht, nicht gegen die Ausbeuten als solche gerichtet, sondern gegen eine Schlußfolgerung P. Karrers, die wir nochmals wörtlich zitieren: „Wir glauben nicht, daß dies (die geringe Ausbeute) auf besonders große Verluste während des Aufarbeitungs-Prozesses zurückzuführen ist, sondern auf den relativ geringen Gehalt der Leber an diesem Pigment. Dies ist insbesondere im Hinblick darauf, daß 300 kg Leber im B₂-Vitamin-Gehalt etwa 4000—5000 l Molke entsprechen, bemerkenswert; aus der genannten Menge Molke lassen sich indessen ohne besondere Mühe etwa 0.6 g Lacto-flavin kristallisiert abscheiden.“ Diese Argumentation läuft darauf hinaus, daß beim Vergleich von Leber und Molke eine ganz große Diskrepanz (etwa 1:20) zwischen B₂-Gehalt und Flavin-Gehalt besteht. Dies ist unrichtig und mußte aufgezeigt werden, weil damals die Vitamin-Natur des Lacto-flavins grundsätzlich bestritten wurde¹⁰⁾. Inzwischen haben H. v. Euler, P. Karrer, E. Adler und Maj Malmberg¹¹⁾ mitgeteilt, „daß unsere ursprünglichen Zweifel an der Wachstums-Wirkung der von uns untersuchten Flavine nunmehr beseitigt sind.“ Die Identität des Flavins aus Leber mit Lacto-flavin aus Milch wurde von R. Kuhn und Th. Wagner-Jauregg¹²⁾ bewiesen.

II. Konstitution.

3) Die Konstitutions-Aufklärung komplizierterer Naturprodukte führt in der Regel zunächst zu annähernden Formelbildern, die als Arbeits-Hypothesen die analytische Durcharbeitung erleichtern und die endgültige synthetische Beweisführung vorbereiten sollen. Dies war auch beim Vitamin B₂ der Fall. Das vor 1 Jahr angegebene vorläufige und ausdrücklich



als Annäherung bezeichnete Formelbild I¹³⁾ hat sich bis auf 1 H-Atom und die entsprechende Lage der Doppelbindungen bewährt. Die beim Abbau auftretenden Widersprüche, zu denen dieses H-Atom führte, sind oft

⁶⁾ P. Karrer, B. **67**, 2061 [1934]. ⁷⁾ B. **67**, 1452 [1934].

⁸⁾ Helv. chim. Acta **17**, 419 [1934]. ⁹⁾ B. **67**, 1770 [1934].

¹⁰⁾ Insbesondere auf dem IX. Congreso internacional de química pura y aplicada, Madrid, April 1934 in einem Vortrag und Diskussions-Bemerkungen von H. v. Euler und P. Karrer.

¹¹⁾ Helv. chim. Acta **17**, 1157 [1934]. ¹²⁾ B. **67**, 1770 [1934].

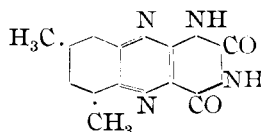
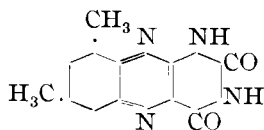
¹³⁾ R. Kuhn, H. Rudy u. Th. Wagner-Jauregg, B. **66**, 1950 [1933].

hervorgehoben und ausschließlich von uns auf synthetischem Wege restlos beseitigt worden¹⁴⁾.

4) Der Vorwurf⁶⁾, daß „Lacto-flavin sogar mit dem synthetischen 2-[Tetraoxy-butyl]-chinoxalin verglichen“ wurde, ist unverständlich. Es handelte sich, wie ausdrücklich angegeben wurde¹⁵⁾, um Modell-Versuche, und diese haben zu dem wichtigen Ergebnis geführt, daß durch Belichten in alkalischer Lösung der Tetraoxy-butyl-Rest abgespalten und durch 1 H-Atom ersetzt wird, genau so wie es beim Lacto-flavin der Fall ist.

5) Daß in dem durch Belichten von reinem Lacto-flavin bei neutraler Reaktion erhaltenen Reaktionsprodukt¹³⁾ unreines 6.7-Dimethyl-alloxazin vorlag, wurde durchaus nicht „glaubhaft zu machen versucht“, sondern gleichzeitig von R. Kuhn und H. Rudy¹⁶⁾ bewiesen durch Methylierung mit Diazo-methan, wobei das bei 252° schmelzende 1.3.6.7-Tetramethyl-alloxazin erhalten wurde, das nach Schmp. und Misch-Schmp. mit der aus Dimethyl-alloxan und 1.2-Dimethyl-4.5-diamino-benzol synthetisierten Verbindung identisch war. Durch diesen Versuch ist der erste und bisher einzige Beweis für die Konstitution der von P. Karrer¹⁷⁾ in reinem Zustande aus Lacto-flavin erhaltenen Verbindung $C_{12}H_{10}N_4O_2$ erbracht worden. Die Isolierung dieses Spaltstückes, das nur in geringer Ausbeute entsteht, durch P. Karrer bleibt nach wie vor unbestritten. P. Karrer hat aber dabei¹⁷⁾ nicht erwähnt, daß 1) die photochemische Zerstörung des Lacto-flavins in neutraler und schwach saurer Lösung bereits längere Zeit bekannt¹³⁾ und von anderer Seite bestätigt war, und daß 2) das 6.7-Dimethyl-alloxazin gar nicht neu, sondern von K. G. Stern und E. R. Holiday¹⁸⁾ schon auf synthetischem Wege erhalten war.

6) Einen Konstitutions-Beweis für das Spaltstück $C_{12}H_{10}N_4O_2$ hat P. Karrer nicht erbracht. Die Substanz besitzt keinen Schmp., und es wurden weder Derivate noch Abbau-Produkte beschrieben, die eine Identifizierung ermöglicht hätten. Auf Grund des Vergleichs der Fluorescenz-Farbe mit synthetischen Alloxazinen, von denen 10 in Betracht kamen, aber nur 4 untersucht wurden, ließ sich allein das 5.8-Dimethyl-alloxazin (mit einiger Sicherheit) ausschließen. Auf welchem Wege P. Karrer¹⁷⁾ das 6.8-Dimethyl-alloxazin und das 7.8-Dimethyl-alloxazin für den Fluorescenz-Vergleich dargestellt hat, ist noch heute durchaus rätselhaft. Wenn man nämlich ein unsymmetrisch substituiertes *o*-Phenylendiamin mit Alloxan nach O. Kühling kondensiert¹⁹⁾, z. B. 1.3-Dimethyl-5.6-diamino-benzol, so ist die Bildung von zwei verschiedenen Alloxazinen zu erwarten, nämlich:



¹⁴⁾ vergl. dazu auch die voranstehende Abhandlung von R. Kuhn, H. Rudy u. K. Reinmund, sowie die unter III angeführten Synthesen.

¹⁵⁾ R. Kuhn u. F. Bär, B. **67**, 898 [1934]. ¹⁶⁾ B. **67**, 1936 [1934].

¹⁷⁾ P. Karrer, H. Salomon, K. Schöpp, E. Schlittler u. H. Fritzsche, Helv. chim. Acta **17**, 1010 [1934]. ¹⁸⁾ B. **67**, 1104 [1934].

¹⁹⁾ Über die Darstellung der Vergleichs-Substanzen fehlen Helv. chim. Acta **17**, 1010 [1934] jedwede Angaben. Aus einer späteren Mitteilung (Helv. chim. Acta **17**, 1516 [1934]) muß jedoch geschlossen werden, daß P. Karrer und Mitarbeitern nur die Synthese von O. Kühling zur Verfügung stand.

Aller Wahrscheinlichkeit nach hat P. Karrer¹⁷⁾ Gemische solcher Isomeren in Händen gehabt, jedenfalls die Konstitution der unsymmetrisch substituierten Vergleichs-Substanzen gar nicht gekannt. Dadurch wird dem Anspruch P. Karrers⁶⁾, unabhängig von uns die noch ungewisse Gruppe C_2H_4 aufgeklärt bzw. die Stellung der Methylgruppen bewiesen zu haben, der Boden entzogen. Es kann in keiner Weise davon die Rede sein, daß ein Fluoreszenz-Vergleich eine „erste sichere Grundlage für eine Lacto-flavin-Formel“ gegeben hat. Wenn P. Karrer nachträglich angibt⁶⁾, neben der Nuance der Fluoreszenz auch Löslichkeiten und Molekülverbindungen der Isomeren verglichen zu haben, so muß betont werden, daß diesbezüglich jedwede quantitative Angabe fehlt. Im Gegensatz zu den Isomerieverhältnissen in der Alloxazin-Reihe, deren Aufklärung aussteht, verläuft die Flavin-Synthese von R. Kuhn und F. Weygand eindeutig und läßt über die Stellung der Substituenten keinen Zweifel.

7) Es ist unrichtig, daß R. Kuhn und H. Rudy in ihrer Kritik des Fluoreszenz-Vergleichs¹⁶⁾ eine Verwechslung des 1.3-Dimethyl-alloxazins mit dem ebenso himmelblau fluoreszierenden isomeren Abbau-Produkt des Lacto-flavins in Betracht gezogen haben. Der betreffende Satz lautete: „Daß unter diesen noch unbekannt Substanzen (6) auch solche mit himmelblauer Fluoreszenz sich befinden, konnte man gewiß nicht ausschließen, nachdem, wie R. Kuhn und F. Bär¹⁵⁾ schon früher gezeigt hatten, auch das 1.3-Dimethyl-alloxazin himmelblau fluoresciert.“ Die 6 unbekannt Substanzen sind, wie aus dem Zusammenhang ganz eindeutig hervorgeht und unabhängig davon nachgezählt werden kann, ausschließlich im Benzolkern (5, 6, 7, 8) substituierte Alloxazine. 1.3-ständige Methylgruppen waren auf Grund der Harnstoff-Bildung ausgeschlossen, die O. Warburg und W. Christian²⁰⁾ am Farbstoff $C_{13}H_{12}N_4O_2$ entdeckt hatten. Die Isolierung von Harnstoff aus Lacto-flavin selbst durch R. Kuhn und Th. Wagner-Jauregg²¹⁾ bedeutete nicht eine „Bestätigung“ dieses Befundes, da die zucker-ähnliche Seitenkette auch an einem N-Atom, das an der Harnstoff-Bildung beteiligt ist, haften können.

III. Synthesen.

8) Über die Priorität der eindeutig und glatt verlaufenden Flavin-Synthese, welche auf der Kondensation von *N*-mono-substituierten aromatischen *o*-Diaminen mit Alloxan beruht²²⁾, kann es keine Diskussion geben. Diese Synthese war am 2. Juli vorgetragen und demonstriert worden²²⁾, und es waren bereits 3 Mitteilungen²²⁾ ²³⁾ ²⁴⁾ über solche Flavin-Synthesen aus dem hiesigen Institut am 8. August erschienen. Erst am 18. August ist eine kurze Abhandlung von P. Karrer²⁵⁾ zum Druck gelangt (erschieden am 1. Oktober), die genau das gleiche Verfahren zur Synthese von 2 Modell-Verbindungen (9-Dioxypropyl-flavinen) benützt. Dabei hat P. Karrer nur angegeben, daß die Konstitution des Lumi-lactoflavins, $C_{13}H_{12}N_4O_2$, durch eine Synthese von R. Kuhn, K. Reinemund und F. Weygand²⁴⁾ schon

²⁰⁾ Biochem. Ztschr. **266**, 377 [1933]. ²¹⁾ B. **66**, 1577 [1933].

²²⁾ R. Kuhn u. F. Weygand, B. **67**, 1409 [1934].

²³⁾ R. Kuhn u. F. Weygand, B. **67**, 1459 [1934].

²⁴⁾ R. Kuhn, K. Reinemund u. F. Weygand, B. **67**, 1460 [1934].

²⁵⁾ P. Karrer, H. Salomon, K. Schöpp u. E. Schlittler, Helv. chim. Acta **17**, 1165 [1934].

bewiesen ist. Der Leser kann nicht ersehen, daß das benutzte Verfahren durch R. Kuhn und F. Weygand²²⁾ ²³⁾ ²⁴⁾ bereits bekannt war, und daß diese die Absicht, mit Hilfe dieses Verfahrens gerade Flavine, die in 9-Stellung hydroxyl-haltige Seitenketten tragen, zu synthetisieren, sehr klar zum Ausdruck gebracht hatten. Der Versuch, sich ein neues synthetisches Verfahren auf diese Weise zu eigen zu machen, ist ungewöhnlich.

9) Am 6. November dieses Jahres erschien eine Abhandlung von R. Kuhn und F. Weygand²⁶⁾, worin über die gelungene Synthese von Farbstoffen der Lacto-flavin-Gruppe $C_{17}H_{20}N_4O_6$ berichtet wurde. Es handelt sich um synthetische *iso*-Alloxazine, die in 9-Stellung zucker-ähnliche Seitenketten tragen. Am 1. Dezember ist nun eine am 27. Oktober eingesandte Mitteilung von P. Karrer²⁷⁾ herausgekommen, die einen anderen Gegenstand behandelt, aber folgende undatierte „Anmerkung bei der Korrektur“ enthält: „Neuerdings ist es gelungen, *iso*-Alloxazin-Farbstoffe herzustellen, die am Stickstoffatom in 9-Stellung Reste von Zucker-alkoholen enthalten.“ Es bleibt abzuwarten, welche Prioritäts-Ansprüche sich an diesen Satz knüpfen werden.

38. Otto Mumm und Christian Bruhn: Über die Einwirkung von Jodcyan auf Chinoline.

[Aus d. Chem. Institut d. Universität Kiel.]

(Eingegangen am 13. Dezember 1934.)

Wenn Bromcyan und Blausäure gleichzeitig bei gewöhnlicher Temperatur in ätherischer Lösung auf Chinolin einwirken, entsteht das sog. Chinolindicyanid, $C_9H_7N(CN)_2$, an dem eine interessante Isomerie-Erscheinung beobachtet wurde¹⁾. Ebenso wie Bromcyan wirkt auch Chlorcyan.

Wenn nun in der vorliegenden Arbeit die Einwirkung von Jodcyan auf Chinolin studiert wurde, so geschah dies, weil man weiß, daß Jodcyan trotz seiner ganz analogen Formel vielfach in seinen Reaktionen von den anderen beiden Halogen-cyanen vollkommen abweicht. So haben Grignard und Bellet²⁾ gezeigt, daß bei der Umsetzung von Organo-magnesiumhalogeniden mit Jodcyan ausschließlich das Jodderivat des organischen Radikals entsteht, wohingegen bei der gleichen Behandlung von Bromcyan in der Hauptsache das betreffende Nitril erhalten wird.

Tatsächlich zeigte auch in unserem Falle das Jodcyan ein ganz abweichendes Verhalten. So blieb es ohne Einfluß auf den Verlauf der Reaktion, ob man das Jodcyan in Gegenwart von Blausäure oder ohne dieselbe zur Einwirkung kommen ließ, und die Reaktionsprodukte waren ganz anderer Art, als die mit Bromcyan erhaltenen.

Nach den Vorstellungen, die man sich von dem Verlauf der Umsetzungen mit Bromcyan gemacht hatte, waren die hier mit größter Leichtigkeit isolierbaren additionellen Verbindungen von Jodcyan an Chinoline entweder als den Jodmethylenen entsprechend gebaut aufzufassen, oder es lag in ihnen infolge Wanderung des Cyans oder des Jods in den Kern bereits ein Pseudosalz vor.

²⁶⁾ B. **67**, 1939 [1934].

²⁷⁾ P. Karrer u. K. Schöpp, *Helv. chim. Acta* **17**, 1557 [1934].

¹⁾ Mumm u. Ludwig, *A.* **514**, 34 [1934].

²⁾ *Compt. rend. Acad. Sciences* **158**, 457; *C.* **1914**, I 1259.