

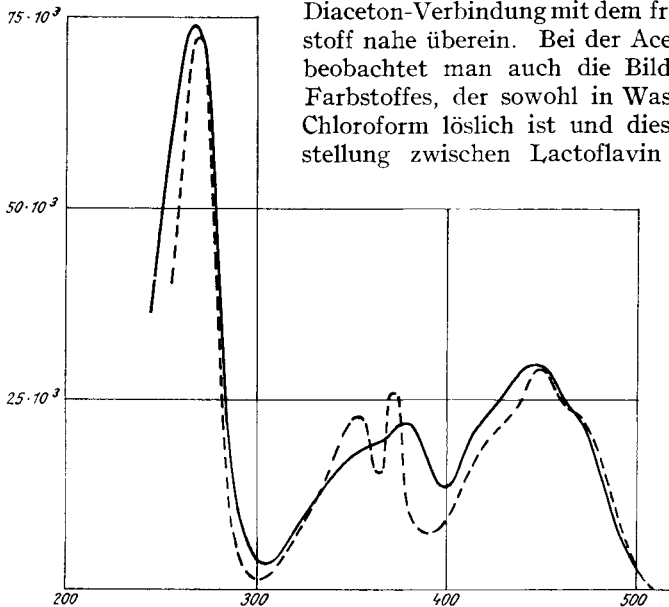
128. Richard Kuhn, Hermann Rudy und Friedrich Weygand: Über die zucker-ähnliche Seitenkette des Lactoflavins.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizin. Forschung, Heidelberg, Institut für Chemie.]
(Eingegangen am 20. Februar 1935.)

1. Diaceton-lactoflavin.

Durch die Synthese des Lumi-lactoflavins ist die Konstitution des Lactoflavins selbst bis auf die Natur der zucker-ähnlichen Seitenkette, die in 9-Stellung haftet, aufgeklärt worden¹⁾. Die Annahme²⁾, daß es sich um eine Tetraoxy-*n*-butyl-Kette handelt, gewinnt an Wahrscheinlichkeit durch die Isolierung einer schön krystallisierenden Diaceton-Verbindung (I) des Lactoflavins vom Schmp. 293⁰ (Zers.), deren Darstellung im Versuchs- teil beschrieben wird. Im Gegensatz zu Lactoflavin ist die Diaceton-Verbindung stark rechtsdrehend: $[\alpha]_D^{20} = +118^0$ (CHCl₃). Das Diaceton-lactoflavin ist wie die Tetraacetyl-Verbindung²⁾ leicht löslich in Chloroform, woraus sich durch Wasser nichts ausschütteln läßt. Durch warme verd. Essigsäure wird es leicht zu dem in Chloroform unlöslichen Lactoflavin aufgespalten. Im Ab-

sorptionsspektrum (Abbild. 1) stimmt die Diaceton-Verbindung mit dem freien Farbstoff nahe überein. Bei der Acetonierung beobachtet man auch die Bildung eines Farbstoffes, der sowohl in Wasser wie in Chloroform löslich ist und dieser Mittelstellung zwischen Lactoflavin und Di-



Abbild. 1.

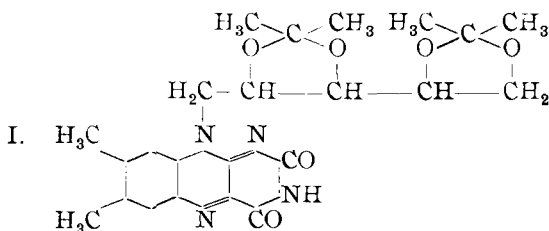
Abzissen: Wellenlängen in $m\mu$. Ordinaten: $z = \frac{2.30}{c \times d} \log \frac{I_0}{I}$.

—	Lactoflavin in Wasser	} $c = 8.28 \times 10^{-5}$ Mol/Liter $d = 0.114$ cm
- - -	Diaceton-lactoflavin	
	in Chloroform + 10% Alkohol	} $c = 2.41 \times 10^{-4}$ Mol/Liter $d = 0.114$ cm.

¹⁾ R. Kuhn, K. Reinemund u. F. Weygand, B. **67**, 1460 [1934].

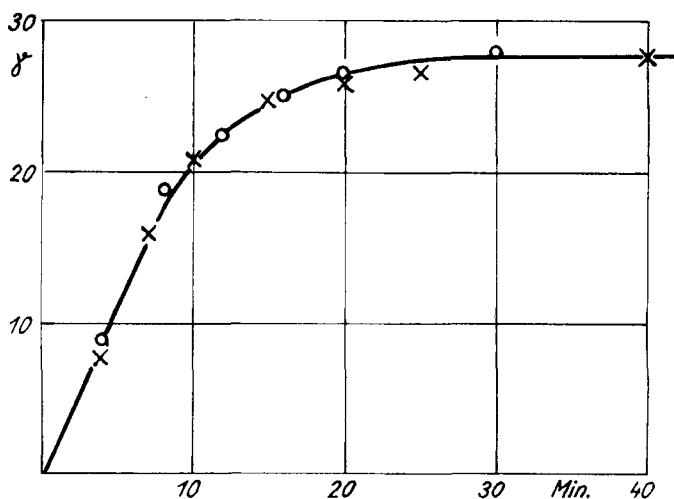
²⁾ R. Kuhn, H. Rudy u. Th. Wagner-Jauregg, B. **66**, 1950 [1933].

aceton-lactoflavin entsprechend wohl eine Mono-aceton-Verbindung oder ein Gemisch von Mono-aceton-Verbindungen darstellt.



Die Tatsache, daß Lactoflavin durch Bleitetraacetat zu 6.7-Dimethyl-alloxazin abgebaut wird³⁾, schien mit der vorgeschlagenen Formulierung der zucker-ähnlichen Seitenkette nicht gut vereinbar. Es war daran zu denken, daß 2 hydroxylierte C-Atome unmittelbar an das N-Atom 9 anschließen, und daß bei der Criegee-Spaltung zunächst 6.7-Dimethyl-9-formyl-flavin gebildet wird, aus dem durch Verseifung der Formylgruppe und Isomerisierung das isolierte 6.7-Dimethyl-alloxazin entsteht. Die Identifizierung dieses Spaltstückes erfolgte wie früher³⁾ durch Umsetzung mit Diazo-methan zum 1.3.6.7-Tetramethyl-alloxazin, das mit dem Kondensationsprodukt von Dimethyl-alloxan und 1.2-Dimethyl-4.5-diaminobenzol keine Schmelzpunkts-Erniedrigung gab.

Wir sind heute der Ansicht, daß die Criegee-Spaltung des Lactoflavins durch Sekundärreaktionen überholt wird; daß zunächst in normaler Weise 6.7-Dimethyl-flavin-9-acetaldehyd auftritt, der vermutlich noch leichter als die inzwischen synthetisch gewonnene 6.7-Dimethyl-flavin-9-essigsäure⁴⁾ der Alloxazin-Spaltung anheimfällt. Neben der Empfind-



Abbild. 2. Kinetik der alkalischen Photolyse.

○ 6.7-Dimethyl-9-l-araboflavin × Lactoflavin.

³⁾ R. Kuhn u. H. Rudy, B. **67**, 1826, 1936 [1934].

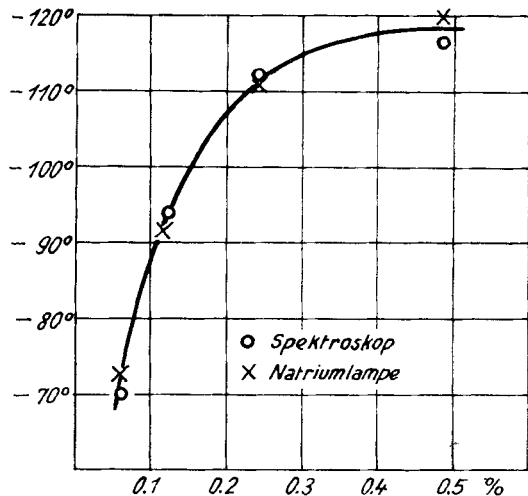
⁴⁾ R. Kuhn u. H. Rudy, B. **68**, 300 [1935].

lichkeit der synthetischen 9-Essigsäure kommt der übereinstimmenden Kinetik der alkalischen Photolyse von Lactoflavin und von synthetischem 6.7-Dimethyl-9-araboflavin (Abbild. 2) Bedeutung für die Kenntnis der zucker-ähnlichen Seitenkette zu.

2. „Schmelzpunkt“ und Drehungsvermögen des Lactoflavins

Fraktionierungs-Versuche am Lactoflavin sind hauptsächlich auf chromatographischem Wege, auch mit der Tetraacetyl-Verbindung, im hiesigen Institut schon öfters in Angriff genommen worden, ohne eine entscheidende Differenzierung zu ergeben. Bei fraktionierten Krystallisationen aus verschiedenen Lösungsmitteln wurde beobachtet, daß der „Schmelzpunkt“ der leichter löslichen Fraktionen bis 293° ansteigt⁵⁾. Aber die elementare Zusammensetzung²⁾ $C_{17}H_{20}N_4O_6$ und die optische Aktivität blieben von den schwerst löslichen bis zu den leichtest löslichen Anteilen unverändert. Aus Lactoflavin-Präparaten vom „Schmp.“ 271° und 293° wurde ein und dieselbe Tetraacetyl-Verbindung vom Schmp. 243° erhalten. Wir möchten es daher für wahrscheinlich halten, daß Spuren von Beimengungen den Zersetzungspunkt (Dunkelfärbung, Aufschäumen) in den genannten Grenzen zu beeinflussen vermögen, und daß es nicht unmöglich sein dürfte, den Zersetzungspunkt noch weiter zu erhöhen. Vergleicht man das Drehungsvermögen verschiedener Lactoflavin-Fractionen in $n/_{20}$ - oder $n/_{10}$ -NaOH, so ist zu berücksichtigen, daß $[\alpha]_D$ von der Farbstoff-Konzentration sehr stark abhängig ist (Abbild. 3). Die Konzentrations-Abhängigkeit ist von den schwerst löslichen bis zu den leichtest löslichen Fraktionen dieselbe. Ebensovienig konnten für die stark rechtsdrehenden, borax-haltigen Lösungen⁶⁾, deren Drehungsvermögen von der Lactoflavin-Konzentration kaum abhängt, größere Unterschiede zwischen den schwerst und leichtest löslichen Anteilen des Lactoflavins beobachtet werden.

Die folgenden Präparate sind durch fraktionierte Krystallisationen aus 2-n. Essigsäure, aus 96-proz. Alkohol und aus Pyridin gewonnen worden. In jedem Falle wurde auch durch licht-elektrische Photometrie die Farbstärke κ_{\max} für das langwelligste Maximum $445 m\mu$ ermittelt.



Abbild. 3.

Abszissen: Konzentration in g/100 ccm.

Ordinaten: $[\alpha]_D^{20}$.

⁵⁾ Alle folgenden „Schmelzpunkte“ sind genau gleichartig mit ein und demselben abgekürzten Thermometer (unkorr.) bestimmt.

⁶⁾ R. Kuhn u. H. Rudy, B. 68, 169 [1935].

Als Ausgangsmaterial diente ein Gemisch etwa gleicher Teile von 2 Präparaten, die beide über das Thallo- und Silbersalz⁷⁾ gereinigt waren und übereinstimmend Zers.-Pkt. 282—282.5° zeigten. Das eine Präparat (Gef. C 54.06, H 5.48, N 14.70) zeigte $\alpha = 26.10^{\circ}$ und $[\alpha]_{\text{D}}^{21} = (-0.25^{\circ} \times 100) : (0.203 \times 1) = -123^{\circ}$ (n'_{20} -NaOH), das andere $\alpha = 27.10^{\circ}$ und $[\alpha]_{\text{D}}^{21} = (-0.38^{\circ} \times 100) : (0.33 \times 1) = -115^{\circ}$ (n'_{20} -NaOH).

Präparat I: Schwerst lösliche Fraktion nach 3-maliger Krystallisation aus verd. Essigsäure, dann aus Alkohol und zuletzt wieder aus Essigsäure. Zers.-Pkt. 282°, $\alpha = 26.2 \times 10^{-3}$.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{21} = (-0.28^{\circ} \times 100) : (0.246 \times 1) = -114^{\circ} \text{ (} n'_{10}\text{-NaOH).}$$

$$[\alpha]_{\text{D}}^{21} = (-0.195^{\circ} \times 100) : (0.123 \times 2) = -80^{\circ} \text{ (} n'_{10}\text{-NaOH).}$$

$$[\alpha]_{\text{D}}^{21} = (-0.075^{\circ} \times 100) : (0.0615 \times 2) = -61^{\circ} \text{ (} n'_{10}\text{-NaOH).}$$

$$[\alpha]_{\text{D}}^{21} = (+0.41^{\circ} \times 100) : (0.123 \times 1) = +333^{\circ} \text{ (} n'_{20}\text{-NaOH, mit Borax halb gesättigt).}$$

$$[\alpha]_{\text{D}}^{21} = (+0.20^{\circ} \times 100) : (0.0614 \times 1) = +325^{\circ} \text{ (} n'_{20}\text{-NaOH, mit Borax halb gesättigt).}$$

$$[\alpha]_{\text{D}}^{21} = (+0.105^{\circ} \times 100) : (0.031 \times 1) = +342^{\circ} \text{ (} n'_{20}\text{-NaOH, mit Borax halb gesättigt).}$$

Präparat II: Mittelfraktion aus 96-proz. Alkohol, Pyridin und nochmals Alkohol, Zers.-Pkt. 293°, $\alpha = 29.5$. Gef. C 54.43, H 5.60, N 14.92.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{21} = (-0.29^{\circ} \times 100) : (0.246 \times 1) = -118^{\circ} \text{ (} n'_{10}\text{-NaOH).}$$

$$[\alpha]_{\text{D}}^{21} = (-0.24^{\circ} \times 100) : (0.123 \times 2) = -97^{\circ} \text{ (} n'_{10}\text{-NaOH).}$$

$$[\alpha]_{\text{D}}^{21} = (-0.085^{\circ} \times 100) : (0.0615 \times 2) = -70^{\circ} \text{ (} n'_{10}\text{-NaOH).}$$

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = (+0.375^{\circ} \times 100) : (0.104 \times 1) = +359^{\circ} \text{ (} n'_{20}\text{-NaOH, } \frac{1}{2} \text{ ges. Borax).}$$

Präparat III: Mittelfraktion nach wiederholten Krystallisationen aus 2-n. Essigsäure. Zers.-Pkt. 281.5°, $\alpha = 25.0$. Die Abhängigkeit des Drehungsvermögens von der Konzentration in n'_{10} -NaOH ist in Abbild. 3 dargestellt. Die Messungen sind an 2 verschiedenen Polarisations-Apparaten mit verschiedenen Lichtquellen (Natriumlampe von C. Zeiss und elektrische Glühlampe mit geradsichtigem Spektroskop von Schmidt & Haensch) ausgeführt.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{21} = (-0.57^{\circ} \times 100) : (0.489 \times 1) = -117^{\circ} \text{ (} n'_{10}\text{-NaOH).}$$

$$[\alpha]_{\text{D}}^{21} = (-0.275^{\circ} \times 100) : (0.244 \times 1) = -112^{\circ} \text{ (} n'_{10}\text{-NaOH).}$$

$$[\alpha]_{\text{D}}^{21} = (-0.23^{\circ} \times 100) : (0.122 \times 2) = -94^{\circ} \text{ (} n'_{10}\text{-NaOH).}$$

$$[\alpha]_{\text{D}}^{21} = (-0.085^{\circ} \times 100) : (0.061 \times 2) = -70^{\circ} \text{ (} n'_{10}\text{-NaOH).}$$

$$[\alpha]_{\text{D}}^{21} = (+0.845^{\circ} \times 100) : (0.244 \times 1) = +347^{\circ} \text{ (} n'_{20}\text{-NaOH, } \frac{1}{2} \text{ ges. Borax).}$$

Präparat IV: Leichtest lösliche aller Fraktionen (etwa $\frac{1}{10}$ des gesamten Farbstoffs, zuletzt aus 2-n. Essigsäure krystallisiert. Zers.-Pkt. 277°, $\alpha = 28.3 \times 10^3$.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{21} = (-0.28^{\circ} \times 100) : (0.243 \times 1) = -113^{\circ} \text{ (} n'_{10}\text{-NaOH).}$$

$$[\alpha]_{\text{D}}^{21} = (-0.21^{\circ} \times 100) : (0.121 \times 2) = -87^{\circ} \text{ (} n'_{10}\text{-NaOH).}$$

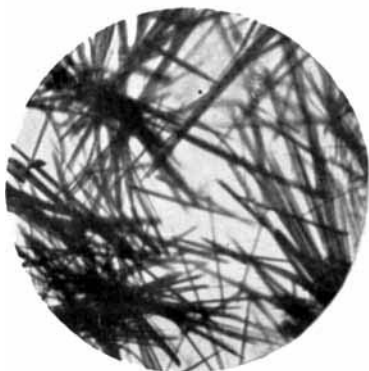
$$[\alpha]_{\text{D}}^{21} = (-0.09^{\circ} \times 100) : (0.061 \times 2) = -74^{\circ} \text{ (} n'_{10}\text{-NaOH).}$$

$$[\alpha]_{\text{D}}^{21} = (+0.32^{\circ} \times 100) : (0.098 \times 1) = +326^{\circ} \text{ (} n'_{20}\text{-NaOH, } \frac{1}{2} \text{ ges. Borax).}$$

Die beschriebenen Fraktionierungs-Versuche schließen einen Gehalt des Lactoflavins an anderen Flavinen in dem von R. Kuhn und Th. Wagner-Jauregg⁷⁾ erörterten Sinne nicht endgültig aus. Sie sind aber nicht gut in Einklang zu bringen mit der Angabe von P. Karrer, K. Schöpp, E. Benz und K. Pfaehler⁸⁾, daß sich durch fraktionierte Krystallisationen eine schwerst lösliche, „hoch schmelzende“ (286°) Fraktion von $[\alpha]_{\text{D}} = -90^{\circ}$ und eine leicht lösliche, „niedriger schmelzende“ (282°) Fraktion von -115° (n'_{20} -NaOH) gewinnen läßt, wobei keine Angaben über die Konzentration

7) B. 67, 1770 [1934].

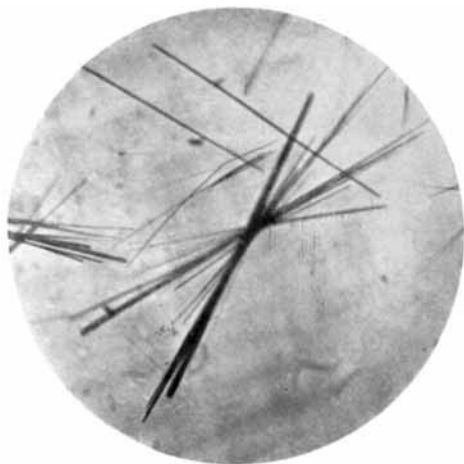
8) B. 68, 216 [1935]; Helv. chim. Acta 18, 69 [1935].



Abbild. 6. Diaceton-lactoflavin,
Schmp. 293° (Zers.).



Abbild. 7. 6,7-Dimethyl-9-l-araboflavin,
Schmp. 295° (Zers.).



Abbild. 8. Lactoflavin,
Schmp. 293° (Zers.).



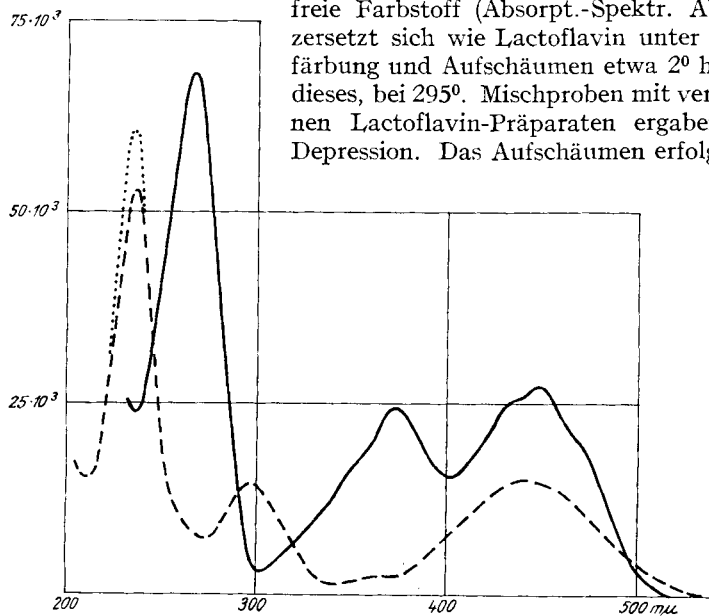
Abbild. 9. Tetraacetyl-lactoflavin,
Schmp. 243° (Zers.).

der polarisierten Lösungen gemacht werden. Es ist auffallend, daß die höchsten bisher beobachteten „Schmpp.“ (292°, 293°) von uns an leichter löslichen, nicht an schwerst löslichen Fraktionen beobachtet wurden.

Mit dem „Konzentrations-Effekt“, dessen Ursache wir nicht kennen, lassen sich nicht alle an früheren Präparaten beobachteten Drehungswerte, die etwas schwanken, in genauen Einklang bringen. Sie ergaben, mit Abbild. 2 verglichen, vielfach etwas stärkere Linksdrehung. Es ist daher denkbar, daß frühere Präparate ein stärker linksdrehendes Flavin enthielten, das aber aus dem jetzt vorliegenden Lactoflavin durch die geschilderten Fraktionierungen nicht angereichert werden konnte. Ferner ist zu berücksichtigen, daß wir bei der Verarbeitung der Molke nur etwa $\frac{1}{3}$ des darin enthaltenen Flavins als kristallisiertes „Ausgangs-Material“ erhalten und über die restlichen $\frac{2}{3}$ nichts aussagen können⁹⁾.

3. 6.7-Dimethyl-9-*l*-araboflavin.

Dieser synthetische, mit Lactoflavin isomere Farbstoff $C_{17}H_{20}N_4O_6$ ist zuerst als Tetraacetyl-Verbindung kristallisiert erhalten worden¹⁰⁾. Der von uns über dieselben Zwischenprodukte gewonnene freie Farbstoff (Absorpt.-Spektr. Abbild. 4) zersetzt sich wie Lactoflavin unter Dunkelfärbung und Aufschäumen etwa 2° höher als dieses, bei 295°. Mischproben mit verschiedenen Lactoflavin-Präparaten ergaben keine Depression. Das Aufschäumen erfolgte stets



Abbild. 4.

- 6.7-Dimethyl-9-*l*-araboflavin in Wasser ($c = 2,99 \times 10^{-4}$ Mol/Liter).
 - - - 1.2-Dimethyl-4-nitro-5-[1-*l*-arabityl-amino]-benzol in 80-proz. Alkohol ($c = 5,62 \times 10^{-4}$ Mol/Liter).
 1.2-Dimethyl-4-nitro-5-methylamino-benzol in 80-proz. Alkohol ($c = 8,82 \times 10^{-4}$ Mol/Liter. d immer = 0.114 cm).

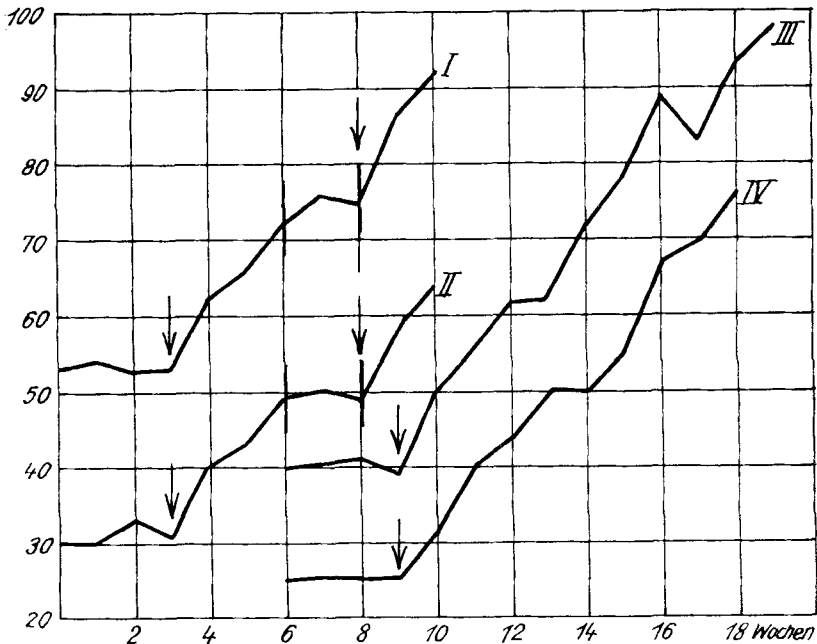
⁹⁾ vergl. dazu R. Kuhn, P. György u. Th. Wagner-Jauregg, B. **66**, 1034 [1933]; aber auch R. Kuhn u. H. Kaltschnitt, B. **68**, 128 [1935].

¹⁰⁾ B. **67**, 1939 [1934], **68**, 166 [1935].

bei der Temperatur, bei der sich das Lactoflavin allein zersetzte. Nach „Schmp.“ und Drehungsvermögen könnte der freie Farbstoff mit dem von P. Karrer, K. Schöpp, F. Benz und K. Pfaehler⁸⁾ über andere Zwischenprodukte hinweg, aber zuletzt ebenfalls nach der Flavin-Synthese von R. Kuhn und F. Weygand, vor kurzem erhaltenen Flavin aus *l*-Arabinose identisch sein. Die annähernde Übereinstimmung des Drehungsvermögens, die wir an den Tetraacetyl-Verbindungen des synthetischen und natürlichen Farbstoffs bereits hervorgehoben hatten¹¹⁾, gilt auch für die freien Farbstoffe.

6.7-Dimethyl-9-*l*-arabo-flavin: $[\alpha]_{20}^{D} = -80^{\circ} \pm 10^{\circ}$ (n_{20} -NaOH; $c = 0.2$). Wir hatten in Borax-Lösung größere Unterschiede erwartet, fanden aber für Lactoflavin: $[\alpha]_{20}^{D} = +359^{\circ} \pm 15^{\circ}$, für 6.7-Dimethyl-9-*l*-araboflavin: $[\alpha]_{20}^{D} = +367^{\circ} \pm 15^{\circ}$. Schließlich verglichen wir die Kinetik der alkalischen Photolyse (O. Warburg und W. Christian), in der Unterschiede der zuckerähnlichen Seitenketten hätten zu Tage treten können. Das in Abbild. 2 dargestellte Ergebnis zeigt, daß die Halbwerts-Zeiten der Photolyse für Lactoflavin und für 6.7-Dimethyl-9-*l*-araboflavin praktisch übereinstimmen.

Trotz dieser weitgehenden Ähnlichkeit können wir Lactoflavin und 6.7-Dimethyl-9-*l*-araboflavin für nicht identisch erklären. Die schon früher¹⁰⁾ beschriebene Tetraacetyl-Verbindung des synthetischen Farbstoffs schmilzt nämlich schon bei 217^o (Tetraacetyl-lactoflavin: 243^o),



Abbild. 5. Wachstums-Wirkung.

I und II: Je 30 γ freier Farbstoff (von der 6. bis 8. Woche ohne Farbstoff).
 III und IV: Je 22 γ Tetraacetyl-Farbstoff = 15 γ freier Farbstoff.

Ordinaten: Gewicht der Tiere in Grammen.

¹¹⁾ B. 68, 166 [1935].

und der Schmp. konnte auch durch wiederholte chromatographische Reinigung nicht weiter erhöht werden. Ein bedeutender Unterschied besteht ferner hinsichtlich der biologischen Wirksamkeit an B₂-arm ernährten Ratten. Die Wachstums-Wirkung des synthetischen Farbstoffs ist bisher, auch wenn man nur die günstigsten Fälle (Abbild. 5) betrachtet, mindestens 3-mal geringer als die des Lactoflavins. Die mit 15 γ und 30 γ erzielten Gewichts-Zunahmen sind bei unseren Tieren schon durch 5 γ und 10 γ Lactoflavin zu erreichen, ja zu überbieten. Vermutlich hat die zucker-ähnliche Seitenkette des Lactoflavins die Anordnung der *d*-Ribose, und der aus *l*-Arabinose synthetisierte Farbstoff besitzt nur in gewissem Ausmaße die Fähigkeit, als „Ersatz“ des natürlichen Vitamins B₂ (Lactoflavin) zu wirken.

Beschreibung der Versuche.

Acetonierung des Lactoflavins: In 400 ccm eisgekühltes, ungefähr 1.5% HCl enthaltendes Aceton werden 500 mg fein verriebenes Lactoflavin vom Schmp. 282° (korr.) eingetragen. Nach 1/2-stdg. Schütteln ist alles in Lösung gegangen. Man läßt eine weitere halbe Stunde stehen und gießt dann unter Rühren in eine eisgekühlte, konzentrierte Lösung von Natriumacetat. Zur Abtrennung von unverändertem Flavin wird mit Chloroform erschöpfend ausgeschüttelt.

Diaceton-lactoflavin: Das sowohl die Mono- als auch die Diaceton-Verbindung enthaltende Chloroform wird mit Wasser solange ausgeschüttelt, als noch Farbstoff in Lösung geht. Dann wird das Chloroform getrocknet, im Vakuum verdampft und der Rückstand aus absol. Alkohol umkrystallisiert. Ausbeute an Rohprodukt 200 mg (colorimetrisch bestimmt). Krystallisiert wurden 90 mg erhalten. Lange, orangegelbe, feine Nadeln (Abbild. 6), Schmp. 293° (korr.) unt. Zers. (3-mal aus Alkohol krystallisiert).

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = (+0.372^{\circ} \times 100) : (0.3162 \times 1) = +117.5^{\circ}$ (Chloroform + 10% Alkohol).

3.489 mg Sbst.: 7.67 mg CO₂, 1.98 mg H₂O. — 3.242 mg Sbst.: 0.345 ccm N (20°, 746 mm).

C₂₃H₂₈N₄O₆. Ber. C 60.50, H 6.18, N 12.28.

Gef. „ 59.96, „ 6.35, „ 12.17.

Die Diaceton-Verbindung ist leicht löslich in Chloroform, Eisessig, Aceton, mäßig löslich in kaltem Alkohol und Wasser, schwer löslich in Äther. Bei der Verteilung zwischen Chloroform und Wasser geht aller Farbstoff in die untere Schicht. Das Aceton wird überraschend leicht schon durch verd. Essigsäure bei längerem Stehen bei Raum-Temperatur abgespalten, fast momentan beim Erhitzen, worauf kein Farbstoff mehr in Chloroform geht.

Monoaceton-lactoflavin: Der aus dem Chloroform mit Wasser ausgeschüttelte Farbstoff wird wiederum in Chloroform aufgenommen und nach dem Verdampfen des Lösungsmittels aus Alkohol krystallisiert. Orangegelbe, derbe Prismen, Ausbeute an Rohprodukt (colorimetrisch) 140 mg.

Der Schmp. eines Monoaceton-lactoflavins, das aus einem Lactoflavin-Präparat vom Schmp. 277° gewonnen war, lag bei 277° (korr., unt. Zers.).

Man erkennt, daß die Schmelz-(Zersetzungs-)punkte der Aceton-Verbindungen annähernd mit denen der verwendeten Lactoflavin-Präparate übereinstimmen. Es ist daher zu erwarten, daß auch hier ähnliche Streuungen (infolge geringster Mengen katalytisch auf die Zersetzung wirkender Stoffe) auftreten können wie bei dem Flavin selbst.

Monoaceton-lactoflavin ist leicht löslich in Eisessig, mäßig gut löslich in Wasser, Alkohol, Chloroform, unlöslich in Äther. Zwischen Chloroform und Wasser verteilt es sich annähernd gleichmäßig, kann aber durch wiederholtes Ausschütteln vollständig in eines der beiden getrieben werden.

2.446 mg Sbst.: 0.284 ccm N (26°, 755 mm).

$C_{20}H_{24}N_4O_6$. Ber. N 13.45. Gef. N 13.20.

6.7-Dimethyl-alloxazin durch Oxydation von Lactoflavin mit Bleitetraacetat: 25 mg reines Lactoflavin werden unter den früher angegebenen Bedingungen¹²⁾ mit Bleitetraacetat oxydiert. Nach Verdünnen mit Wasser wird die Reaktions-Lösung mit Chloroform erschöpfend ausgeschüttelt und der Farbstoff durch 2-maliges Ausschütteln der Chloroform-Lösung mit Nacarbonat-Lösung, Ansäuern mit Essigsäure und wiederholtes Ausschütteln mit Chloroform vorgereinigt. Der Chloroform-Rückstand wird nach dem Umkrystallisieren aus konz. Essigsäure in trockenem Zustand mit Diazo-methan in Äther¹²⁾ methyliert und das so erhaltene Methylierungsprodukt 4-mal aus konz. Essigsäure umkrystallisiert. Feine, glänzende, gelbe Nadeln. Ausbeute 6 mg. Schmp. 250° (korr.).

3.751 mg Sbst.: 8.585 mg CO₂, 1.82 mg H₂O.

$C_{14}H_{14}N_4O_2$. Ber. C 62.20, H 5.22. Gef. C 62.42, H 5.43.

Der Mischschmp. mit dem synthetisch dargestellten 1.3.6.7-Tetramethyl-alloxazin vom Schmp. 252° lag bei 251° (korr.).

1.2-Dimethyl-4-nitro-5-[*l*-arabityl-1'-amino]-benzol: 40 g krystallisiertes *l*-Arabinamin¹³⁾ und 40 g 1.2-Dimethyl-4.5-dinitrobenzol (Schmp. 40—50°¹⁴⁾ wurden in 100 ccm 80-proz. Äthylalkohol 6 Stdn. auf 135° erhitzt. Nach dem Verdampfen des Lösungsmittels wurde unverändertes Dinitro-xylol dem roten öligen Rückstand mit Äther entzogen und dieser aus viel Wasser, dann aus wenig Eisessig umkrystallisiert. Ausbeute an reiner Substanz 16.5 g, Schmp. 216° (k. Th.). Zur Analyse wurde 2 Stdn. bei 100° unter 0.5 mm über P₂O₅ getrocknet.

4.212 mg Sbst.: 8.03 mg CO₂, 2.60 mg H₂O. — 3.435 mg Sbst.: 0.279 ccm N (19°, 761 mm).

$C_{18}H_{20}N_2O_6$. Ber. C 51.97, H 6.71, N 9.33.

Gef. „ 52.00, „ 6.91, „ 9.51.

$[\alpha]_D^{20} = (-0.01^\circ \times 100) : (0.944 \times 1) = -1^\circ \pm 1^\circ$ (Pyridin).

Aus warmem Eisessig, worin sich die Substanz leicht löst, krystallisiert das 1.2-Dimethyl-4-nitro-5-[*l*-arabityl-1'-amino]-benzol in vielfach büschelig angeordneten, glänzenden, orangegelben, dünnen Stäbchen, deren Absorptionsspektrum (Abbild. 3) mit demjenigen des roten 1.2-Dimethyl-4-nitro-5-methylamino-benzols¹⁵⁾ nach Lage und Höhe der Banden genau übereinstimmt. In Äther und in Chloroform ist die Substanz unlöslich, in wäßrigem Alkohol löst sie sich beträchtlich.

¹²⁾ R. Kuhn u. H. Rudy, B. **67**, 1826, 1936 [1934].

¹³⁾ Dargestellt nach M. Roux, Compt. rend. Acad. Sciences **136**, 1079 [1903]; Ann. Chim. [8] **1**, 160 [1904].

¹⁴⁾ Durch Nitrieren von *o*-Xylol nach E. Noeltling u. Thesmar, B. **35**, 631 [1902], gewonnen. Das im Präparat in erheblicher Menge noch enthaltene 1.2-Dimethyl-4.6-dinitro-benzol tritt nicht in Reaktion.

¹⁵⁾ R. Kuhn u. K. Reinemund, B. **67**, 1932 [1934].

6.7-Dimethyl-9-*l*-araboflavin: Je 1.0 g 1.2-Dimethyl-4-nitro-5-[*l*-arabityl-1-amino]-benzol wurden in 10 ccm Wasser und 30 ccm konz. Salzsäure gelöst, mit fein gepulvertem Alloxan (Überschuß) und Zinnchlorür versetzt und kurz aufgeköcht. Vorübergehend wurde die Lösung ganz farblos, nahm aber bald wieder intensiv gelbe Farbe an. Nach Verdünnen mit 300 ccm Wasser wurde unter Eiskühlung durch 1-proz. KMnO_4 -Lösung das überschüssige Reduktionsmittel entfernt. Hierauf adsorbierten wir nach der für die Isolierung natürlicher Flavine bekannten Vorschrift an Frankonit SB und eluierten 3-mal mit Pyridin-Gemisch. Durch Verdampfen der Elutionen erhielten wir das freie 6.7-Dimethyl-9-*l*-araboflavin. Krystallisiert wurde aus verd. Essigsäure, getrocknet 2 Stdn. bei 100° (0.5 mm, P_2O_5). Schmp. $294\text{--}295^\circ$ (Zers., Aufschäumen) (Abbild. 7). Das für die Tier-Versuche verwendete Präparat gab bei der Analyse:

4.315 mg Subst.: 8.48 mg CO_2 , 2.07 mg H_2O . — 3.134 mg Subst.: 0.410 mm N (19° , 734 mm).

$\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_6$ (376.2). Ber. C 54.23, H 5.36, N 14.88.

Gef. „ 53.60, „ 5.37, „ 14.77.

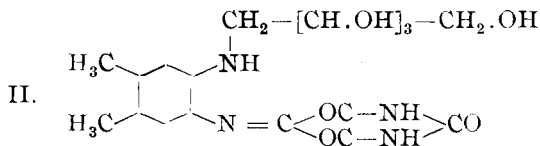
$$[\alpha]_{\text{D}}^{21.5} = (-0.175^\circ \times 100) : (0.2176 \times 1) = -80.4^\circ \pm 10^\circ (n_{10}^{\circ}\text{-NaOH}).$$

$$[\alpha]_{\text{D}}^{21.5} = (+0.40^\circ \times 100) : (0.1088 \times 1) = +367^\circ \pm 10^\circ (\text{Borax})^{16}).$$

$$[\alpha]_{\text{D}}^{21.5} = (+0.24 \times 100) : (0.1088 \times 1) = +220^\circ \pm 10^\circ (\text{Borax})^{16}).$$

Für den Vergleich der alkalischen Photolyse wurden je 40 ccm 0.5-*n*. Natronlauge, die je 65 γ $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_6$ in 1 ccm enthielten, aus etwa 30 cm Entfernung mit einer 500-Watt-Lampe genau gleichartig bestrahlt. Nach den angegebenen Zeiten (Abbild. 2) wurden je 2 ccm mit der Pipette entnommen und zu 0.30 ccm Eisessig gegeben. Nach Verdünnen mit Wasser wurde erschöpfend mit Chloroform ausgeschüttelt, mit Chloroform auf 10 ccm aufgefüllt und der Farbstoff-Gehalt (γ $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_2$ in 10 ccm CHCl_3) am Stufen-Photometer bestimmt. Die Endwerte beider Bestimmungen entsprechen etwa 65% der theoretisch möglichen Lumiflavin-Menge.

1.2-Dimethyl-4-[alloxanyl-amino]-5-[*l*-arabityl-1'-amino]-benzol (II): 100 mg 1.2-Dimethyl-4-nitro-5-[*l*-arabityl-1'-amino]-



benzol wurden in 25 ccm absol. Alkohol + 5 ccm Wasser mit 30 mg Platin-oxyd und Wasserstoff geschüttelt, bis 3 Mol. H_2 aufgenommen waren und Entfärbung eintrat (15 Min.). Das farblose Filtrat erhitzen wir mit 80 mg Alloxan in 10 ccm Wasser + 10 ccm Eisessig 3 Min. zum Sieden. Hierauf wurde im Vakuum fast zur Trockne eingengt und in siedendem Wasser aufgenommen. Beim Erkalten fiel die aus dem Diamin und Alloxan unter Austritt von nur 1 Mol. Wasser entstandene Substanz in citronengelben, büschelig vereinigten

¹⁶⁾ Lösung in n_{10}° -NaOH, mit dem gleichen Vol. gesättigter (20 $^\circ$) Borax-Lösung verdünnt.

Nadeln (50 mg) aus, die nach wiederholter Krystallisation aus Wasser bei 216° (Zers.) schmolzen. Zur Analyse wurde 2 Stdn. bei 3 mm (P₂O₅, 100°) getrocknet.

4.041 mg Sbst.: 7.61 mg CO₂, 1.93 mg H₂O. — 3.493 mg Sbst.: 0.426 ccm N (21°, 759 mm).

C₁₇H₂₂N₄O₇ (394.2). Ber. C 51.75, H 5.62, N 14.21.
Gef. „ 51.36, „ 5.35, „ 14.14.

In den wäßrigen Mutterlaugen findet sich das nebenbei entstandene 6.7-Dimethyl-9-*l*-araboflavin.

129. Yasuhiko Asahina und Fukuziro Fuzikawa: Untersuchungen über Flechtenstoffe, L. Mitteil.: Über die Bestandteile von *Parmelia perlata* Ach.

[Aus d. Pharmazeut. Institut d. Universität Tokyo.]
(Eingegangen am 5. März 1935.)

Zopf¹⁾ hat aus *Parmelia perlata* Ach. eine Flechtensäure vom Schmp. 115° isoliert, die er *Imbricarsäure* nannte. Er hat diese Säure nicht analysiert, aber ihre Eigenschaften ziemlich genau beschrieben. Morphologisch ist es nicht leicht, die Flechten der *Perlata*-Gruppe voneinander scharf zu unterscheiden. Manche Lichenologen haben mehrere Flechten, die verschiedene Stoffe enthielten, als *Parmelia perlata* bezeichnet. Wie Zopf¹⁾ ausdrücklich betont, wurde sein Material durch Chlorkalk nicht gerötet, so daß es demnach keine Flechte enthielt, die Olivetorsäure bildet, wie *Parmelia olivetorum* Nyl. (*Parmelia perlata* var. *olivetorum* Ach.). Dagegen hat Hesse²⁾ aus einer angeblichen *Parmelia perlata*, die auf einer indischen Chinarinde gewachsen war, eine *Perlatsäure* genannte Substanz isoliert. Dabei macht er die widersprechende Angabe, daß das Mark der Flechte sich nicht mit Chlorkalk färbt, wohl aber die *Perlatsäure*. Höchstwahrscheinlich war sein Material nicht einheitlich, so daß sich seine Resultate nicht bestätigen lassen.

Im Besitz des einen von uns (A.) befanden sich mehrere Exemplare von *Parmelia perlata*, die von Lösch in Baden gesammelt und bestimmt worden waren. Aus diesen haben wir ein einheitliches Exemplar, das sich mit Chlorkalk nicht rot färbte, ausgelesen. Seine Oberfläche war ziemlich glänzend und weiß punktiert und dürfte infolgedessen nach neuerer Diagnose *Parmelia cetrarioides* Del. var. *typica* Du Rietz³⁾ sein. Beim Extrahieren mit Äther erhielten wir eine Säure C₂₅H₃₂O₇ vom Schmp. 108°. Abgesehen von dem um etwa 7° niedrigeren Schmp. sind die Reaktionen dieser Säure denen der Zopfschen *Imbricarsäure* sehr ähnlich. Beim Verseifen mit Alkali zerfällt die Säure in *p*-Methyläther-olivetol-carbonsäure, Olivetol und Kohlensäure. Bei vorsichtiger Verseifung mit methanolischem Kali wurden *p*-Methyläther-olivetol-carbonsäure-methylester und Olivetol-carbonsäure erhalten⁴⁾. Ferner wurde die Säure mit Diazo-methan

¹⁾ A. 321, 57 [1902].

²⁾ Journ. prakt. Chem. [2] 70, 483 [1904].

³⁾ Du Rietz, Nyt Mag. f. Naturv. 62, 74 [1924].

⁴⁾ Nach der Methode von Asahina und Akagi: Methanolyse der Flechten-Depside (unveröffentlicht).