

## Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft

1936, Nr. 7.

— Abteilung B (Abhandlungen) —

8. Juli.

**283. Richard Kuhn und Paul Boulanger: Beziehungen zwischen Reduktions-Oxydations-Potential und chemischer Konstitution der Flavine.**

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizin. Forschung, Heidelberg, Institut für Chemie; vorgetragen vor d. Chemischen Gesellschaft in Amsterdam am 20. März 1936.]  
(Eingegangen am 22. Mai 1936.)

Die ersten Versuche in der genannten Richtung<sup>1)</sup> haben ergeben, daß das Normalpotential des Lactoflavins ( $-0.21$  Volt für  $p_H = 7.0$  ber.) sich nicht wesentlich verändert, wenn man das Vitamin acetyliert (Tetraacetyl-lactoflavin:  $-0.19$  V), wenn man die Pentitkette photochemisch zur Methylgruppe abbaut (Lumiflavin:  $-0.22$  V), wenn man die NH-Gruppe methyliert (3-Methyl-lumiflavin:  $0.21$  V), ja sogar wenn man den alkali-labilen Ring zerstört (Oxo-carbonsäure  $C_{12}H_{12}O_3N_2$ :  $-0.20$  V).

Durch Kondensation von *N*-monosubstituierten aromatischen *o*-Diaminen mit Alloxan<sup>2)</sup> sind inzwischen Flavine in beliebiger Zahl synthetisch zugänglich geworden, und wir konnten uns so die Aufgabe stellen: 1) die am natürlichen Lactoflavin gewonnenen Ergebnisse mit dem synthetischen Vitamin<sup>3)</sup> und seinen Derivaten zu überprüfen, sowie durch genauere Messungen hinsichtlich der  $p_H$ -Abhängigkeit zu ergänzen, 2) zu untersuchen, welche Bedeutung den in 6.7-Stellung haftenden Methylgruppen zukommt, indem diese ganz oder teilweise fortgelassen oder an andere Stellen des Benzolkerns versetzt wurden, 3) den Einfluß der in 9-Stellung befindlichen Pentitkette zu erforschen, indem wir den Rest der *d*-Ribose nicht nur durch den weiteren Zucker (Glykolaldehyd, Glycerinaldehyd, *d*-Xylose, *d*-Glucose), sondern auch durch ganz andersartige Radikale wie Phenyl, Benzyl, Cyclohexyl u. a. ersetzten. Von besonderer Wichtigkeit war es schließlich festzustellen, ob die im Organismus stattfindende Veresterung des Vitamins mit Phosphorsäure und die weitere Paarung an Eiweiß das Redox-Verhalten des Farbstoffes ändern. Zu diesem Zweck haben wir natürliche und synthetische Lactoflavin-phosphorsäure sowie das gelbe Ferment von O. Warburg und W. Christian ebenfalls der potentiometrischen Titration unterworfen.

**1) Lactoflavin und Lumiflavin.**

Der geringe Unterschied, der zwischen den beiden Farbstoffen natürlicher Herkunft gefunden worden ist, macht sich auch bei den synthetischen Verbindungen bemerkbar. Das Lumiflavin (I) ist etwas negativer als das Vitamin (II).

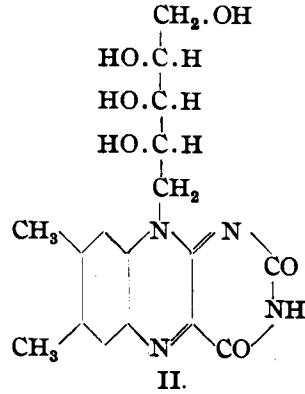
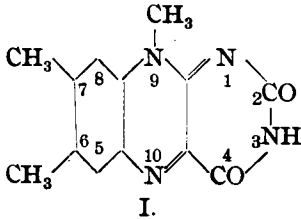
<sup>1)</sup> R. Kuhn u. G. Moruzzi, B. **67**, 1220 [1934].

<sup>2)</sup> R. Kuhn u. F. Weygand, B. **67**, 1409 [1934].

<sup>3)</sup> R. Kuhn, K. Reinemund, F. Weygand u. R. Ströbele, B. **68**, 1765 [1935].

Potentiale bei 50% Reduktion, gemessen gegen die Normal-Wasserstoff-Elektrode bei  $p_H=5.9$  und  $20^\circ$ .

	natürlich <sup>1)</sup>	synthetisch
Lactoflavin.....	-0.146	-0.147
Lumiflavin.....	-0.156	-0.163



Nach Abb. 1 besteht dieser Unterschied im ganzen geprüften  $p_H$ -Bereich von  $p_H = 0.4$  bis  $p_H = 12.8$ . Die  $p_H$ -Kurven sind sehr deutlich in 3 Abschnitte von verschiedener Neigung zerlegbar<sup>4)</sup>, die parallel laufen. Für Lactoflavin erkennt man Knickpunkte bei  $p_H = 6.3$  und bei  $p_H = 10.0$ . Zwischen diesen Punkten beträgt der Potentialabfall je  $p_H$ -Einheit 0.026 Volt.

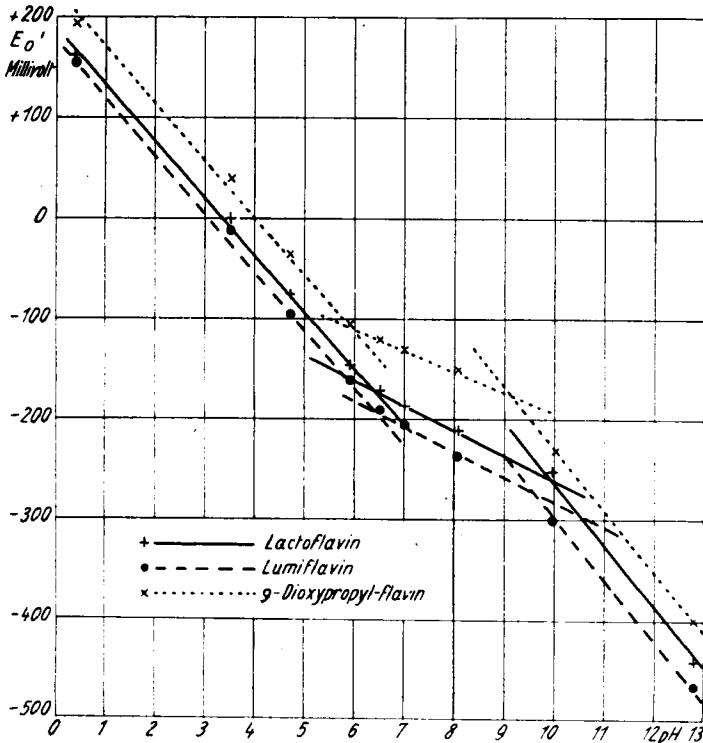


Abb. 1.  $p_H$ -Abhängigkeit der Potentiale. Ordinaten: Millivolt gegen die Normal-Wasserstoff-Elektrode bei 50% Reduktion.

<sup>4)</sup> K. G. Stern, Biochem. Journ. 28, 949 [1934]; F. J. Stare, a. a. O.

darüber 0.055 Volt, darunter 0.062 Volt (durchschnittlich). Die Theorie<sup>5)</sup> sieht Neigungen der Potentialkurven von 0.03 und von 0.06 Volt je  $p_H$ -Einheit vor. Die Abweichung zwischen den gefundenen und den berechneten Neigungswinkeln liegt durchschnittlich innerhalb der Meßfehler.

Bei R. Kuhn und G. Moruzzi<sup>1)</sup> ist das Normalpotential des Lactoflavins für  $p_H = 7.0$  durch Extrapolation der in saurer Lösung ( $p_H = 1.45$  bis 5.90) mit Titantrichlorid erhaltenen Werte zu  $-0.21$  Volt angegeben worden, wobei angenommen war, daß die Kurve von  $p_H = 5.9$  bis 7.0 weiter gradlinig verlaufe. Der Knickpunkt bei  $p_H = 6.3$  zeigt, daß diese Extrapolation nicht statthaft war und das physiologisch wichtige Normalpotential gegen die  $H_2$ -Elektrode bei  $p_H = 7.0$  nunmehr einer kleinen Korrektur bedarf. Nach unseren unmittelbar bei  $p_H = 7.0$  mit Natriumhydrosulfit ausgeführten Titrationen hat als genauer Wert für Lactoflavin zu gelten:  $E_0' = -0.185$  Volt ( $p_H = 7.0$ ; 20°). Zufällig findet man dieselbe Zahl, aber mit positivem Vorzeichen für  $p_H = 0.0$ , wenn man den bei  $p_H = 0.40$  gemessenen Wert ( $+0.162$  Volt) mit 0.058 Volt je  $p_H$ -Einheit extrapoliert:  $E_0 = +0.185$  Volt ( $p_H = 0.0$ ; 20°), was sehr genau mit einer Angabe von E. S. G. Barron und A. B. Hastings<sup>6)</sup> für Lactoflavin ( $+0.187$  Volt) und von F. J. Stare<sup>7)</sup> für „Hepatoflavin“ ( $+0.188$  Volt) übereinstimmt. Man hat dabei zu berücksichtigen, daß  $E_0$  für alle Flavine eine rein theoretische Größe darstellt. Man kann diesen Wert nur durch Extrapolation, nicht aber durch direkte Messungen erhalten, da in stark saurer Lösung der Reduktionsmechanismus (Auftreten des roten Radikals) ein anderer wird.

Für Lumiflavin erhöht sich mit Rücksicht auf den Knickpunkt bei  $p_H = 6.5$  das früher angegebene Normalpotential von  $-0.22$  Volt auf  $E_0' = -0.21$  Volt für  $p_H = 7.0$ .

Der Knickpunkt bei  $p_H = 10.0$  fällt der Theorie entsprechend mit der Säure-Dissoziationskonstante des Lactoflavins und Lumiflavins zusammen, für die R. Kuhn und G. Moruzzi<sup>8)</sup> aus der  $p_H$ -Abhängigkeit der Fluoreszenz  $p_H = 10.2$  gefunden haben. Der Knickpunkt bei  $p_H = 6.3$  liegt dem aus der Fluoreszenz- $p_H$ -Kurve ermittelten isoelektrischen Punkt<sup>9)</sup> von  $p_H = 6.0$  nahe. Ob er einer Dissoziationskonstante des Leuko-lactoflavins entspricht, bedarf noch der Prüfung.

## 2) Die Bedeutung der Methylgruppen.

In allen untersuchten Fällen fanden wir, daß die Methylierung der 3-Stellung ohne nennenswerten Einfluß auf das Redox-Potential ist, wie die folgenden  $E_0'$ -Werte für  $p_H = 4.70$  zeigen.

9-Methyl-flavin .....	$-0.050$ Volt
3,9-Dimethyl-flavin .....	$-0.055$ „
9-Phenyl-flavin .....	$\pm 0.000$ „
3-Methyl-9-phenyl-flavin .....	$-0.002$ „
6,7-Dimethyl-9-d-gluco-flavin .....	$-0.075$ „
3,6,7-Trimethyl-9-d-gluco-flavin .....	$-0.080$ „

<sup>5)</sup> L. Michaelis, *Oxydations-Reduktions-Potentiale*, 2. Aufl. (J. Springer, Berlin 1933).

<sup>6)</sup> Journ. biol. Chem. **105**, 7 [1934].

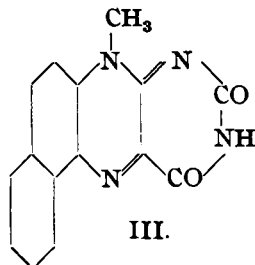
<sup>7)</sup> Journ. biol. Chem. **112**, 223 [1935].

<sup>8)</sup> B. **67**, 888 [1934].

Die am Benzolkern sitzenden Methylgruppen üben dagegen einen erheblichen Einfluß aus. Die Versetzung einer Methylgruppe von 7- in 8-Stellung bewirkt eine Erhöhung des Potentials um 0.113 Volt:

6.7.9-Trimethyl-flavin .....	—0.089 Volt
6.8.9-Trimethyl-flavin .....	+0.024 „
6.9-Dimethyl-flavin .....	—0.059 „

Aus den weiteren Beispielen der Tabellen folgt, daß die im Vitamin vorhandenen 6.7-ständigen Methylgruppen das *negativste* Potential bewirken, das bisher bei synthetischen Flavinen, die Bz-methyliert sind, gemessen worden ist.



Drummond-London, dem wir von diesem Ergebnis erzählten, hat uns die Frage vorgelegt: „Wieviele Millionen Jahre hat die Natur gebraucht, um das auszuprobieren?“

Immerhin gelang es in dem von Hrn. K. Reinemund synthetisierten 9-Methyl-5.6-benzoflavin (III) einen Isoalloxazin-Farbstoff ausfindig zu machen, dessen Potential noch unter demjenigen des Lactoflavins liegt, nämlich bei  $p_H = 12.8$  und  $20^\circ$ :

6.7-Dimethyl-9-d-ribo-flavin .....	—0.44 Volt
5.6-Benzo-9-methyl-flavin .....	—0.50

Aber der tetracyclische Bau dieses Naphtho-flavins, das wegen seiner äußerst geringen Löslichkeit nicht in neutraler und saurer Lösung gemessen werden konnte, gestattet nicht mehr einen unmittelbaren Vergleich mit dem tricyclischen Vitamin.

### 3) Der Einfluß der Pentitkette.

Dieser ist der Erwartung gemäß äußerst *gering*, da es sich um eine aliphatische Seitenkette von wenig ausgesprochenem elektrochemischen Charakter handelt, die überdies durch die am N-Atom 9 befindliche Methylgruppe gegen den Chromophor, an dem sich die Aufnahme und Abgabe des Wasserstoffs abspielt, isoliert ist. Diese Tatsache macht die Übereinstimmung der Absorptions-Spektren und den sehr geringen Unterschied der Redox-Potentiale zwischen Lactoflavin und Lumiflavin (Abschn. 1) verständlich. Die Vermutung, daß der Ersatz von *d*-1'-Ribityl durch Oxy-äthyl, Dioxy-propyl, *l*-1'-Arabityl, *d*-1'-Xylityl, *d*-1'-Sorbityl usw. ohne Einfluß auf die Normalpotentiale sein werde, trifft in der Tat annähernd zu. Der Ersatz von 9-Methyl durch 9-Oxyäthyl und 9-Dioxypropyl macht die Potentiale  $E_0'$  bei  $p_H = 7.0$  nur um eine Kleinigkeit positiver, entsprechend der vom Lumiflavin zum Lactoflavin festgestellten geringen Verschiebung:

9-Methyl-flavin .....	—0.165 Volt
9-Oxyäthyl-flavin .....	—0.155 „
9-Dioxypropyl-flavin .....	—0.135 „

Ist man bei den Pentit- und Hexit-Resten angelangt, so läßt sich kein Einfluß der Konstitution und Konfiguration mehr feststellen ( $E_0'$  für  $p_H = 4.7$ ):

6.7-Dimethyl-9-d-ribo-flavin .....	—0.073 Volt
6.7-Dimethyl-9-d-xyllo-flavin .....	—0.078 „
6.7-Dimethyl-9-d-gluco-flavin .....	—0.073 „

Geht man zu ganz andersartigen Substituenten in 9-Stellung über, die wie Phenyl auch die Absorptionsbanden verschieben, so findet man größere Unterschiede, die aber bisher nur die Größenordnung von 0.050 Volt erreichen ( $E_0'$  bei  $p_H = 4.70$ ):

9-Methyl-flavin .....	-0.048 Volt
Flavin-9-essigsäure .....	-0.036 "
9-Benzyl-flavin .....	-0.036 "
9-Cyclohexyl-flavin .....	-0.012 "
9-Phenyl-flavin .....	$\pm 0.000$ " .

#### 4) Veresterung mit Phosphorsäure.

Mit Natriumhydrosulfit in  $m/15$ -Phosphat-Puffer von  $p_H = 7.0$  bei  $20^\circ$  ausgeführte Titrationsen ergaben für  $E_0'$ :

Natürliche Lactoflavin-phosphorsäure aus Hefe <sup>9)</sup> .....	-0.187 Volt
Synthetische Lactoflavin-phosphorsäure <sup>10)</sup> .....	-0.181 "
Synthetische Lactoflavin-5'-phosphorsäure <sup>11)</sup> .....	-0.191 "
Synthetische 6.7-Dimethyl-9-d-xylo-flavinphosphorsäure <sup>12)</sup> .....	-0.179 " .

Diese Werte stimmen mit denjenigen der zugehörigen phosphor-freien Flavine innerhalb der Fehlergrenzen überein. Die Veresterung des Vitamins mit Phosphorsäure, die sich nicht in unmittelbarer Nähe des Systems konjugierter Doppelbindungen abspielt, hat, wie zu erwarten war, auf das Redox-Potential ebensowenig Einfluß wie auf das Absorptions-Spektrum.

#### 5) Redox-Potential des gelben Ferments.

Die untersuchten Präparate stammten aus Hefe der Löwenbrauerei München und waren von Hrn. H. Rudy nach der Vorschrift von H. Theorell<sup>13)</sup> durch Kataphorese gereinigt. Da die Potential-Einstellung bei  $20^\circ$  zu wünschen übrig ließ, gingen wir dazu über, die Titrationsen bei  $38^\circ$  auszuführen. Um den Einfluß der Temperatur kennen zu lernen, bestimmten wir für 6.7.9-Trimethyl-flavin das Normalpotential bei  $p_H = 6.9$  für  $0^\circ$ ,  $20^\circ$  und  $38^\circ$ . Wir fanden:  $E_0' = -0.181$  Volt ( $0^\circ$ ),  $E_0' = -0.201$  Volt ( $20^\circ$ ) und  $E_0' = -0.216$  Volt ( $38^\circ$ ). Die Potentiale zwischen  $0^\circ$  und  $38^\circ$  sind der Theorie entsprechend den absoluten Temperaturen proportional.

Die Ferment-Lösungen wurden in  $m/15$ -Phosphat-Puffer mit Natrium-hydrosulfit titriert. Ein Beispiel für den Potentialverlauf gibt Abb. 2. Wurden

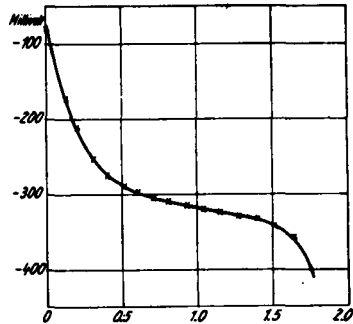


Abb. 2. Potentiometrische Titration von gelbem Ferment bei  $p_H = 7.12$  und  $38^\circ$ .

Abszissen: ccm Natriumhydrosulfit.  
Ordinaten: Millivolt gegen die gesättigte Kalomel-Elektrode.

<sup>9)</sup> H. Theorell, *Biochem. Ztschr.* **275**, 344 [1934].

<sup>10)</sup> R. Kuhn u. H. Rudy, *B.* **68**, 383 [1935]; *Ztschr. physiol. Chem.* **289**, 47 [1936].

<sup>11)</sup> R. Kuhn, H. Rudy u. F. Weygand, *B.* **69**, 1543 [1936].

<sup>12)</sup> Dargestellt von K. Reinemund u. H. Rudy, unveröffentlicht.

<sup>13)</sup> *Biochem. Ztschr.* **278**, 263, 291 [1935].

die entfärbten Lösungen mit Luft geschüttelt und neuerdings titriert, so ergaben sich dieselben Werte.

Gelbes Ferment	t	pH	gef. gegen	ber. für	ber. für
			H <sub>2</sub> -Elektrode	pH = 7.0	pH = 0.0
Präparat 1 .....	38°	7.12	—0.066	E' <sub>0</sub> = —0.059	E <sub>0</sub> = +0.375
	38°	7.12	—0.066	„ = —0.059	„ = +0.375
Präparat 2 .....	38°	6.96	—0.059	„ = —0.061	„ = +0.373
	38°	6.96	—0.062	„ = —0.064	„ = +0.370

Das überraschende Ergebnis der Versuche ist, daß das gelbe Ferment (—0.06 Volt) um 0.12 Volt *positiver* ist als seine Farbstoff-Komponente. Für die physiologische Funktion des Ferments, die nach O. Warburg<sup>14)</sup> und H. v. Euler<sup>15)</sup> in der Dehydrierung der mit Wasserstoff beladenen Nicotinsäureamid-Gruppen der Co-Fermente besteht, folgt, daß die Systeme Dehydrase-Co-Dehydrase bei weitem nicht so negativ zu sein brauchen, wie man es bisher aus thermodynamischen Gründen erwartet hat<sup>16)</sup>. Für das in Gegenwart von Dehydrase sich einstellende Gleichgewicht Alkohol  $\rightleftharpoons$  Acetaldehyd + 2H ist nach J. Lehmann<sup>17)</sup> E'<sub>0</sub> = —0.090 Volt (pH = 7.45). Daß in diesem System, wie H. v. Euler<sup>18)</sup> nachgewiesen hat, das gelbe Ferment als Wasserstoffacceptor auftritt, ist nunmehr auf Grund seines positiveren Potentials (—0.06 Volt) leicht verständlich. Würde das Potential des gelben Ferments mit dem seiner Farbstoffkomponente (—0.19 Volt) übereinstimmen, so könnte es nicht in diese Reaktion eingreifen.

Die Potential-Erhöhung bei der Bindung an Eiweiß ist somit für die physiologischen Aufgaben des Vitamins von großer Bedeutung. Die Natur hat aber bei der Synthese der Flavine nicht von Anfang an auf ein besonders hohes Potential hingearbeitet, sondern im Gegenteil durch die 6.7-ständigen Methylgruppen zunächst einen extrem negativen Farbstoff erzeugt, den sie durch die Bindung an Eiweiß erst nachträglich wieder positiver macht.

Die Tatsache des Potential-Unterschiedes zwischen dem gelben Ferment und der Lactoflavin-phosphorsäure zeigt, daß der spezifische Eiweißkörper nicht nur durch den Phosphorsäure-Rest, der vom Chromophor isoliert ist, gebunden wird. Man muß vielmehr bei der Vereinigung der prosthetischen Gruppe mit dem kolloiden Träger überdies noch eine Bindung an den Flavinkern annehmen, also mindestens 2 Haftstellen. Sehr wahrscheinlich ist die NH-Gruppe in 3-Stellung an dieser weiteren Bindung ausschlaggebend beteiligt. Denn das gelbe Ferment zeigt im Gegensatz zu Lactoflavin und Lactoflavin-phosphorsäure keine Fluoreszenz (H. Theorell)<sup>18)</sup>. Es verhält sich in dieser Hinsicht so wie diese freien Farbstoffe in alkalischer Lösung, die dabei an der 3-ständigen NH-Gruppe Salz bilden. Ein weiterer

<sup>14)</sup> O. Warburg, W. Christian u. A. Griese, *Biochem. Ztschr.* **282**, 157 [1935].

<sup>15)</sup> H. v. Euler, H. Albers u. F. Schlenk, *Ztschr. physiol. Chem.* **287**, 1 [1935].

<sup>16)</sup> Erörterung der thermodynamischen Schwierigkeit: Th. Wagner-Jauregg, *Ergebn. d. Enzymforschung*, F. F. Nord u. E. Weidenhagen, IV. Bd. (Leipzig 1935), S. 333.

<sup>17)</sup> *Biochem. Ztschr.* **274**, 321 [1934]; R. Wurmser, *Compt. rend. Soc. Biologie* **118**, 1027 [1935] fand für Alkohol/Acetaldehyd E'<sub>0</sub> = —0.19 Volt (pH = 7.0), was auch über dem früheren Wert für Lactoflavin (—0.21 Volt) liegt.

<sup>18)</sup> H. v. Euler u. E. Adler, *Ztschr. physiol. Chem.* **288**, 233 [1936].

Umstand, der für die Beteiligung dieser NH-Gruppe an der Bindung des Eiweißkörpers spricht, ist bereits in anderem Zusammenhang erkannt worden: 3-Methyl-lactoflavin zeigt im Gegensatz zu Lactoflavin nicht die geringste Wachstumswirkung an B<sub>2</sub>-frei ernährten Ratten<sup>19)</sup>. Das Bild von Schloß und Schlüssel, das E. Fischer für die Beziehungen eines Ferments zu seinem Substrat gegeben hat, gewinnt nunmehr in einem neuen Sinne Bedeutung, nämlich für das spezifische Zusammentreten eines Vitamins mit einem Eiweißkörper unter Bildung eines Ferments. Der Aufbau des gelben Ferments aus Flavinkern (Fl), zucker-ähnlicher Seitenkette (Z), Phosphorsäure (Ph) und Protein (Pr) entspricht nicht der Formel Fl-Z-Ph---Pr, sondern

$$\begin{array}{c} \text{Fl-Z-Ph} \\ \vdots \\ \text{Pr} \end{array}$$

#### Auszug aus den Protokollen.

In den Tabellen a bis i findet man die gegen die gesättigte Kalomel-Elektrode gemessenen Potentiale in Volt. Der Kürze halber werden nur die Werte für 25%, 50% und 75% Reduktion mitgeteilt, die zur Berechnung der Index-Potentiale I<sub>1</sub> und I<sub>2</sub> erforderlich sind. Die Index-Potentiale beim Lactoflavin (0.020 bis 0.025 Volt) sind wie in den früheren mit G. Moruzzi ausgeführten Versuchen durchwegs (p<sub>H</sub> 3.5 bis 12.8) höher als dem für die Elektronenzahl n = 2 berechneten Wert von 0.014 entspricht. In stark saurer Lösung (p<sub>H</sub> 0.4) erhöhen sich aber die Index-Potentiale nochmals beträchtlich. Hier tritt bei der Titration mit Titantrichlorid bei allen untersuchten Flavinen die von R. Kuhn und Th. Wagner-Jauregg<sup>20)</sup> beobachtete rote Zwischenstufe auf. Die Erhöhung der Index-Potentiale in dieser Gegend, die K. G. Stern<sup>4)</sup> beim „Photoflavin“ und F. J. Stare<sup>7)</sup> beim „Hepatoflavin“ bereits festgestellt haben, geht aber über den für die Elektronenzahl n = 1 berechneten Wert von 0.028 Volt bei manchen Flavinen noch hinaus. So betragen bei p<sub>H</sub> 0.4 die Index-Potentiale für Lactoflavin 0.033 bis 0.035 und für Lumiflavin 0.040 bis 0.045 Volt. Wenn demnach die theoretischen I-Werte, aus noch unbekanntem Gründen, in unseren Versuchen vielfach nicht erhalten wurden, so darf man doch aus dem Anstieg der Index-Potentiale beim Übergang zu stark sauren Lösungen, in denen sich die rote Zwischenstufe bildet, den Schluß ziehen, daß diese entsprechend der Vorstellung von R. Kuhn und Th. Wagner-Jauregg ein Radikal mit unpaarer Elektronenzahl, ein Aminiumsalz (E. Weitz), ist.

#### a) Lactoflavin (6.7-Dimethyl-9-d-ribo-flavin).

p <sub>H</sub>	Puffer	t°	1/4	1/2	3/4	I <sub>1</sub>	I <sub>2</sub>
0.40	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	20°	—0.052	—0.087	—0.120	0.035	0.033
3.50	CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> H/CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> Na .....	20°	—0.225	—0.250	—0.270	0.025	0.020
4.70	CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> H/CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> Na .....	20°	—0.296	—0.322	—0.345	0.026	0.023
5.90	CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> H/CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> Na .....	20°	—0.374	—0.396	—0.417	0.022	0.021
6.50	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	20°	—0.395	—0.420	—0.442	0.025	0.022
7.00	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	20°	—0.410	—0.436	—0.458	0.026	0.022
8.05	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	18°	—0.439	—0.460	—0.480	0.021	0.020
9.95	Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> /NaOH .....	21°	—0.480	—0.501	—0.520	0.021	0.019
12.80	NaOH .....	19°	—0.667	—0.692	—0.717	0.025	0.024

<sup>19)</sup> R. Kuhn, K. Reinemund, F. Weygand u. R. Ströbele, B. 68, 1765 [1935].

<sup>20)</sup> B. 67, 361 [1934].

## b) Lumiflavin (6.7.9-Trimethyl-flavin).

0.40	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	20°	-0.055	-0.095	-0.040	0.040	0.045
3.50	CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> H/CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> Na .....	20°	-0.244	-0.255	-0.265	0.011	0.010
4.70	CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> H/CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> Na .....	18°	-0.317	-0.338	-0.366	0.021	0.025
5.90	CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> H/CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> Na .....	20°	-0.395	-0.412	-0.430	0.017	0.018
6.50	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	19°	-0.422	-0.439	-0.457	0.017	0.018
7.00	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	18°	-0.436	-0.456	-0.475	0.020	0.019
8.05	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	20°	-0.466	-0.486	-0.506	0.020	0.020
9.95	Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> /NaOH .....	20°	-0.529	-0.549	-0.568	0.020	0.019
12.80	NaOH .....	17°	-0.700	-0.715	-0.731	0.015	0.021

## c) 9-Methyl-flavin.

0.40	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	19°	-0.040	-0.073	-0.102	0.033	0.029
3.50	CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> H/CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> Na .....	20°	-0.210	-0.222	-0.232	0.012	0.010
4.70	CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> H/CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> Na .....	17°	-0.281	-0.297	-0.312	0.016	0.015
5.90	CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> H/CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> Na .....	20°	-0.354	-0.370	-0.386	0.016	0.016
6.50	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	23°	-0.377	-0.395	-0.413	0.018	0.018
7.00	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	20°	-0.397	-0.415	-0.433	0.018	0.018
8.05	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	19°	-0.426	-0.443	-0.458	0.017	0.015
9.95	Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> /NaOH .....	19°	-0.487	-0.502	0.519	0.015	0.017
12.80	NaOH .....	18°	-0.656	-0.670	0.687	0.014	0.017

## d) 3.9-Dimethyl-flavin.

0.40	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	20°	-0.050	-0.076	0.001	0.026	0.025
3.50	CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> H/CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> Na .....	20°	-0.218	-0.230	-0.242	0.012	0.012
4.70	CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> H/CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> Na .....	18°	-0.290	-0.304	-0.222	0.014	0.018
5.90	CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> H/CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> Na .....	19°	-0.365	-0.380	-0.395	0.015	0.015
6.50	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	19°	-0.389	-0.402	-0.417	0.013	0.015
7.00	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	20°	-0.407	-0.424	-0.440	0.017	0.016

## e) 6.9-Dimethyl-flavin.

0.40	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	20°	-0.055	-0.077	-0.102	0.022	0.025
3.50	CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> H/CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> Na .....	20°	-0.215	-0.230	-0.245	0.015	0.015
4.70	CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> H/CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> Na .....	17°	-0.292	-0.308	-0.327	0.016	0.019
5.90	CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> H/CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> Na .....	19°	-0.365	-0.381	-0.399	0.016	0.018
6.50	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	19°	-0.386	-0.402	-0.420	0.016	0.018
7.00	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	18°	-0.407	-0.425	-0.442	0.018	0.017
8.05	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	19°	-0.436	-0.453	-0.469	0.017	0.016
9.95	Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> /NaOH .....	21°	-0.496	-0.515	-0.533	0.019	0.018
12.80	NaOH .....	19°	-0.650	-0.667	-0.684	0.017	0.017

## f) 6.8.9-Trimethyl-flavin.

0.40	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	20°	+0.020	-0.004	-0.026	0.024	0.022
3.50	CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> H/CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> Na .....	20°	-0.130	-0.152	-0.171	0.022	0.019
4.70	CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> H/CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> Na .....	20°	-0.200	-0.225	-0.250	0.025	0.025
5.90	CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> H/CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> Na .....	20°	-0.256	-0.284	-0.309	0.028	0.025
7.00	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /NaHPO <sub>4</sub> .....	18°	-0.332	-0.358	-0.384	0.026	0.026
8.05	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /NaHPO <sub>4</sub> .....	21°	-0.367	-0.395	-0.420	0.028	0.025
9.95	Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> /NaOH .....	21°	-0.440	-0.466	-0.488	0.026	0.022
12.80	NaOH .....	18°	-0.605	-0.630	0.650	0.025	0.020



## g) 9-Oxyäthyl-flavin.

0.40	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	19°	-0.043	-0.059	-0.080	0.016	0.021
3.50	CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> H/CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> Na .....	20°	-0.093	-0.208	-0.224	0.018	0.016
4.70	CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> H/CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> Na .....	17°	-0.267	-0.285	-0.304	0.018	0.019
5.90	CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> H/CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> Na .....	20°	-0.342	-0.361	-0.381	0.019	0.020
6.50	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	20°	-0.361	-0.379	-0.401	0.018	0.022
7.00	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	21°	-0.390	-0.405	-0.421	0.015	0.016
8.05	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	20°	-0.416	-0.435	-0.450	0.019	0.015
9.95	Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> /NaOH .....	19°	-0.469	-0.492	-0.560	0.023	0.018
12.80	NaOH .....	19°	-0.630	-0.648	-0.664	0.018	0.016

## h) 9-Dioxypropyl-flavin.

0.40	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	20°	-0.030	-0.055	-0.075	0.025	0.020
3.50	CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> H/CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> Na .....	20°	-0.192	-0.208	-0.225	0.016	0.017
4.70	CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> H/CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> Na .....	18°	-0.265	-0.283	-0.300	0.018	0.017
5.90	CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> H/CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> Na .....	20°	-0.367	-0.355	-0.374	0.018	0.019
6.50	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	20°	-0.351	-0.370	-0.388	0.019	0.018
7.00	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	19°	-0.360	-0.380	-0.400	0.020	0.020
8.05	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	21°	-0.381	-0.400	-0.420	0.019	0.020
9.95	Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> /NaOH .....	20°	-0.462	-0.486	-0.509	0.024	0.023
12.80	NaOH .....	19°	-0.630	-0.647	-0.662	0.017	0.015

## i) 9-Phenyl-flavin.

0.50	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	20°	+0.020	-0.005	-0.020	0.025	0.015
3.50	CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> H/CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> Na .....	20°	-0.164	-0.180	-0.192	0.016	0.012
4.70	CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> H/CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> Na .....	18°	-0.282	-0.250	-0.268	0.018	0.018
5.90	CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> H/CH <sub>3</sub> .CO <sub>2</sub> Na .....	20°	-0.310	-0.325	-0.343	0.015	0.018
6.50	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	20°	-0.322	-0.343	-0.360	0.021	0.017
7.00	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	21°	-0.355	-0.375	-0.400	0.020	0.025
8.05	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	20°	-0.391	-0.408	-0.425	0.017	0.017
9.95	Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> /NaOH .....	20°	-0.460	-0.475	-0.490	0.015	0.015
12.80	NaOH .....	17°	-0.630	-0.645	-0.660	0.015	0.015

Aus Tabelle k sind die Potentiale  $E_0'$  gegen die Normal-Wasserstoff-Elektrode, die sich aus den Tabellen a bis i berechnen, verzeichnet. Tabelle l gibt für weitere Flavine die bei  $p_H = 4.7$  gemessenen  $E_0'$ - und die daraus für  $p_H = 0.0$  berechneten  $E_0$ -Werte an.

k) Potentiale  $E_0'$  bei 50% Reduktion gegen die Normal-Wasserstoff-Elektrode.

$p_H =$ .....	0.40	8.50	4.70	5.90	6.50
Lactoflavin .....	+0.162	0.000	-0.073	-0.147	-0.171
Lumiflavin .....	+0.154	-0.006	-0.089	-0.163	-0.190
9-Methyl-flavin .....	+0.176	+0.027	-0.048	-0.121	-0.146
9-Oxyäthyl-flavin .....	+0.190	+0.041	-0.036	-0.112	-0.130
9-Dioxypropyl-flavin .....	+0.194	+0.041	-0.034	-0.106	-0.121
9-Phenyl-flavin .....	+0.244	+0.069	0.000	-0.076	-0.094
3.9-Dimethyl-flavin .....	+0.173	+0.019	-0.055	-0.131	-0.153
6.9-Dimethyl-flavin .....	+0.172	+0.019	-0.059	-0.132	-0.153
6.8.9-Trimethyl-flavin .....	+0.245	+0.097	+0.024	-0.035	—

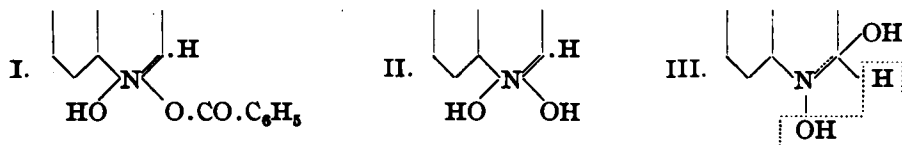
PH = .....	7.00	8.05	9.95	12.80
Lactoflavin .....	-0.186	-0.211	-0.252	-0.443
Lumiflavin .....	-0.207	-0.237	-0.300	-0.465
9-Methyl-flavin .....	-0.167	-0.194	-0.253	-0.421
9-Oxyäthyl-flavin .....	-0.156	-0.186	-0.243	-0.399
9-Dioxypropyl-flavin .....	-0.134	-0.151	-0.236	-0.398
9-Phenyl-flavin .....	-0.126	-0.159	-0.226	-0.396
3.9-Dimethyl-flavin .....	-0.175	—	—	—
6.9-Dimethyl-flavin .....	-0.176	-0.204	-0.266	-0.418
6.8.9-Trimethyl-flavin .....	-0.109	-0.146	-0.217	-0.381

## 284. M. Henze: Die Benzoylierung des Chinolin-oxyds.

[Aus d. Medizin.-chem. Laborat. d. Universität Innsbruck.]

(Eingegangen am 22. Mai 1936.)

Vor kurzem<sup>1)</sup> teilten wir Beobachtungen mit, die bei der Einwirkung von Benzoylchlorid auf Chinaldin-oxyd gemacht wurden. Wir haben unsere Beobachtungen auf das Chinolin-oxyd ausgedehnt, indem wir die gleichen Arbeitsbedingungen inne hielten. Wir erhielten in glatter Reaktion  $\alpha$ -Carbostyryl.



Bezüglich des Reaktionsmechanismus glauben wir, daß, wie in der ersten Mitteilung ausgeführt, auch hier in erster Phase der Benzoessäure-ester einer Cyclammoniumbase (I) entsteht, der jedoch hier nicht gefaßt werden kann, sondern sofort zu II verseift wird (beim Chinaldin-oxyd war er beständig und wurde analysiert). Gleichzeitig erfolgt dabei eine Deckersche Umlagerung und unter Abspaltung von Wasser tritt Valenz-Degradation des Ring-Stickstoffs ein. Es entsteht  $\alpha$ -Carbostyryl (III). Die Wanderung der Hydroxylgruppe findet dabei nur in die  $\alpha$ -Stellung statt.

Wir ließen ferner die Einwirkung des Benzoylchlorids auf das Chinolin-oxyd bei Gegenwart von Kaliumcyanid vor sich gehen, und erhielten dabei in ebenso glatter Weise das Nitril der Chinaldinsäure. Dies ist wohl der einfachste Weg, zu diesem Nitril zu gelangen; er dürfte sich auch bei substituierten Chinolinen verwirklichen lassen. Auch hier halten wir den Reaktionsverlauf über einen nicht faßbaren Benzoessäure-ester für den wahrscheinlichsten. Ausgehend von dem Chlorhydrat des Chinolin-oxyds erfolgt unter dem Einfluß von KCN und Benzoylchlorid sowohl Ersatz von Cl durch CN als Veresterung zu IV. Die Gegenwart von Alkali bedingt eine sofortige Abspaltung von Benzoessäure, die quantitativ abgeschieden werden kann. Es entsteht intermediär die Cyan-Cyclammoniumbase V, die sich unter gleichzeitig verlaufender Wasserabspaltung in das Nitril VI umlagert.

<sup>1)</sup> B. 69, 534 [1936].