

140. Richard Kuhn und Rudolf Ströbele: Über Verdo-, Chloro- und Rhodo-flavine.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizin. Forschung, Heidelberg, Institut für Chemie.]
(Eingegangen am 10. Februar 1937.)

Wenn man *o*-Nitroxylidin-*l*-arabinosid¹⁾ energisch hydriert und anschließend der Kondensation mit Alloxan-Borsäure unterwirft, so erhält man eine dunkelgrüne Lösung, aus der sich an Stelle des erwarteten gelben Flavins grüne Krystalle abscheiden. Löst man diese in verd. Alkali und schüttelt mit Luft, so wird die Lösung augenblicklich rein gelb, und beim Ansäuern krystallisiert reines 6.7-Dimethyl-9-*l*-araboflavin aus. Bei der Reduktion von verschiedenen Flavinen mit Natriumhydrosulfit bei p_{H} 4 bis 8 konnten L. Michaelis, M. P. Schubert und C. V. Smythe²⁾ eine grüne Färbung beobachten. Sie nehmen an, daß es sich um eine Reduktionsstufe des Flavins handelt, die ein Radikal (Semichinon) ist. Wir haben vermutet, daß unser krystallisiertes „grünes Flavin“ mit dem von L. Michaelis in Lösung beobachteten identisch sein und nichts anderes darstellen werde als die Base der schon länger bekannten „roten Zwischenstufe“, die von R. Kuhn und Th. Wagner-Jauregg³⁾ bei der Reduktion von Lactoflavin und anderen Flavinen in stark saurer Lösung beobachtet worden ist. Die Verhältnisse sind aber viel verwickelter: Beim Übergang von Lactoflavin in Leuko-lactoflavin werden nicht weniger als *drei* verschiedene Reduktionsstufen durchlaufen, die sich alle durch hervorragendes Krystallisationsvermögen, lebhafte Farbe und scharf definierte Zusammensetzung auszeichnen: Flavin \rightleftharpoons Verdo-flavin \rightleftharpoons Chloro-flavin \rightleftharpoons Rhodo-flavin \rightleftharpoons Leuko-flavin.

Die Isolierbarkeit von Verdo-, Chloro- und Rhodo-flavin gründet sich auf den glücklichen Umstand, daß sich Bedingungen ausfindig machen ließen, unter denen jeder einzelne dieser Farbstoffe ganz erheblich schwerer löslich ist als sein rechter und linker Nachbar im angegebenen Schema. Da die Löslichkeitseigenschaften von Flavin zu Flavin verschieden sind, ist auch die Leichtigkeit, mit der sich die Reduktions-Zwischenstufen isolieren lassen, ungleich. Besonders günstig liegen die Verhältnisse beim 6.7-Dimethyl-9-*l*-araboflavin, mit dem die im folgenden beschriebenen Versuche ausgeführt wurden. Beim 6.7-Dimethyl-9-*d*-riboflavin (Lactoflavin), das alle Erscheinungen genau so zeigt, ist die Löslichkeit der Verdo-, Chloro- und Rhodo-Stufe erheblich größer.

Alle Reduktionsstufen haben mit dem Leuko-flavin die Eigenschaft gemeinsam, in $n/_{10}$ -Natronlauge beim Schütteln mit Sauerstoff fast augenblicklich quantitativ zum Flavin dehydriert zu werden. Die manometrische Messung des O_2 -Verbrauchs ermöglicht daher mit kleinsten Substanzmengen eine sehr exakte Festlegung der Hydrierungsstufe. Der Dehydrierungstheorie von H. Wieland gemäß geht aller verbrauchte Sauerstoff in Wasserstoffperoxyd über. Dies wurde dadurch bewiesen, daß in Gegenwart

1) R. Kuhn u. R. Ströbele, B. **70**, 773 [1937].

2) Journ. biol. Chem. **116**, 587 [1936].

3) B. **67**, 361 [1934].

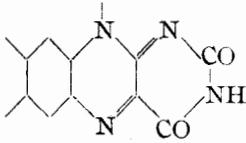
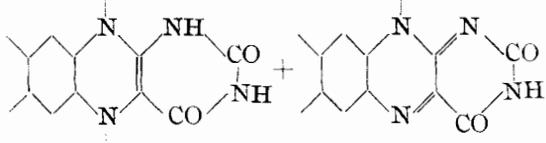
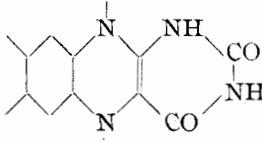
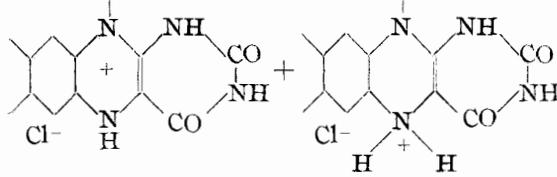
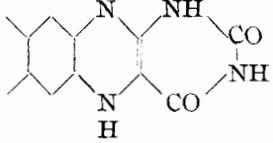
von etwas Platin- oder Palladium-Mohr der O_2 -Verbrauch in allen Fällen genau halb so groß war wie ohne Zusatz oder in Gegenwart von etwas Kaliumcyanid.

Der Gang der Darstellung ist kurz folgender: Das Verdo-flavin erhält man als Natriumsalz, wenn man eine 5-proz. Lösung von Flavin in $n/_{10}$ -Natronlauge katalytisch hydriert. Es ist sehr viel schwerer löslich als die Natriumsalze des Flavins und des Leuko-flavins, so daß es sich unter den angegebenen Bedingungen in grünen kupferglänzenden Nadeln abscheidet. Man erhält dieselbe Krystallisation auch, wenn man in $n/_{10}$ -Natronlauge weiter bis zur Leukostufe hydriert und dann die berechnete Menge Sauerstoff zuläßt. An Stelle von katalytisch erregtem Wasserstoff kann Natriumhydrosulfit als Reduktionsmittel angewandt werden. Das bronzierend grüne Verdo-flavin verbraucht zur Rückbildung von 1 Flavin genau 0.25 Mol. O_2 , was sich für eine Molekülverbindung von 1 Mol. Leuko-flavin und 3 Mol. Flavin berechnet. Da es paramagnetisch ist, muß es jedoch als Molekülverbindung von 1 Mol. Flavin und 1 Mol. Monohydro-flavin aufgefaßt werden, wobei es zunächst unentschieden bleibt, welche der beiden Komponenten als Mono-natriumsalz vorliegt. Im Verdo-flavin trifft dieser Auffassung entsprechend auf je 17 C-Atome $1/2$ Magneton ($X_{mol} \simeq +600 \times 10^{-6}$).

In konz. Salzsäure löst sich Verdo-flavin mit blutroter Farbe unter Bildung von Rhodo-flavin. Dabei tritt aber nicht einfach Salzbildung ein, sondern überdies Disproportionierung. Das aus 4-n. Salzsäure in roten Nadeln krystallisierende Rhodo-flavin ist ein Chlorhydrat (1 Cl auf 17 C-Atome). Es verbraucht in $n/_{10}$ -NaOH genau 3-mal soviel O_2 wie Verdo-flavin, nämlich 0.75 Mol. Es könnte demnach eine Molekülverbindung von 3 Mol. Leuko-flavin und 1 Mol. Flavin sein. Sehr wahrscheinlich handelt es sich aber um eine Molekülverbindung von 1 Mol. Leuko-flavin und 1 Mol. Monohydro-flavin, in der beide Komponenten als Chlorhydrate vorliegen. Das Chlorhydrat des Monohydro-flavins, die eine dieser Komponenten, stellt offenbar ein Aminiumsalz im Sinne von E. Weitz dar.

Beim Waschen mit Wasser verliert das Rhodo-flavin seine rote Farbe und wird braun (Hydrolyse). Die „braune Base“ ist sehr luftempfindlich und verwandelt sich bei Zutritt von Sauerstoff in grasgrüne Nadeln, das Chloro-flavin. Dieses verbraucht in $n/_{10}$ -NaOH genau 0.50 Mol. O_2 . Seine Reduktionsstufe liegt also in der Mitte zwischen derjenigen von Verdo- und Rhodo-flavin und damit auch in der Mitte zwischen Flavin und Leuko-flavin. Das Chloro-flavin kann daher eine Molekülverbindung (Chinhydron) sein, die aus 1 Mol. Flavin und 1 Mol. Leuko-flavin besteht. Es ist aber durch ein paramagnetisches Inkrement von $X_{mol} \simeq +130 \times 10^{-6}$ ausgezeichnet und daher vielleicht teilweise das freie Monohydro-flavin, dem die zentrale Stellung im Reduktions-Schema zukommt. Wir können in jedem Falle das Verdo-flavin ansehen als Molekülverbindung von 1 Flavin + 1 Chloro-flavin und das Rhodo-flavin als Molekülverbindung von 1 Leuko-flavin + 1 Chloro-flavin. Die erstere ist bisher nur als Mono-natriumsalz, die letztere als Dichlorhydrat krystallisiert erhalten worden, was vor allem durch die Löslichkeitsverhältnisse bedingt erscheint.

Die folgenden Formeln für die von uns isolierten verschiedenen Reduktionsstufen der Flavine halten wir zurzeit für die wahrscheinlichsten:

| | Brutto- formel | O ₂ -Verbrauch bei Rückbildung von 1 Flavine |
|---|--------------------------------------|--|
|  | Flavin, gelb | C ₁₇ H ₂₀ O ₄ N ₄ |
| | | 0.00 |
|  | Verdo-flavin, bronzierend grün | C ₁₇ H ₂₁ O ₆ N ₄ C ₁₇ H ₁₉ O ₆ N ₄ Na |
| | | 0.25 |
|  | Chloro-flavin, grasgrün | C ₁₇ H ₂₁ O ₆ N ₄ |
| | (überwiegend dimer) | 0.50 |
|  | Rhodo-flavin, karmoisinrot | C ₁₇ H ₂₁ O ₆ N ₄ .HCl C ₁₇ H ₂₂ O ₆ N ₄ .HCl |
| | | 0.75 |
|  | Leuko-flavin, weiß | C ₁₇ H ₂₂ N ₄ O ₆ |
| | | 1.00 |

Die Formulierung des Chloro-flavins mit 2-wertigem Stickstoff in 10-Stellung ist unbewiesen. Sie kommt überdies nur für eine Gleichgewichtskomponente in Frage. Der Sitz des ungepaarten Elektrons könnte auch an einem anderen N-Atom oder an einem der C-Atome, die den Pyrimidinring mit dem Azinring verknüpfen, zu suchen sein (Radikal mit 3-wertigem Kohlenstoff). Eine experimentelle Entscheidung dieser Frage dürfte kaum leicht möglich sein. Wenn wir dazu neigen, in den Verdo-, Chloro- und

Rhodo-flavinen Analoga der von H. Wieland entdeckten Diarylstickstoffe zu erblicken, so bestimmt uns hierzu die Überlegung, daß auf Grund der systematischen Untersuchungen von H. Wieland ein Hydrazin, in dem beide N-Atome dem mittleren Ring eines Dihydro-alloxazins angehören, alles Recht hätte, in freie Radikale zu dissoziieren. Auf dieser Überlegung beruht auch die angegebene Formulierung des Verdo-flavins, für das wir längere Zeit die Formel eines Aminiums Salzes bevorzugt hatten, in dem das Monohydroflavin mit dreiwertigem, positiv geladenem N-Atom in 9- bzw. 10-Stellung als Kation und das Flavin wie im Lactoflavin-natrium als Anion auftritt⁴⁾.

Der Befund, daß der Paramagnetismus des Chloro-flavins bei $T = 300^{\circ}$ hinter dem für 1 Magneton berechneten stark zurückbleibt und bei $T = 90^{\circ}$ noch etwas geringer ist, kann durch die Annahme eines temperaturabhängigen Gleichgewichts $2 \text{ Radikal} \rightleftharpoons 1 \text{ Chinhydron}$ erklärt werden. Für gleich wahrscheinlich halten wir die Vorstellung, daß das Chloro-flavin als Radikal mit 2-wertigem Stickstoff bei tiefen Temperaturen der Assoziation zum entsprechenden Hydrazin unterliegt.

Beim Rhodo-flavin darf man das Vorliegen einer Verbindung, die gleichzeitig Aminium- und Ammoniums Salz ist, annehmen. Die Unsicherheit der Rhodo-flavin-Formel betrifft vor allem den Sitz der positiven Ladungen. In der als Aminiums Salz vorliegenden (linken) Hälfte haben wir das + Zeichen in die Mitte des Azinrings geschrieben, um keines der N-Atome 9 und 10 zu bevorzugen, obwohl dem tertiären N-Atom in 9-Stellung gegenüber dem sekundären in 10-Stellung ein gewisser Vorrang nicht zu bestreiten ist; leiten sich doch alle stabilen Aminiums Salze mit nur 1 N-Atom, die isoliert wurden, so wie das Tri-*p*-tolyl-aminiumperchlorat (E. Weitz) von tertiären und nicht von sekundären Aminen ab. In der als Ammoniums Salz vorliegenden (rechten) Hälfte des Rhodo-flavins ist eine Entscheidung darüber, ob das N-Atom 9 oder 10 Träger der positiven Ladung ist, noch schwieriger.

Für das *Leuko-flavin* kann die angegebene Formulierung als gut begründet gelten. Es ist nämlich gemeinsam mit Hrn. P. Boulanger gelungen, verschiedene Flavine durch reduzierende Acetylierung in schön krystallisierende, weiße Mono-acetyl-dihydro-Verbindungen zu verwandeln, die noch 2 aktive H-Atome besitzen.

Als Reduktionszwischenstufen organischer Farbstoffe sind bisher 2 Typen bekannt gewesen: Diamagnetische Chinhydronne (Molekülverbindungen) und paramagnetische Radikale mit unpaarer Elektronenzahl. Im Verdo- und Rhodo-flavin liegen Verbindungen vor, in denen sich die hervorstechendsten Eigenschaften dieser beiden Typen — Molekülverbindung und Radikal — vereinigen. Vermutlich werden manche schon länger bekannte, in ihrer Konstitution aber noch nicht aufgeklärte abnorme Reduktionszwischenstufen organischer Farbstoffe wie Subhalogenide und Merichinone, deren Zusammensetzung vom Verhältnis 1:1 abweicht, sich als Analoga des Verdo- und Rhodo-flavins und damit als „ $1/4$ -Chinone“ und „ $3/4$ -Chinone“ erweisen.

⁴⁾ Für die Bildung des Natriumsalzes blieb dabei in der „Flavinhälfte“ kein aktives H-Atom mehr übrig, so daß die gefundene Zusammensetzung von 1 Na auf 2 C₁₇ erklärlich schien.

Wieweit solche Molekülverbindungen nicht nur im krystallisierten, festen Zustand, sondern auch in Lösung existenzfähig sind, steht noch nicht fest. Aus den Farben der konzentrierten Lösungen ist zu schließen, daß der Zerfall in die Komponenten nicht wie beim Chinhydron vollständig sein kann. Für die in verd. Lösung beobachtete rote Reduktionsstufe des Lactoflavins kommt die von R. Kuhn und Th. Wagner-Jauregg³⁾ vermutete Zusammensetzung einer salzsauren „ $1/2$ -Chinon“ nach wie vor in Betracht. Aber dieses konnte noch unter keinen Bedingungen gefaßt werden, da sich bei der Krystallisation aus den tiefroten Lösungen stets unter Disproportionierung das „ $1/4$ -Chinon“ (Rhodoflavin) ausschied.

Die vierstufige Hydrierung des Lactoflavins bedeutet, daß die Energie der Gesamtreaktion noch stärker unterteilt werden kann, als es bisher vermutet werden durfte. Für das Verständnis der biologischen Wirkungen des Vitamins ist diese Möglichkeit von Bedeutung. Sie kommt allerdings nur in Betracht unter Bedingungen, unter denen der Farbstoff bzw. sein an Eiweiß gebundener Phosphorsäure-ester assoziiert (dimer) ist. Daß sich die Energie in der Stufe des „ $1/4$ -Chinons“ und des „ $3/4$ -Chinons“ auf beide Hälften der Molekülverbindungen verteilt, ist aus den charakteristischen tiefen Farben ersichtlich, die mit einer physikalischen Addition der Farben ihrer Komponenten nichts zu tun haben.

Beim isolierten gelben Ferment sind in verd. wäßriger Lösung noch keine Anzeichen der Assoziation (Dimerisierung) gefunden worden. Ob dies auch für den Zustand in den Zellen gilt, ist aber unbekannt. Beim Hämoglobin liegen dagegen selbst in der reinen verd. wäßrigen Lösung Teilchen mit 4 Fe-Atomen ($4 \times 16000 = 64000$) vor. Es wäre erwünscht zu wissen, ob das auch für die damit chemisch verwandten, an der Zellatmung — insbesondere an der Übernahme von Wasserstoff vom gelben Ferment (H. Theorell) — beteiligten Cytochrome zutrifft. Sollte dies der Fall sein, so wäre die mit dem Übergang Ferro \rightleftharpoons Ferri verknüpfte Energieänderung ebenfalls in 4 Stufen zerlegbar, entsprechend den aus 1 Ferri + 3 Ferro, 2 Ferri + 2 Ferro und 3 Ferri + 1 Ferro zusammengesetzten Teilehen der Reaktionszwischenstufen, die statistisch zu erwarten wären.

Beschreibung der Versuche.

Verdo-flavin.

200 mg 6.7-Dimethyl-9-*I*-araboflavin werden in 4 ccm 0.3-*n*. Natronlauge gelöst. Die tiefgelbe Lösung versetzt man tropfenweise mit 5-proz. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ -Lösung, wobei sich ein schmutzig grüner, voluminöser Niederschlag bildet. Sobald neues Hydrosulfit keine weitere Fällung hervorruft, erhitzt man zum Sieden, wobei alles klar in Lösung geht. Alle Operationen sind in einer tadellos dichten Apparatur unter reinstem Stickstoff auszuführen. Beim Abkühlen scheidet sich das Verdo-flavin in schönen kupferähnlich glänzenden, grünen Nadeln ab. Diese werden 2-mal mit Wasser, darauf mit Aceton gewaschen und bei 15—20°/1 mm über Phosphorpentoxyd getrocknet.

4.154 mg Sbst.: 0.409 mg Na_2SO_4 .

$\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{O}_6\text{N}_4$, $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{O}_6\text{N}_4\text{Na}$. Ber. Na 2.97. Gef. Na 3.19.

I) Sauerstoff-Verbrauch ohne Zusatz.

2.064 mg Sbst., in 3 ccm n_{100}° -NaOH mit O_2 geschüttelt, verbraucht. bei 25° innerhalb von 10 Min.⁵⁾ 30.7 cmm (0°, 760 mm), ber. für 0.25 Mol. O_2 (Mol.-Gew. 387.7) 30.5 cmm (0°, 760 mm).

II) Sauerstoff-Verbrauch in Gegenwart von Cyankali.

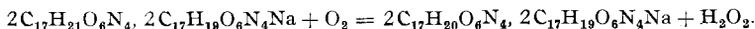
9.378 mg Sbst., in 3 ccm n_{50}° -NaOH mit O_2 geschüttelt, verbraucht. bei 25° innerhalb von 10 Min.⁵⁾ 130 cmm (0°, 760 mm), ber. für 0.25 Mol. O_2 (Mol.-Gew. 387.7) 135 cmm (0°, 760 mm).

III) Sauerstoff-Verbrauch in Gegenwart von Platin.

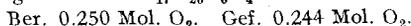
9.031 mg Sbst., in 3 ccm n_{50}° -NaOH mit O_2 geschüttelt, verbraucht, bei 25° innerhalb von 10 Min.⁵⁾ 66.0 cmm (0°, 760 mm), ber. für 0.125 Mol. O_2 (Mol.-Gew. 387.7) 65.5 cmm (0°, 760 mm).

Hieraus folgen die Reaktionsgleichungen

A) H_2O_2 -Zerfall durch KCN gehemmt:



Für die Rückbildung von 1 Mol. $C_{17}H_{20}O_6N_4$ aus Verdo-6.7-dimethyl-9-*l*-araboflavin:



B) H_2O_2 zersetzt durch Pt:



Für die Rückbildung von 1 Mol. $C_{17}H_{20}O_6N_4$ aus Verdo-6.7-dimethyl-6.7-dimethyl-9-*l*-araboflavin:



Das Verdo-flavin könnte somit eine Molekülverbindung sein — ein Merichinin im Sinne von R. Willstätter — bestehend aus 3 Mol. Flavin $C_{17}H_{20}O_6N_4$ + 1 Mol. Leuko-flavin $C_{17}H_{22}O_6N_4$. Da Verdo-flavin paramagnetisch ist, muß aber die Elektronenzahl ungerade sein und die Bruttoformel halbiert werden. Verdo-flavin kann daher nur aufgefaßt werden als Molekülverbindung aus 1 Mol. Flavin $C_{17}H_{20}O_6N_4$ und 1 Mol. Radikal $C_{17}H_{21}O_6N_4$ (Monohydro-flavin), wobei es vorerst unentschieden bleibt, welche der beiden Komponenten als Natriumsalz vorliegt.

Das kristallisierte, getrocknete Verdo-6.7-dimethyl-9-*l*-araboflavin wird beim Liegen an der Luft erst im Laufe mehrerer Stunden gelb (Dehydrierung). Beim Übergießen mit Wasser geht es augenblicklich unter Rückbildung von Flavin mit gelber Farbe in Lösung. Feuchtigkeit in Gegenwart von Luft ist daher äußerst schädlich. Aber auch das getrocknete Präparat, dessen Krystallform derjenigen des Lactoflavins zum Verwechseln ähnlich ist, zersetzt sich schon, wenn man es einige Zeit auf 40° erwärmt. In kaltem Wasser ist das Verdo-flavin recht schwer, in heißem dagegen leicht löslich, so daß das Umkrystallisieren in einer tadellos dichten Apparatur unter reinstem Stickstoff unschwer gelingt. Die heiße wäßrige Lösung ist nicht rein grün, sondern hat einen mehr braunen Ton; offenbar dissoziiert die Molekülverbindung unter diesen Bedingungen bereits weitgehend.

Vor dem Gittermeß-Spektroskop (Loewe-Schumm) ließ eine konz. kalte Lösung von Verdo-6.7-dimethyl-9-*l*-araboflavin in Wasser nur die Wellenlängen von 650 bis 526 μ durch. Das langwelligere Rot und das kurzwelligere Blau wurden restlos absorbiert.

Rhodo-flavin.

Übergießt man das eben beschriebene Verdo-flavin mit konz. Salzsäure, so geht es mit blutroter Farbe in Lösung, aber es gelingt nicht, daraus den neuen Farbstoff in einheitlicher Form zu gewinnen. Der Grund hiervon ist, daß die Hydrierungsstufen von Verdo- und Rhodo-flavin zu weit auseinander liegen. Beim Lösen in Salzsäure spielt sich eine Disproportionierung des Verdo-flavins ab, die stöchiometrisch so ungünstig liegt, daß aus 1 g des grünen Farbstoffs nur 0.33 g des roten entstehen können.

Die Isolierung des Rhodo-flavins in kristallisierter Form gelang erst, als die katalytische Hydrierung des Flavins in alkalischer Lösung über die Stufe des Verdo-flavins hinausgeführt wurde.

⁵⁾ Endwert.

500 mg 6.7-Dimethyl-9-*l*-araboflavin werden in 10 ccm n_{10} -Natronlauge gelöst und mit 100 mg Palladiumoxyd und Wasserstoff von Atmosphärendruck geschüttelt. Die braunstichig gelbe Lösung wird dabei allmählich grün, und nach etwa $\frac{1}{2}$ Stde. scheidet sich Verdo-flavin in grünen Nadeln ab. Man hydriert nun weiter, wobei das Verdoflavin unter Bildung von Leukoflavin wieder in Lösung geht. Sobald alles gelöst ist, verdrängt man den Wasserstoff im Kolben durch reinsten Stickstoff und filtriert unter peinlichem Abschluß von Luft vom Katalysator ab. Das schwach alkalische Filtrat versetzt man mit 20 ccm konz. Salzsäure und wirbelt die blutrote Lösung mit einem Strom reinsten Stickstoffs kräftig durch, damit der zunächst ausgefallene voluminöse rote Niederschlag wieder in Lösung geht. Sobald dies eingetreten ist, verdünnt man vorsichtig mit 20 ccm Wasser, worauf die Abscheidung schöner karmoisinroter Nadeln beginnt. Man läßt einige Stunden im Eisschrank stehen, zentrifugiert ab und wäscht zweimal mit 2-*n*. Salzsäure und zum Schluß mit Aceton. Die Substanz kann bei 100°/1 mm über Phosphorperoxyd getrocknet werden. Beim Erhitzen über 150° erleidet sie Zersetzung unter Schwarzfärbung.

6.110 mg Sbst.: 1.98 mg AgCl. — 6.195 mg Sbst.: 2.02 mg AgCl.

$C_{17}H_{21}O_6N_4$, HCl. $C_{17}H_{22}O_6N_4$, HCl. Ber. Cl 8.58. Gef. Cl 8.07, 8.03.

I) Sauerstoff-Verbrauch ohne Zusatz:

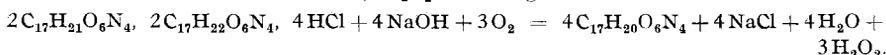
6.853 mg Sbst., in 2 ccm n_{10} -NaOH mit O_2 geschüttelt, verbraucht bei 25° innerhalb von 10 Min.⁶⁾ 267 cmm (0°, 760 mm), ber. für 0.75 Mol. O_2 (Mol.-Gew. 414.2) 275 cmm (0°, 760 mm).

II) Sauerstoff-Verbrauch in Gegenwart von Platin:

6.00 mg Sbst., in 2 ccm n_{10} -NaOH mit O_2 geschüttelt, verbraucht bei 25° innerhalb von 15 Min.⁶⁾ 128.5 cmm (0°, 760 mm), ber. für 0.375 Mol. O_2 (Mol.-Gew. 414.2) 122 cmm (0°, 760 mm).

Hieraus folgen die Reaktionsgleichungen

A) H_2O_2 -Bildung:



Für die Rückbildung von 1 Mol. $C_{17}H_{20}O_6N_4$ aus Rhodo-6.7-dimethyl-9-*l*-araboflavin:
Ber. 0.75 Mol. O_2 . Gef. 0.73 Mol. O_2 .

B) H_2O_2 zersetzt durch Pt:



Für die Rückbildung von 1 Mol. $C_{17}H_{20}O_6N_4$ aus Rhodo-6.7-dimethyl-9-*l*-araboflavin:
Ber. 0.375 Mol. O_2 . Gef. 0.395 Mol. O_2 .

Das Rhodo-flavin könnte somit eine Molekülverbindung von 1 Mol. Flavin $C_{17}H_{20}O_6N_4$ + 3 Mol. Leuko-flavin $C_{17}H_{22}O_6N_4$ sein. Es ist sehr wahrscheinlich eine Molekülverbindung von 1 Mol. Leuko-flavin $C_{17}H_{22}O_6N_4$ und 1 Mol. Radikal $C_{17}H_{21}O_6N_4$ (Mono-hydro-flavin), in der jede der beiden Komponenten als Chlorhydrat vorliegt.

An der Luft ist das Rhodo-6.7-dimethyl-9-*l*-araboflavin nicht sehr haltbar, aber doch weit beständiger als das entsprechende Verdo-flavin. In 2-*n*. Salzsäure ist es nur sehr wenig löslich, in konz. Salzsäure löst es sich äußerst leicht mit blutroter Farbe. Eine solche Lösung ließ vor dem Gittermeß-Spektroskop (Loewe-Schumm) alle Strahlen, die langwelliger als 585 m μ waren, durch, während alle kurzwelligeren Strahlen restlos absorbiert wurden.

⁶⁾ Endwert.

Chloro-flavin.

Wäscht man Rhodo-flavin unter Ausschluß von Luft mit Wasser, so erleidet das Chlorhydrat Hydrolyse. Die Krystallform ändert sich dabei nicht, aber die rote Farbe der Nadeln schlägt nach Braun um. Dieses „braune Flavin“ stellt vermutlich eine Molekülverbindung dar, die als Base des roten Chlorhydrats aufzufassen ist und mit diesem auf derselben Hydrierungsstufe steht. Die braune Base läßt sich nur unter großen Vorsichtsmaßnahmen isolieren, da sie äußerst luftempfindlich ist. Das bei Zutritt von O_2 sich bildende Dehydrierungsprodukt ist grasgrün gefärbt und von dem eingangs beschriebenen Verdoflavin, das kupferglänzend grün ist, durchaus verschieden.

Zur Darstellung des Chloro-flavins wird die aus Rhodo-flavin frisch bereitete „braune Base“ in reinem Wasser aufgeschlämmt und so lange mit Luft geschüttelt, bis der Niederschlag rein grüne Farbe angenommen hat. Die Dehydrierung wird dann durch Einleiten von Stickstoff unterbrochen und die Substanz von der überstehenden Lösung durch Zentrifugieren abgetrennt, 2-mal mit Wasser und mit Aceton gewaschen. Aus heißem Wasser läßt sich das Chloro-flavin gut umkrystallisieren. Man erhält so schöne grasgrüne Nadeln vom Schmp. 288° (k. Th.; Zers.). Die grüne Farbe bleibt bis nahe an den Schmelzpunkt erhalten, auch wenn die Substanz in offenen Röhrchen erhitzt wird. Zur Analyse wurde bei $100^{\circ}/1$ mm über P_2O_5 getrocknet. Die Substanz erwies sich als chlorfrei.

3.991 mg Sbst.: 2.26 mg H_2O , 7.815 mg CO_2 .

$C_{17}H_{21}O_6N_4$ (377.2). Ber. C 54.08, H 5.61. Gef. C 53.40, H 6.34.

I) Sauerstoff-Verbrauch in Gegenwart von wenig Platin:

6.68 mg Sbst., in 2 ccm n_{10} -NaOH mit O_2 geschüttelt (25°), verbraucht. nach

| | |
|--|-----------------------------------|
| 2 Min. | 132 cmm (0° , 760 mm), |
| 15 Min. | 115 cmm (0° , 760 mm), |
| 65 Min. | 105 cmm (0° , 760 mm), |
| 100 Min. | 99.5 cmm (0° , 760 mm), |
| 780 Min. | 99 cmm (0° , 760 mm), |
| ber. für 0.25 Mol. O_2 (Mol.-Gew. 377.2) | 99.7 cmm (0° , 760 mm). |

II) Sauerstoff-Verbrauch in Gegenwart von Platin:

6.987 mg Sbst., in 2 ccm n_{10} -NaOH mit O_2 geschüttelt (25°), verbraucht. nach 10 Min. 99 cmm (0° , 760 mm), ber. für 0.25 Mol. O_2 (Mol.-Gew. 377.2) 104 cmm (0° , 760 mm).

Die zur Begründung der Formeln angeführten magneto-chemischen Ergebnisse verdanken wir der Liebenswürdigkeit von Herrn Eugen Müller und Frau Ilse Müller-Rodloff, die über die Suszeptibilitätsmessungen eingehender berichten werden.