

schine geschüttelt. Nach Ausfällen des überschüssigen Baryts mit Kohlensäure und Zentrifugieren wurde bei 30–40° im Vakuum verdampft, der Rückstand mit 50 ccm Alkohol ausgezogen und abermals zentrifugiert. Die klare Lösung hinterließ nach dem Verdampfen im Vakuum einen Sirup, der nach einigen Stunden krystallin erstarrte. Nach dem Umkrystallisieren aus Essigester unter Zusatz von Petroläther lagen 1.85 g β -Cyclo-geraniol- β -*d*-glucosid in Form von feinen, rosetten-artig angeordneten Nadelchen vor, die bei 74–75° schmelzen.

3.920 mg Sbst.: 8.220 mg CO₂, 3.16 mg H₂O.

C₁₆H₃₀O₇ (334.2). Ber. C 57.44, H 9.05. Gef. C 57.19, H 9.02.

$[\alpha]_D^{19} = (-1.68^\circ \times 100) : (2.365 \times 2) = -35.5^\circ$ (96-proz. Alkohol).

$[\alpha]_D^{19} = (-2.10^\circ \times 100) : (2.923 \times 2) = -35.9^\circ$ (96-proz. Alkohol).

Die Substanz schmeckt stark bitter. Sie ist leicht löslich in Alkohol und Aceton, schwerer in Äther. In Wasser löst sie sich in der Wärme sehr leicht, in der Kälte ziemlich schwer. Sie krystallisiert aus Wasser in feinen Nadeln, die kein Krystallwasser enthalten. Durch verd. Mineralsäuren wird das Glucosid leicht gespalten, nicht aber durch Alkalien. Es reduziert demgemäß Fehlingsche Lösung auch in der Siedehitze nicht.

Der Deutschen Forschungs-Gemeinschaft danken wir aufrichtig für die Überlassung von Apparaten.

71. Richard Kuhn und Theodor Wagner-Jauregg: Über das Reduktions-Oxydations-Verhalten und eine Farbreaktion des Lacto-flavins (Vitamin B₂)*).

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für medizin. Forschung Heidelberg, Institut für Chemie.]
(Eingegangen am 15. Januar 1934.)

Lacto-flavin ist in essigsaurer, neutraler und alkalischer Lösung sehr leicht zu einer farblosen Dihydro-Verbindung (Leuko-lactoflavin) reduzierbar, aus der sich beim Schütteln mit Luft das gelbe, grün fluorescierende Vitamin zurückbildet¹⁾. Nimmt man die Reduktion in mineralsaurer Lösung vor, etwa in 10-proz. Salzsäure, so wird die Leuko-Verbindung nicht direkt gebildet. Es tritt vielmehr eine intensiv rote Zwischenstufe auf, die verhältnismäßig beständig ist. Als Reduktionsmittel sind Zink, Zinn, Natriumamalgam u. a. geeignet. Die rote Lösung zeigt im Spektroskop eine starke Absorptionsbande mit dem optischen Schwerpunkt bei 490 m μ . Stumpft man mit Natriumacetat ab, so kehrt unter dem Einfluß des Luft-Sauerstoffs die ursprüngliche gelbe Farbe (Schwerpunkt der ersten Hauptbande 445 m μ) und Fluoreszenz augenblicklich zurück.

Es ist wahrscheinlich, daß die rote Zwischenstufe das Salz einer radikalartigen Monohydro-Verbindung darstellt. Sie bildet sich nämlich unter genau denselben Bedingungen, unter denen bei der Reduktion von

*) Vorgetragen und demonstriert in der Sitzung der Münchner Chemischen Gesellschaft am 21. Dezember 1933.

¹⁾ Über die verschiedenen Reduktionsmittel vergl. R. Kuhn, H. Rudy u. Th. Wagner-Jauregg, B. 66, 1950 [1933].

Pyocyanin die grüne Zwischenstufe auftritt, die nach der potentiometrischen Analyse von L. Michaelis²⁾ als Radikal gekennzeichnet ist. Im Falle des Pyocyanins ist es möglich gewesen³⁾, das Radikal als Perchlorat präparativ darzustellen, und die magnetische Untersuchung des festen Salzes hat den der unpaaren Elektronen-Zahl entsprechenden Paramagnetismus ergeben.

Im Hinblick auf die von F. Haber und R. Willstätter⁴⁾ entwickelten Vorstellungen über die Bedeutung von Unpaarigkeit und Radikalen bei biologischen Vorgängen ist es bemerkenswert, daß Naturfarbstoffe wie Pyocyanin und Lacto-flavin, die für Vorgänge der Zellatmung von Bedeutung sind, das Auftreten radikal-artiger Monohydro-Verbindungen mit freiem Auge erkennen lassen. Die sichtbare Bildung der Radikale findet allerdings bei keinem der beiden Farbstoffe unter den biologischen p_H -Bedingungen statt, sondern nur in saurer Lösung.

Die Wirksamkeit des Lacto-flavins als Vitamin B_2 hängt mit seinem Reduktions-Oxydations-Verhalten aufs innigste zusammen. Es stellt allem Anscheine nach die prosthetische Gruppe des gelben Ferments von O. Warburg und W. Christian⁵⁾ dar, die dem Organismus der Säugetiere mit der Nahrung zugeführt werden muß⁶⁾. Nach Th. Wagner-Jauregg und H. Ruska⁷⁾ kommt dem Vitamin B_2 als solchem noch ein weiterer, sehr viel ausgedehnter Wirkungsbereich zu. Es vermag bei verschiedenartigen enzymatischen Dehydrierungs-Reaktionen die viel untersuchte Rolle des zellfremden Methylenblaus zu übernehmen, so daß es als „Methylenblau der Zelle“ angesprochen werden kann. Wie Th. Wagner-Jauregg und H. Ruska beobachtet haben, läßt sich jedoch nicht in allen Systemen das Methylenblau durch Flavine ersetzen. Dies hängt offenbar unter anderem mit dem erheblich abweichenden Reduktions-Oxydations-Potential der Flavine zusammen, die bei $p_H = 7.0$ etwa $\epsilon = -0.20$ Volt zeigen⁸⁾, während bei $p_H = 7.0$ für Methylenblau $\epsilon = \pm 0.00$ Volt ist. Der auffallend negative Wert der Flavine ($\epsilon = -0.20$ Volt bei $p_H = 7$) ergänzt die Redox-Potentiale anderer Zellbestandteile, wie der Ascorbinsäure ($\epsilon = +0.20$ Volt) und der Sulfhydryl-Systeme (Glutathion: $\epsilon = \pm 0.0$ Volt), in glücklicher Weise⁹⁾.

Dem Redox-Potential des Vitamins B_2 kommt demnach zweifellos eine besondere Bedeutung für das Verständnis seiner Wirkungsweise zu. Aber es wäre nicht richtig, das Redox-Potential allein für die Vitamin-Eigenschaft verantwortlich machen zu wollen. Es zeigt sich nämlich, daß

²⁾ Journ. biol. Chem. **92**, 211 [1931]. ³⁾ vergl. eine folgende Abhandlung.

⁴⁾ B. **64**, 2844 [1931]. ⁵⁾ Naturwiss. **20**, 980 [1932].

⁶⁾ P. György, R. Kuhn u. Th. Wagner-Jauregg, Naturwiss. **21**, 560 [1933]; R. Kuhn, Journ. chem. Ind. **52**, 981 [1933]. ⁷⁾ B. **66**, 1298 [1933].

⁸⁾ vergl. dazu R. Bierich, A. Lang u. A. Rosenbohm, Naturwiss. **21**, 496 [1933]. Diese Messungen sind an ganz unreinen Farbstoff-Lösungen vorgenommen und müssen durch solche mit reinen kristallisierten Flavin-Präparaten überprüft werden. Wahrscheinlich ist das wahre Potential noch stärker negativ. Leuko-lacto-flavin ist eines der stärksten Reduktionsmittel, das nicht nur Methylenblau, sondern, wie wir gefunden haben, sogar Pyocyanin entfärbt und damit titriert werden kann: Leuko-lactoflavin + Pyocyanin \rightarrow Leuko-pyocyanin + Lacto-flavin.

⁹⁾ vergl. die graphische Darstellung bei A. Szent-Györgyi, Ztschr. physiol. Chem. **217**, 51 [1933].

Lumi-lactoflavin, das keine Wirksamkeit als Vitamin B₂ besitzt¹⁰⁾, im Reduktions-Oxydations-Verhalten dem Vitamin vollkommen gleicht¹¹⁾. Auch die leuchtend rote Zwischenstufe, die Lacto-flavin bei der Reduktion in mineralaurer Lösung gibt, ist beim inaktiven Lumi-lactoflavin ganz gleichartig zu beobachten¹²⁾.

Man erkennt somit, daß neben dem Reduktions-Oxydations-Verhalten noch besondere konstitutive Merkmale die Vitamin-Eigenschaft des Lacto-flavins bestimmen. Unter diesen kommt offenbar der zucker-ähnlichen Seitenkette $-\text{CH}(\text{OH})\cdot\text{CH}(\text{OH})\cdot\text{CH}(\text{OH})\cdot\text{CH}_2\cdot\text{OH}$, die bei der alkalischen Photolyse zum Lumi-lactoflavin abgespalten wird¹³⁾, besondere Bedeutung zu.

¹⁰⁾ P. György, R. Kuhn u. Th. Wagner-Jauregg, a. a. O., Fußn. 6. — Eine sehr viel schwächere Wirksamkeit ist nach den vorliegenden Versuchen nicht ausgeschlossen.

¹¹⁾ Bei der enzymatischen Dehydrierung von Bernsteinsäure in Gegenwart von Lacto-flavin (Th. Wagner-Jauregg u. H. Ruska, a. a. O., Fußnote 7) läßt sich, wie wir gefunden haben, Lacto-flavin durch Lumi-lactoflavin ersetzen (Th. Wagner-Jauregg).

¹²⁾ Von Verbindungen bekannter Konstitution gibt, wie mit Hrn. F. Baer gefunden wurde, das Alloxazin bei der Reduktion der salzsauren Lösung mit Zink, eine rote Zwischenstufe, die derjenigen des Lacto-flavins zum Verwechseln ähnlich ist.

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