

Zusatz am 26. Januar 1935: Prüfung auf katalytische Wirkungen (Th. Wagner-Jauregg und E. F. Möller).

In dem von O. Warburg und W. Christian⁸⁾, sowie von H. Theorell⁹⁾ angewandten Ferment-System wurde die synthetische Vitamin-B₂-Phosphorsäure nach der Methylenblau-Methode geprüft.

0.5 ccm $m/_{10}$ -Neuberg-Ester (Kaliumsalz) + 0.5 ccm Zwischenferment in $m/_{100}$ -Natriumbicarbonat + 0.2 ccm Coferment I + 0.4 ccm Protein (aus gelbem Ferment durch Abspaltung der Wirkungs-Gruppe; 10-proz. Lösung eines mit Chloroform gereinigten Präparates). Dazu kam 0.1 ccm 0.036-proz. Lösung von Lacto-flavin bzw. Lactoflavin-phosphorsäure (Na-Salz) von gleichem Farbstoff-Gehalt. Die Entfärbungs-Zeiten (37°) des Methylenblaus (1:5000; 0.5 ccm) waren:

ohne Flavin-Zusatz.....	37 Min.	62 Min.
Lacto-flavin	37 Min.	60 Min.
Lactoflavin-phosphorsäure	20 Min.	32 Min.

Im Gegensatz zum Lacto-flavin bewirkte somit der synthetische Phosphorsäure-ester eine Verkürzung der Entfärbungs-Zeiten auf etwa die Hälfte. Der Effekt ist jedoch, verglichen mit demjenigen, den eine Lösung des „gelben Fermentes“ von etwa gleichem Farbstoff-Gehalt gab (Entfärbungs-Zeit 1 Min.), gering.

79. Richard Kuhn und Hans Kaltschmitt: Über den Zustand des Vitamins B₂ in der Kuhmilch.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizin. Forschung, Heidelberg, Institut für Chemie.]
(Eingegangen am 22. Januar 1935.)

Das in frischer Kuhmilch enthaltene Lacto-flavin (Vitamin B₂) ist zu etwa 90% leicht dialysierbar¹⁾. Der Dialyse-Versuch besagt nur, daß der Farbstoff nicht an Eiweiß gebunden ist. Er vermag nicht zu entscheiden, ob das Vitamin in freier Form vorliegt, oder ob es mit Phosphorsäure verestert ist, wie in der von H. Theorell²⁾ isolierten Wirkungs-Gruppe des gelben Fermentes von O. Warburg und W. Christian³⁾.

Das Verhalten im elektrischen Feld (H. Theorell) gestattet leicht, zwischen Lacto-flavin und Lactoflavin-phosphorsäure zu unterscheiden. Bei Anwendung von frisch entrahmter Kuhmilch beobachteten wir, daß im elektrischen Feld (220 Volt, 10 Milli-amp., $p_H = 7.2$, $m/_{15}$ -Phosphat) die milchigweiße Suspension anodisch wandert, der gelbgrün fluoreszierende Farbstoff aber keine Wanderung erkennen läßt. Zum Vergleich wurde auch frisch entrahmte Kuhmilch bei 0° der Dialyse unterworfen und das Dialysat im Vakuum sehr sorgfältig eingengt. Das schön gelbgrün fluoreszierende Konzentrat ließ unter den oben angegebenen Bedingungen im elektrischen Feld ebenfalls keine Wanderung des Farbstoffs erkennen.

⁸⁾ Biochem. Ztschr. **254**, 438 [1932], **266**, 377 [1933].

⁹⁾ Biochem. Ztschr. **272**, 155, **275**, 37 [1934].

¹⁾ P. György, R. Kuhn u. Th. Wagner-Jauregg, Ztschr. physiol. Chem. **223**, 21, u. zw. S. 26 [1934]; H. v. Euler u. E. Adler, Ztschr. physiol. Chem. **223**, 105 [1934]; R. Kuhn, Th. Wagner-Jauregg u. H. Kaltschmitt, B. **67**, 1452, u. zw. S. 1457 [1934].

²⁾ Biochem. Ztschr. **275**, 27, 466 [1934].

³⁾ Biochem. Ztschr. **254**, 438 [1932], **257**, 492 [1933], **258**, 496 [1933], **263**, 228 [1933].

Aus diesen Beobachtungen folgt, daß der Farbstoff der Molke nicht identisch ist mit der Wirkungs-Gruppe des gelben Ferments, und daß bei den Versuchen zur Isolierung des Vitamins B₂ aus Milch keine Gelegenheit gegeben war, einem Phosphorsäure-ester des Vitamins zu begegnen. Obwohl das Lacto-flavin als pflanzlicher Farbstoff erkannt⁴⁾ und in der Natur außerordentlich verbreitet ist, scheint uns der Name Lacto-flavin gerechtfertigt, nicht nur weil es aus der Milch zuerst kristallisiert erhalten (C₁₇H₂₀N₄O₆) wurde, sondern auch deshalb, weil dieser Farbstoff sich in der Milch (im Gegensatz zu Hefe, Leber, grünen Blättern usw.) in freier, un-esterter Form vorfindet.

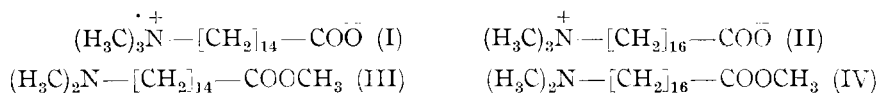
80. Richard Kuhn und Francisco Giral: Über das thermische Verhalten der Betaine.

[Aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizin. Forschung, Heidelberg, Institut für Chemie.]

(Eingegangen am 22. Januar 1935.)

Nach R. Willstätter¹⁾ unterscheiden sich die Betaine beim Erhitzen in charakteristischer Weise je nachdem, ob sie sich von α -, β -, γ - oder δ -Aminosäuren ableiten. Die α -Betaine isomerisieren sich beim Erhitzen über ihren Schmelzpunkt zu α -Dialkylamino-carbonsäure-alkylestern. Das β -Trimethyl-propionbetain geht über in das Trimethyl-ammoniumsalz der Acrylsäure (Trimethylamin-Spaltung unter Bildung einer Doppelbindung). Das γ -Trimethyl-butyrobetain liefert γ -Butyrolacton (Trimethylamin-Abspaltung unter Ringschluß). Beim δ -Trimethyl-valerobetain tritt wieder die bei den α -Betainen beobachtete Isomerisierung in den Vordergrund und die Lacton-Bildung zurück, was V. Prelog²⁾ auch beim ε -Trimethyl-caprobetain beobachtet hat.

Es war von Interesse, Betaine von noch viel größerer Kettenlänge auf ihr thermisches Verhalten zu prüfen. Wir verwendeten hierzu das ξ -Trimethyl-pentadekabetain³⁾ (I) und das noch nicht beschriebene π -Trimethyl-heptadekabetain (II).



Das Ergebnis ist, daß diese Betaine beim Erhitzen auf ihren Schmelzpunkt fast quantitativ, wie α -Betaine, in die isomeren Ester (III, IV) umgelagert werden. Die in Betracht kommenden ungesättigten Säuren bzw. deren Trimethyl-ammoniumsalze entstehen, nach den Ergebnissen der Titration mit Brom, höchstens in Spuren (unter 1%). Auch die entsprechenden Lactone, die sich durch niedrigeren OCH₃- und N-Gehalt der Destillate, vor

⁴⁾ R. Kuhn u. H. Kaltschmitt, B. **68**, 128 [1935].

¹⁾ B. **35**, 588 [1902]; R. Willstätter u. W. Kahn, B. **37**, 401 [1904]; R. Willstätter u. W. Kahn, B. **37**, 1853 [1904].

²⁾ Coll. Trav. chim. Tschecoslov. **2**, 712 [1930]; C. **1931**, 1 1096.

³⁾ R. Kuhn u. F. Giral, B. **67**, 1130 [1934].