

Eisessig + 150 ccm 33-proz. Wasserstoffperoxyd und schließlich mit 10 ccm Salpetersäure ( $d$  1.40) versetzt. Beim Erwärmen auf dem Dampfbade schlägt die dunkelgrüne Farbe der Lösung innerhalb weniger Minuten nach orange um. Durch Ausschütteln einer Probe mit Chloroform überzeugt man sich davon, daß keine Nitroso-Verbindung (Grünfärbung) mehr vorhanden ist und fällt dann mit 600 ccm Wasser das Dinitro-xytol ( $9\text{ g} = 83\%$  d. Th.) aus.

Nach dem Umkrystallisieren aus Benzol oder aus einem Gemisch von 2 Tln. Eisessig und 1 Tl. Wasser schmelzen die weißen Nadeln scharf bei  $118^{\circ}$ .

4.266 mg Subst.: 7.65 mg  $\text{CO}_2$ , 1.54 mg  $\text{H}_2\text{O}$ . — 4.311 mg Subst.: 0.540 ccm  $\text{N}_2$  ( $20^{\circ}$ , 746 mm).

$\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4\text{N}_2$  (196). Ber. C 48.98, H 4.08, N 14.62. Gef. C 48.91, H 4.04, N 14.32.

Der Justus-Liebig-Gesellschaft sprechen wir für die Gewährung eines Stipendiums unseren besten Dank aus.

### 127. Richard Kuhn und Gerhard Wendt: Über das antidermatitische Vitamin der Hefe.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für medizin. Forschung, Heidelberg, Institut für Chemie.]

(Eingegangen am 2. März 1938.)

Die Isolierung und Synthese von Aneurin ( $\text{B}_1$ ) und von Lactoflavin ( $\text{B}_2$ ) haben es ermöglicht, sich den noch unbekanntem Vitaminen der B-Gruppe zuzuwenden. Unter diesen beansprucht besonderes Interesse ein erstmals von P. György<sup>1)</sup> in seinen Wirkungen genau beschriebener Faktor, dessen Mangel bei der Ratte zu einer pellagra-ähnlichen Dermatitis führt. Die Beobachtungen von P. György sind von zahlreichen Forschern bestätigt worden. Man nimmt heute allgemein an, daß es sich bei dem in Frage stehenden Vitamin  $\text{B}_6$  um eine niedrig molekulare, leicht dialysierbare, hitze- und alkali-beständige Verbindung handelt.

In der Hefe kommt jedoch, wie wir gefunden haben, das antidermatitische Vitamin  $\text{B}_6$  in einer hochmolekularen, nicht dialysierbaren, hitze- und alkaliempfindlichen Form vor. Wenn man frisch bereiteten Lebedew-Saft aus Münchner Löwenbräu-Hefe bei einer  $+3^{\circ}$  nicht übersteigenden Temperatur der Dialyse unterwirft, so geht nur ein kleiner Teil des antidermatitischen Wirkstoffs in die Außenflüssigkeit. Die Hauptmenge vermag die Cellophan-Membran nicht zu durchdringen, auch wenn man unter Rühren und ständiger Erneuerung der Außenflüssigkeit die Dauer der Dialyse auf 150 Stdn. ausdehnt. Die hochmolekulare Verbindung des Vitamins  $\text{B}_6$ , für die wir den Namen Adermin-Protein vorschlagen<sup>2)</sup>, läßt sich nach den Methoden der Eiweißchemie reinigen. Es ist zu erwarten, daß das Adermin-Protein Eigenschaften eines Ferments zeigen wird.

Die Ratten, an denen wir die Heilwirkung des dialysierten Lebedew-Saftes festgestellt haben, erhielten folgende Nahrung: 3400 Tle. Reisstärke,

<sup>1)</sup> Biochem. Journ. **29**, 741, 760, 767 [1935].

<sup>2)</sup> antineuritisch: Aneurin, antidermatitisch: Adermin.



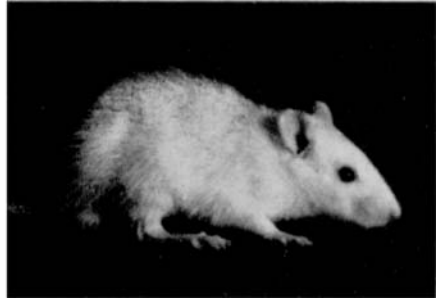
Abbild. 1.



Abbild. 4.



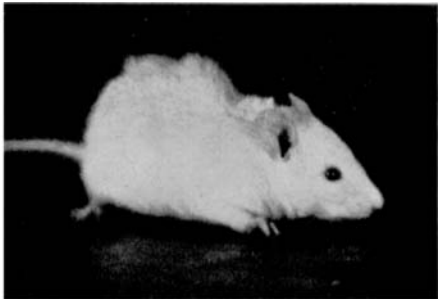
Abbild. 2.



Abbild. 5.



Abbild. 3.



Abbild. 6.

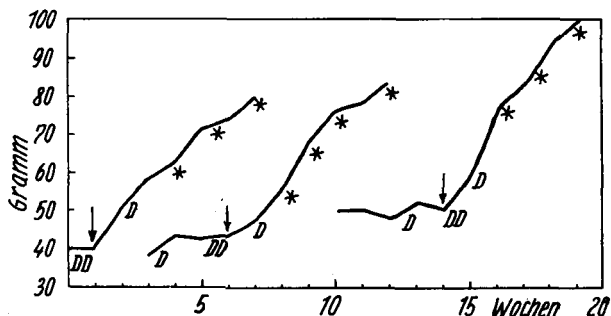


Abbild. 9.

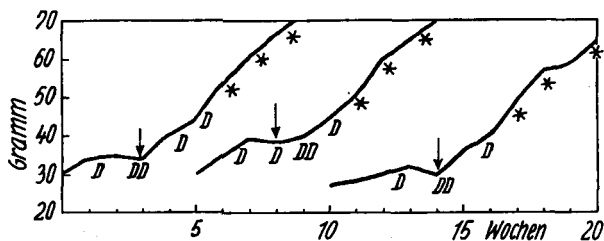


Abbild. 10.

900 Tle. extrahiertes Casein, 450 Tle. Butterfett, 200 Tle. Salzgemisch<sup>3)</sup> und 60 Tle. Lebertran. Ferner je Tag und Tier 20  $\gamma$  Aneurinchlorid-chlorhydrat und 10  $\gamma$  Lactoflavin. Bei dieser Grundkost traten nach durchschnittlich 4 Wochen Gewichtsstillstand und die von P. György beschriebene pellagra-ähnliche Dermatitis (Beispiel: Abbild. 1) auf. Die Dermatitis zeigte schon nach wenigen Tagen eine auffallende Besserung und war nach 4—6 Wochen völlig geheilt (Beispiel: Abbild. 4), wenn die aus 2 g Trockenhefe gewonnene Menge des ausdialysierten Lebedew-Saftes je Tag und Tier zugefüttert wurde. Vom nicht dialysierten Lebedew-Saft war zur Erzielung derselben Wirkung die 1—1.5 g Trockenhefe entsprechende Menge erforderlich. Gleichzeitig mit dem Verschwinden der Symptome zeigen die mit dem dialysierten Lebedew-Saft behandelten Ratten wieder starken Gewichtsanstieg (Abbild. 7), so daß der normale Zustand in jeder Hinsicht wieder hergestellt wird. Die Heilwirkung des gereinigten Adermin-Proteins ist aus Abbild. 8 ersichtlich.



Abbild. 7. Wachstumswirkung und Heilung der pellagra-ähnlichen Dermatitis durch dialysierten Lebedew-Saft (Tagesdosen entsprechend 2 g Trockenhefe).  
D = Dermatitis, DD = schwere Dermatitis, \* = geheilt.



Abbild. 8. Wachstumswirkung und Heilung der Dermatitis durch gereinigtes Adermin-Protein. Bedeutung der Zeichen wie in Abbild. 7.

Aus dem Adermin-Protein läßt sich ohne Verlust an Vitamin-Wirksamkeit die prosthetische Gruppe durch Erhitzen in Freiheit setzen. Es ist uns gelungen, diese durch Einwirkung von Essigsäureanhydrid in ein chloroform-

<sup>3)</sup> Kochsalz p. anal. 1.500 g, Natriumphosphat 2.550 g, Calciumphosphat 4.050 g, Kaliumphosphat 7.200 g, Eisencitrat 0.900 g, Calciumlactat 9.750 g, Magnesiumsulfat 1.950 g, Kaliumjodid p. anal. 0.020 g, Mangansulfat p. anal. 0.009 g, Zinkcarbonat rein 0.006 g, Kupfersulfat 0.008 g.

lösliches Derivat zu verwandeln, das sich unter  $10^{-4}$  mm zwischen  $85^{\circ}$  und  $90^{\circ}$  destillieren und so in kristallisierter Form gewinnen läßt. Die Kristallform des Acetyl-adermins ist aus Abbild. 9 ersichtlich. Durch Einwirkung von Salzsäure auf die Acetylverbindung gelangten wir zum Aderminchlorhydrat, das aus verd. Salzsäure auf Zusatz von Aceton in schneeweißen, oft zu Drusen vereinigten Prismen ausfällt, die bei  $204\text{--}205^{\circ}$  unter Zersetzung (Braunfärbung) schmelzen. Beim Verdunsten des salzsauren Acetons scheidet sich das Hydrochlorid des Vitamins  $B_6$  in gefiederten Rosetten ab, die Abbild. 10 im polarisierten Licht zeigt.

Vom kristallisierten Adermin-chlorhydrat sind je Tag und Ratte zur Heilung der pellagra-ähnlichen Dermatitis  $10\ \gamma$  erforderlich (Abbild. 2 und 3 vor, Abbild. 5 und 6 nach der Behandlung). Einen dauernden, normalen Gewichtsanstieg erreicht man aber nur dann, wenn daneben noch das in der neueren Literatur als „Filtratfaktor“ beschriebene Vitamin zugefüttert wird<sup>4)</sup>. Aus der Tatsache, daß dies bei den Versuchen mit dialysiertem Lebedew-Saft nicht erforderlich ist, folgt, daß auch der „Filtratfaktor“ in der Hefe als hochmolekulare, nicht dialysierbare Verbindung vorkommt.

Vor kurzem haben P. Karrer, L. Laszt und F. Verzar<sup>5)</sup> angegeben, daß die Hauterscheinungen bei Ratten, deren Grundkost von den Vitaminen der B-Gruppe nur Aneurin und Lactoflavin enthält, durch tägliche Gaben von  $200\ \gamma$  Lactoflavin-5'-phosphorsäure in kurzer Zeit völlig geheilt werden können. Da das von uns isolierte Vitamin ganz farblos, frei von Phosphor und in sehr viel kleineren Mengen wirksam ist, sind die Angaben der genannten Forscher sowohl im physiologischen Laboratorium Elberfeld der I.-G. Farbenindustrie A.-G. als auch im hiesigen Institut überprüft worden. Aus den Protokollen, die E. Auhagen und G. Wendt an anderer Stelle veröffentlichen werden, geht eindeutig hervor, daß bei der angegebenen Grundkost  $+B_1 +B_2$  die nach R. Kuhn, H. Rudy und F. Weygand<sup>6)</sup> über die Tritylverbindung synthetisierte Lactoflavin-5'-phosphorsäure ( $200\ \gamma$  je Tag) ohne die geringste Wirkung auf die pellagra-ähnliche Dermatitis (Akrodynie) unserer Ratten ist. Versuche unter Zufütterung eines sehr aktiven „Filtrat-faktors“ verliefen ebenfalls ganz negativ.

Nach H. v. Euler, M. Malmberg, I. Robežnieks und F. Schlenk<sup>7)</sup> soll es gelingen, Ratten, die neben  $6\ \gamma$  Aneurin und  $10\ \gamma$  Lactoflavin den an sich unwirksamen „Filtratfaktor“ erhalten, durch  $1\ \text{mg}$  Cozymase je Tag zu vollem Wachstum zu bringen. Dank dem Entgegenkommen von Hrn. O. Meyerhof waren wir in der Lage, mit Hrn. P. Ohlmeyer entsprechende Cozymase-Versuche durchzuführen. Das Ergebnis ist, daß  $1.0\text{--}1.25\ \text{mg}$  Cozymase pro die ohne Einfluß auf die pellagra-ähnliche Dermatitis unserer Ratten sind, also  $0.010\ \text{mg}$  Adermin-chlorhydrat nicht zu ersetzen vermögen.

---

<sup>4)</sup> Der Filtratfaktor wird von uns stets zugesetzt, bevor noch die Tiere Gewichts-konstanz erreichen. Erst nach völliger Gewichtskonstanz und Auftreten deutlicher Dermatitis wird mit der Prüfung des Adermins begonnen.

<sup>5)</sup> Pflügers Arch. ges. Physiol. Menschen Tiere **239**, 644 [1927].

<sup>6)</sup> B. **69**, 1543 [1936].

<sup>7)</sup> Naturwiss. **26**, 45 [1937].