

96. Lactoflavin-phosphorsäure-Adenin-nucleotid aus Leber und das Coferment der *d*-Alanin-dehydrase

von P. Karrer, P. Frei, B. H. Ringier und H. Bendas.

(30. V. 38.)

In zwei früheren Mitteilungen¹⁾ haben wir über die Darstellung von Flavinphosphorsäure-Präparaten aus Leber berichtet. Wir haben damals festgestellt, dass diese Präparate stets ein Adenin-nucleotid enthalten und die Frage offen gelassen, ob zwischen letzterem und der Lactoflavin-phosphorsäure chemische Bindung besteht. Wir haben weiterhin gesagt, dass angenommen werden muss, dass auch die aus Muskelgewebe (Herzmuskel etc.) bisher dargestellten Flavinphosphorsäurepräparate das Adenin-nucleotid enthielten und dass solche Flavinphosphorsäure-Präparate daher von den aus Hefe gewonnenen verschieden sind.

Auf unsere Bitte hat Herr *H. Theorell* schon im Februar 1937 unser Lactoflavin-phosphorsäure-Adenin-nucleotid aus Leber auf Kupplungsfähigkeit mit dem kolloiden Protein-Träger aus Hefe (Apodehydrase) geprüft und dabei festgestellt, dass sich nur ein Teil desselben mit dem Protein verbindet, während der andere Teil, der bei der Kataphorese ebenso rasch wanderte, mit dem Protein keine Bindung einging. Darüber hat der eine von uns (*P. K.*) am 6. Solvay-Kongress (4.—9. Oktober 1937) mit folgenden Worten berichtet²⁾:

« Au cours d'essais de copulation de l'acide lactoflavine phosphorique du foie avec le support colloïdal de la levure, il a été constaté de façon inattendue que seulement la moitié environ de l'acide s'unit à la protéine, l'autre moitié qui, dans un essai de cataphorèse migre avec la même vitesse que l'acide habituel, ne se combine pas avec la protéine (*Theorell*). Il doit donc s'agir ici d'un second composé, différent de l'acide flavine phosphorique de la levure. Si cette substance n'est pas un produit artificiel, formé seulement au cours du traitement du foie, cela donnerait à penser, qu'il existe aussi une protéine spécifique avec laquelle elle pourrait s'unir. »

Seither wurde in unserem Laboratorium über dieses Flavinphosphorsäure-Adenin-nucleotid weitergearbeitet und dessen Reinigung weitergeführt.

¹⁾ *H. Theorell, P. Karrer, K. Schöpp, P. Frei, Helv. 18, 1022 (1935); P. Karrer, P. Frei, H. Meerwein, Helv. 20, 79 (1937).*

²⁾ Gedruckt in den Verhandlungen des Kongresses, S. 49.

Vor kurzem erschienen zwei kurze Mitteilungen, die eine von *O. Warburg* und *Christian*¹⁾, die andere von *F. B. Straub*²⁾, in welchen gezeigt wird, dass das von *Das*³⁾ entdeckte Coferment der *d*-Alanin-dehydrase eine Flavinphosphorsäure-Verbindung ist, für deren Anreicherung aus Niere *Straub* eine Vorschrift gibt. *Warburg* und *Christian* machen keine experimentellen Angaben, teilen aber mit, dass es sich um eine Lactoflavin-phosphorsäure-Adenin-nucleotid-Verbindung handelt.

Wir haben hierauf unsere alten, zum Teil vor 2 bis 3 Jahren dargestellten Lactoflavin-phosphorsäure-Adenin-nucleotidpräparate aus Leber geprüft, ob sie die Dehydrase des unnatürlichen *d*-Alanins zu aktivieren vermögen und festgestellt, dass dies der Fall ist.

Die Aktivität eines solchen Präparates zeigt z. B. folgender Versuch:

Sauerstoffabsorption in Luft bei				
Enzymlösung (aus Niere, von Coferment nicht befreit)	0,5 cm ³	0,5 cm ³	0,5 cm ³	0,5 cm ³
m/15 Phosphatpuffer, p _H 7,4	0,2 cm ³	0,2 cm ³	0,2 cm ³	0,2 cm ³
5-proz. <i>d</i> -Alaninlösung	0,1 cm ³	0,1 cm ³	0,1 cm ³	0,1 cm ³
Cofermentpräparat aus Leber (Ca-Salz <i>d</i> . Flavinphosphors.-Adenin-nucleot.)	—	10 γ	50 γ	100 γ
cm ³ absorbiertes Sauerstoff nach 10' . .	3	4	5	5,5
" " " " 20' . .	6	8	10	11
" " " " 30' . .	8	10	14,5	16
" " " " 40' . .	13	15	21	23
" " " " 50' . .	16	21	28	31

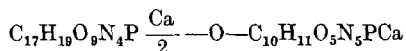
Das Problem der Zusammensetzung und Konstitution dieses Coferments ist aber damit noch nicht gelöst. Denn es hat sich gezeigt, dass nach bestimmten Methoden weiter gereinigtes Flavinphosphorsäure-Adenin-nucleotid aus Leber, das 1 Mol Lactoflavinphosphorsäure auf 1 Mol Adenin-nucleotid enthält, keine aktivierende Wirkung gegenüber *d*-Alanin-dehydrase besass. Die weitere Untersuchung muss weisen, ob bei der fortschreitenden Reinigung, wie wir sie vornahmen, eine konstitutionelle Änderung der Substanz und damit eine Inaktivierung erfolgt, oder ob die Frage eine andere Lösung finden wird.

Ein solches, für *d*-Alanin keine Codehydrase-Wirkung zeigendes Präparat (Calciumsalz) hatte folgende Zusammensetzung:

C 32,8 H 4,53 N 13,34 P 7,28 Ca 7,6%
 Lactoflavingehalt (kolorimetr. bestimmt) 25%
 Adeningehalt (als Pikrat isoliert) 9,5%
 Lactoflavingehalt: Adeningehalt = 1 : 1

¹⁾ *O. Warburg* und *Christian*, *Bioch. Z.* **295**, 261 (1938); *Naturw.* **26**, 201 (1938).
²⁾ *Nature* **141**, 603 (1938). ³⁾ *N. B. Das*, *Biochem. J.* **30**, 1080, 1617 (1936).

Denkt man sich die Verbindung aus 1 Mol Lactoflavin-phosphorsäure und 1 Mol Adenylsäure zusammengesetzt, also entsprechend der Formel



Flavinphosphorsäure Adenylsäure

so müssten folgende Werte gefunden werden:

C	38,4	H	3,58	N	14,9	P	7,3	Ca	7,1%
Lactoflavingehalt	44,6%								
Adeningehalt	15,9%								

Lactoflavingehalt und Adeningehalt dieses Präparates sind somit für die voranstehende Formel wesentlich zu tief, so dass angenommen werden muss, dass die Substanz eine weitere Komponente enthält, die noch nicht ermittelt ist.

Wir haben früher betont¹⁾, dass die Bestimmung von Phosphor und Stickstoff ohne gleichzeitige Kohlenstoff-Wasserstoffanalysen keinen richtigen Aufschluss über die Zusammensetzung solcher Präparate geben kann, da sogar reines lactoflavin-phosphorsaures Calcium theoretisch Stickstoff- und Phosphorgehalte aufweist, die von den gefundenen nur wenig abweichen.

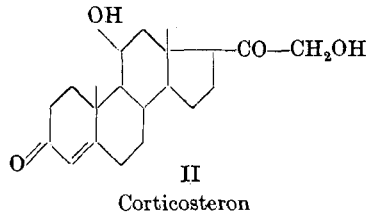
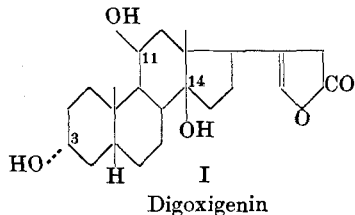
Zürich, Chemisches Institut der Universität.

97. Ein neuer Abbau des Digoxigenins

von M. Steiger und T. Reichstein.

(30. V. 38.)

Im Zusammenhang mit Untersuchungen über Bestandteile der Nebennieren-Rinde sollte versucht werden, ob es nicht gelingt, aus passenden Herzgift-agluconen zu Di- oder Poly-oxy-ätiocolansäuren zu gelangen, die mit gewissen Abbauprodukten aus Corticosteron identisch sind und die möglicherweise auch wieder in Corticosteron übergeführt werden können. Als erster Versuch dazu wurde der oxydative Abbau des Digoxigenins durchgeführt.



¹⁾ Helv. 20, 79 (1937).