

## Berichtigung

In der Arbeit von *K. Schmeiser und D. Jerchel*: „Quantitativer Nachweis von Schwefel, Chlor und Brom enthaltenden Verbindungen auf Papierchromatogrammen mit Hilfe induzierter Radioaktivität“, diese Zeitschrift 65, 366 [1953], ist auf Seite 367 in Bild 2 statt  $^{82}\text{Br}$   $^{80}\text{Br}$  und statt  $^{34}\text{Cl}$   $^{38}\text{Cl}$  einzusetzen. *K. Schmeiser und D. Jerchel*.

## Berichtigung

In der Arbeit von *R. Riemschneider und P. Geschke*: „Konfiguration von Cyclohexan-Substitutionsprodukten ...“, diese Ztschr. 65, 390 [1953], muß es S. 392, Tab. 2, lfd. Nr. 47 1.1.2.3.4.6 statt 1,1,2,3,5,5 heißen.

*R. Riemschneider.*

## Zuschriften

### Über einen neuen Vitamin $\text{B}_{12}$ -Faktor

Von Dr. W. FRIEDRICH und Prof. Dr. K. BERNHAUER

Aus dem Biochemischen Laboratorium der Aschaffenburger Zellstoffwerke A.-G., Stockstadt/Main

Nach neueren Untersuchungen existieren — abgesehen von den durch Austausch der Cyan-Gruppe erhältlichen Vitamin  $\text{B}_{12}$ -Formen<sup>1</sup>) —  $\psi$ -Vitamin  $\text{B}_{12}$ <sup>2</sup>), Vitamin  $\text{B}_{12}$ <sup>3</sup>),  $\text{B}_{12m}$ <sup>4</sup>) und die  $\text{B}_{12}$ -Faktoren A, B und C<sup>5</sup>). Diese Produkte wurden überwiegend in Fäzes nachgewiesen. In handelsüblichen Vitamin  $\text{B}_{12}$ -Präparaten und Fermentationsbrühen von *Strept. griseus* scheinen weitere  $\text{B}_{12}$ -Faktoren vorzukommen<sup>6</sup>). Ferner wurde in Meeres-Algen auch ein Vitamin  $\text{B}_{12s}$  gefunden<sup>7</sup>). Im Faulschlamm städtischer Kläranlagen wurden neben Cyanocobalamin mehrere Vitamin  $\text{B}_{12}$ -Faktoren nachgewiesen<sup>8</sup>).

$\psi$ - $\text{B}_{12}$ ,  $\text{B}_{12f}$ ,  $\text{B}_{12m}$  und Faktor A konnten bisher kristallisiert gewonnen werden. Bei diesen Kristallsaten handelt es sich aber offenbar nur um zwei verschiedene Individuen, wobei  $\text{B}_{12m}$  und

Faktor A identisch sind,  $\psi$ - $\text{B}_{12}$  noch etwas Faktor A enthält und  $\text{B}_{12f}$  eine Mischung von  $\psi$ - $\text{B}_{12}$  und Faktor A sein dürfte.

Aus über 140 m<sup>3</sup> Faulschlamm verschiedener Herkunft (Kläranlagen) isolierten wir kristallisiertes Vitamin  $\text{B}_{12}$ ,  $\psi$ -Vitamin  $\text{B}_{12}$  und einen neuen, bisher noch nicht beschriebenen Faktor der Vitamin  $\text{B}_{12}$ -Gruppe sowie mindestens 2 weitere noch nicht kristallisierte  $\text{B}_{12}$ -Komponenten. In Tabelle 1 wird eine Übersicht einiger, für die Unterscheidung wesentlichen Eigenschaften der hierbei isolierten Vitamin  $\text{B}_{12}$ -Faktoren I bis V geben, im unmittelbaren Vergleich mit Vitamin  $\text{B}_{12}$ ,  $\psi$ -Vitamin  $\text{B}_{12}$  und Faktor B.

Die Wirkstoffe wurden durch Adsorptions- bzw. Verteilungskromatographie getrennt, wobei sie die Säule in der Reihenfolge I bis V verließen.

Die Verteilungskoeffizienten für n-Butanol/wäßrige Ammonsulfat-Lösung und Wasser/p-Chlorphenol-Lösung in Trichloräthylen sind ein sehr feines Unterscheidungsmerkmal. Änderungen des Gehaltes an Ammonsulfat bzw. p-Chlorphenol verschieben die Verteilungskoeffizienten charakteristisch.

B <sub>12</sub> -Faktor	Zustand	Wäßr. Lsg., pH 7		R <sub>f</sub> -Werte <sup>a)</sup>	Verteilungskoeffizient <sup>b)</sup> bei pH etwa 7								
		mit CN-Überschuß	ohne CN-Zusatz		n-Butanol/wäßr. Ammonsulfat-Lsg.				Wasser/p-Chlorphenol-Lsg. in Trichloräthylen. Konz. an p-Chlorphenol <sup>d)</sup> , bei der der Verteilungskoeff. ca. 1 ist.				
					CN-Überschuß		ohne CN-		% Ammonsulfat <sup>c)</sup>		CN-Überschuß		
					16,0	19,0	23,5	34,0	38,0	40,0	43,0		
I	amorph	violett	orange	0,25	ca.	1,0				ca.	1,0	7,8	8,4
Faktor B <sup>e)</sup>	amorph	violett	orange	0,26		ca.				ca.	1,0	8,2	8,7
II	kryst.	rot	rot	0,19	0,31	1,05	6,0				8,2	8,2	8,2
Vitamin $\text{B}_{12}$ <sup>f)</sup>	kryst.	rot	rot	0,19	0,31	1,05	5,9				8,2	8,2	8,2
III	kryst.	rot	rot	0,13		0,25	1,04	1,78		ca.		14,0	14,0
IV	kryst.	rot	rot	0,08				1,0					
$\psi$ -Vit. $\text{B}_{12}$ <sup>g)</sup>	kryst.	rot	rot	0,08					ca.	ca.			
V	amorph	violett	orange	0,07					1,0	1,0	20,5		17

Tabelle 1. Einige Eigenschaften der Vitamin  $\text{B}_{12}$ -Faktoren I bis V im Vergleich mit bereits bekannten Faktoren

a) Mittels Whatman I-Papier und wassergesättigtem sek. Butanol unter Zusatz von CN-, aufsteigend, ermittelt.

d) g p-Chlorphenol in 100 cm<sup>3</sup> Lösung.

b) Verteilungskoeffizient  $K = \frac{\text{Konz. Faktor obere Phase}}{\text{Konz. Faktor untere Phase}}$ .

e) Von Dr. E. Lester Smith freundlicherweise überlassen.

c) g Ammonsulfat auf 100 cm<sup>3</sup> Wasser.

f) Handelsprodukt.

g) Einige  $\gamma$  in alkohol. Lösung von Dr. J. J. Pfiffner freundlicherweise überlassen.

<sup>1</sup>) E. A. Kaczka, D. E. Wolf, F. A. Kuehl jr. u. K. Folkers, J. Amer. chem. Soc. 73, 3569 [1951]; G. Cooley, B. Ellis, V. Petrow, G. H. Beaven, E. R. Holiday u. E. A. Johnson, J. Pharm. Pharmacol. 3, 271 [1951].

<sup>2</sup>) J. J. Pfiffner, D. G. Calkins, R. C. Peterson, O. D. Bird, V. McGlohon u. R. W. Stipeles, Abstr. Amer. chem. Soc. 120th meeting, New York, 22C [1951]; J. J. Pfiffner, H. W. Dion u. D. G. Calkins, Fedor, Proc. 11, 269 [1952]; H. W. Dion, D. G. Calkins u. J. J. Pfiffner, J. Amer. chem. Soc. 74, 1108 [1952].

<sup>3</sup>) U. J. Lewis, D. V. Tappan u. C. A. Elvehjem, J. biol. Chemistry 194, 539 [1952]; 199, 517 [1952].

<sup>4</sup>) H. G. Wijmenga, Onderzoeken over vitamine  $\text{B}_{12}$  en verwante factoren, Dissert. Utrecht [1951]; H. G. Wijmenga u. W. L. C. Veer, Chem. Weekblad 48, 33 [1952].

<sup>5</sup>) J. E. Ford, S. K. Kon u. J. W. G. Porter, Biochem. J. 50, Proc. IX [1951]; J. E. Ford u. J. W. G. Porter, ebenda 51, V [1952]; M. E. Coates, J. E. Ford, G. F. Harrison, S. K. Kon u. J. W. G. Porter, ebenda 51, VI [1952]; J. E. Ford, S. K. Kon u. J. W. G. Porter, ebenda 52, VII [1952]; E. S. Holdsworth, Nature [London] 171, 148 [1953]; J. E. Ford, E. S. Holdsworth, S. K. Kon u. J. W. G. Porter, ebenda 171, 150 [1953]; J. E. Ford, ebenda 171, 149 [1953]; Brit. J. Nutrit. 6, 324 [1952].

<sup>6</sup>) L. E. Ericson, Z. G. Bánhid u. G. Gasparotto, Acta Chem. Scand. 6, 1130 [1952]; L. E. Ericson, ebenda 7, 703 [1953].

<sup>7</sup>) L. E. Ericson u. L. Lewis, Arkiv Kemi 6, 427 [1953].

<sup>8</sup>) A. G. M. Sjöström, H. Y. Neujuhr u. H. Lundin, Acta Chem. Scand. 7, 1036 [1953].

Faktor I und Faktor B sind (Tab. 1) höchstwahrscheinlich identisch: Gegenüber der *E. coli*-Mutante 113-3 gleich aktiv und gegenüber L. Leichmannii 313 übereinstimmend fast inaktiv (im Röhrchentest). Die Absorptionsspektren (Beckman, Modell DU) stimmen befriedigend überein.

Faktor II ist nach Tab. 1 und auch im mikrobiologischen Test mit Cyanocobalamin identisch; gleiche Absorptionsspektren.

Faktor III, gleiche mikrobiologische Aktivität gegenüber den genannten Testorganismen wie Cyanocobalamin, unterscheidet sich aber von allen  $\text{B}_{12}$ -Faktoren sehr scharf durch R<sub>f</sub>-Werte und Verteilungskoeffizienten (Tab. 1<sup>9</sup>). Sein Absorptionsspektrum ist dem des Cyanocobalamins sehr ähnlich, aber die sehr schmale Bande bei 278 m $\mu$  ist nur schwach angedeutet, während eine kräftige breite Bande bei 295 m $\mu$  auftritt (Bild 1). Eine solche Bande wurde noch bei keinem der bisher beschriebenen  $\text{B}_{12}$ -Faktoren

<sup>9</sup>) Dr. E. Lester Smith, Glaxo Laboratories, England, hatte die Freundlichkeit, einige mg des krist. Faktors III zu untersuchen und stellte elektrophoretisch sowie papierchromatographisch fest, daß es sich um eine einheitliche, von allen bereits bekannten  $\text{B}_{12}$ -Faktoren verschiedene Substanz handelt. Er teilte ferner mit, daß diese Substanz seinem in sehr geringer Menge aus Schweinefäzes isolierten Faktor E sehr ähnlich ist.