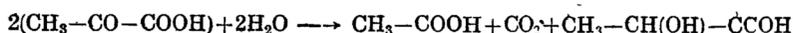


Man mimmt an, dass eine Dismutation der Brenztraubensäure unter Bildung von Essigsäure und Milchsäure⁽⁴⁾ stattfindet.



Das Mangel an Aneurin führt die Anhäufung der Brenztraubensäure und anderer Ketonkörper herbei, die für die Entstehung von Beriberi von Bedeutung sind. Shindo⁽⁵⁾ beweist im Blute von Beriberikranken eine Vermehrung von Brenztraubensäure und Acetaldehyd und isolierte diese Substanzen als 2,4-Dinitrophenylhydrazon. Ob die Symptome der Beriberi durch die oben erwähnte biochemische Theorie völlig erklärt werden können oder nicht, ist schwer zu entscheiden.

Früher hat Imai⁽⁵⁾ den Einfluss von Brenztraubensäure, Acetaldehyd auf den Verlauf der avitaminotischen Symptome studiert, und gefunden, dass alle diese Substanzen keine Wirkung auf die Krankheitsbilder zeigen. Daher ist das Argument als schwach anzusehen. Die andere Theorie für Aneurinwirkung ist, pharmakologischen. Nach französischen Forschern soll das Aneurin die Sensibilität des Nervens gegen Acetylcholin erhöhen, so dass z.B. eine unterschwellige Menge wirksam wird (Minz,⁽⁶⁾ Abderhalden⁽⁷⁾).

Weiterhin ist festgestellt worden, dass Aneurin in Beziehung zum Erregungsprozess der Nerven steht. Nach B. Minz soll bei Reizung des N. Pneumogastricus neben Cholin noch Aneurin Abgegeben werden.

Mit Hilfe des von B. Minz herangezogenen Flagellatentestes fand auch A. v. Muralt,⁽⁸⁾ dass der erregte Nerv 80 mal mehr Aneurin abgibt als der ruhende. Es konnte von Kuhn nicht bestätigt werden. Nun würde Kuhn zur folgenden Überlegung geführt: Das Aneurin teilt mit dem Cholin die Eigenschaft, gleichzeitig quartäre Ammoniumverbindung und primärer Alkohol zu sein. Wenn nun das Cholin vom erregten Nerven als Acetylverbindung abgegeben wird, sollte nicht auch das Aneurin als Acetylderivat die Rolle eines chemischen Vermittlers spielen können?

Makino⁽⁹⁾ möchte dem Pyruvylaneurin eine wichtigere Bedeutung als dem Acetylaneurin verleihen: zu den unentbehrlichen Charakter für den Reizvermittler des Nervens gehört unter anderem die Flüchtigkeit seiner Tätigkeit.

Das Pyruvylaneurin scheint dieser Bedingung zu entsprechen.

Im Jahre von 1933 synthetisierten Chang und Gaddum⁽¹⁰⁾ verschiedene Cholinester und bemerkten sie im biologischen Test das Acetylcholin als das wirksamste.

(4) Lipmann, *Skand. Arch. physiol.*, **76** (1937), 255.

(5) Imai, nicht publiziert.

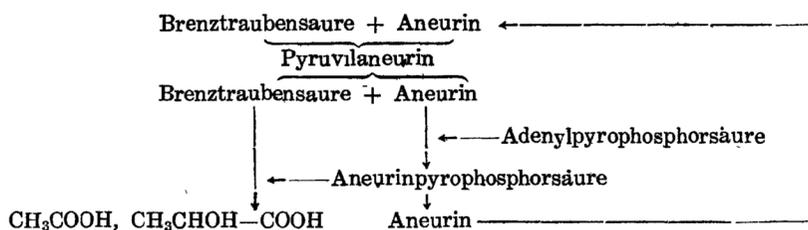
(6) Minz und Agid, *Compt. rend.*, **205** (1937), 576; Minz, *Compt. rend. soc. biol.*, **127** (1938), 1251.

(7) Abderhalden und Abderhalden, *Pflügers Arch.*, **240** (1938), 280.

(8) Muralt, *Z. angew. Chem.*, **52**, Nr. 9 (1939); *Forsch. und Fortschr.*, **15** (1939), 122.

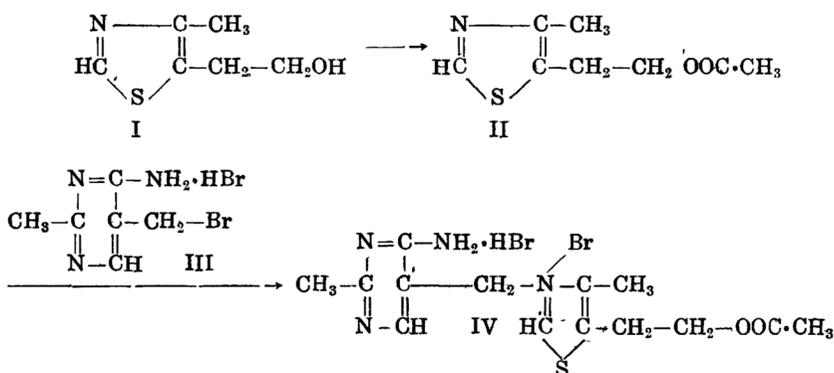
(9) Makino, *Nisshin Igaku*, **30** (1941), 1695; *Nihon Seikag. Kh.*, **15** (1940), 106.

(10) Chang und Gaddum, *J. Physiol. Chem.*, **79** (1933), 225.

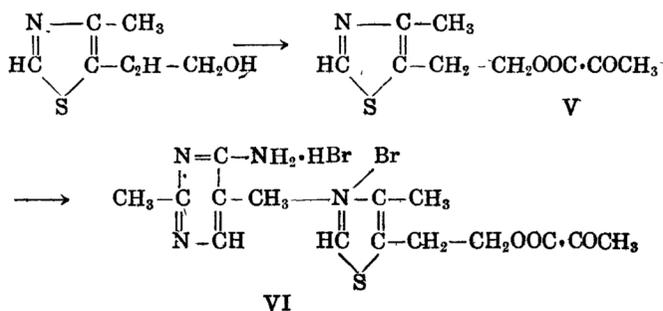


Abgesehen vom Wesen des Aneurinwirkung ist mir sehr interessant, verschiedene Aneurinester bezugs ihren Wirksamkeiten miteinander zu vergleichen. In der vorliegenden Arbeit soll ich über die Synthese einiger Aneurinester von organischen Säuren und Vergleich deren Wirksamkeit miteinander berichten.

Die Synthese des Acetylaneurins geschah nach der Angabe von Kuhn,⁽¹¹⁾ indem man das 4-Methyl-5-oxyäthylthiazol in Pyrein, mit Essigsäureanhydrid acetylierte und das entstandene 4-Methyl-5-acetoxyäthylthiazol mit dem 2-Methyl-6-amino-5-brommethylpyrimidinhydrobromid kondensierte.

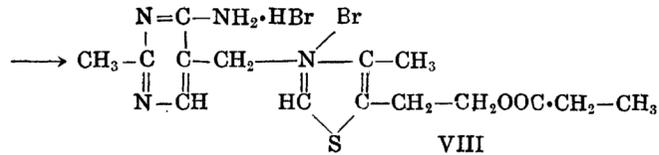
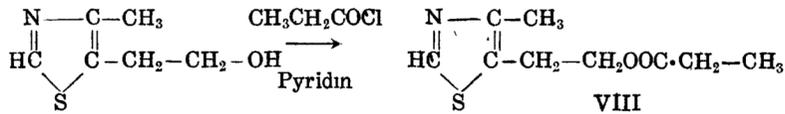


Um Pyruvylaneurin zu herstellen, bereitete ich 4-Methyl-5-pyruvyl-oxyäthylthiazol durch Einwirkung von frisch destillierter Brenztraubensäure auf den Thiazolalkohol in Chloroform. Dann kondensierte ich pyruvylierten Thiazolalkohol mit 2-Methyl-4-amino-5-brommethylpyrimidinhydrobromid.

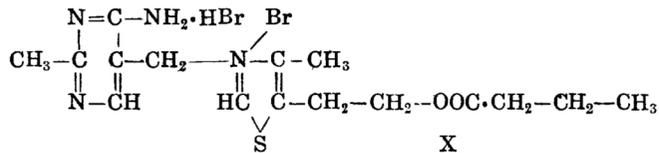
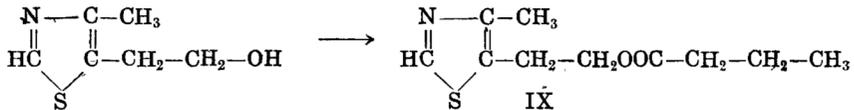


(11) Kuhn *Z. physiol. Chem.* 259 (1939) 48.

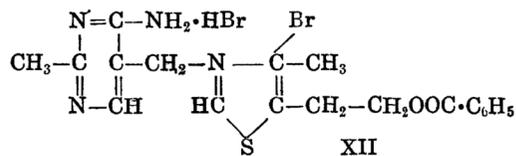
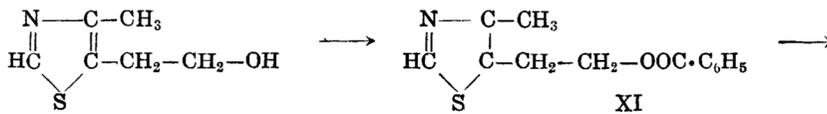
Propionylaneurin: 4-Methyl-5-propionyloxyathylthiazol wurde durch Einwirkung von Propionylchlorid auf 4-Methyl-5-oxyathylthiazol erhalten. Das Thiazol wurde dann mit dem Brompyrimidinkörper kondensiert.



Auf der gleichen Weise gewonne ich das Butyrylaneurin.

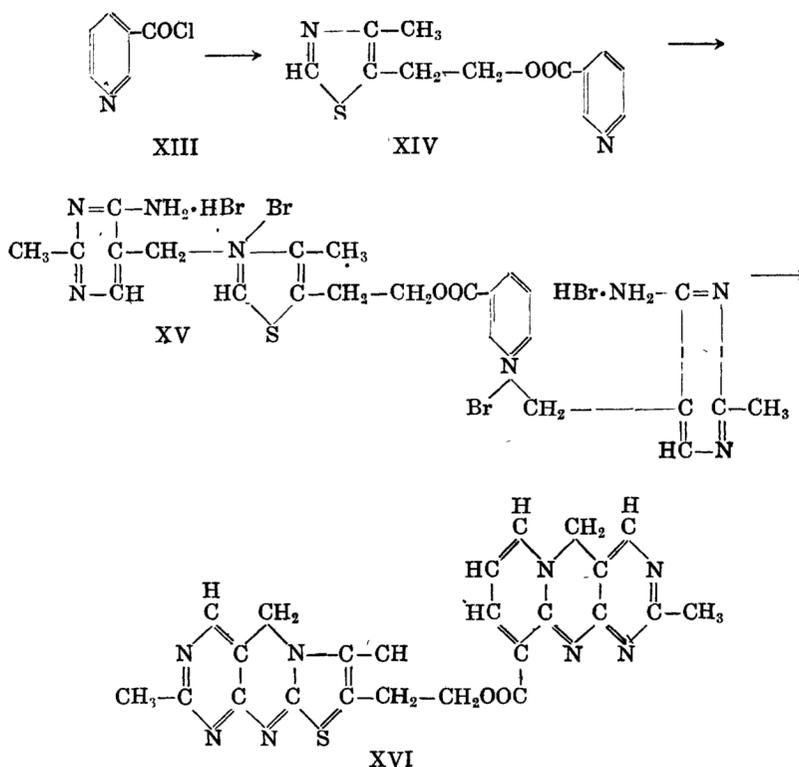


Benzoylaneurin: 4-Methyl-5-oxyathylthiazol wurde mit Benzoylchlorid in Pyridin benzyliert, dann mit dem 2-Methyl-4-amino-5-brommethylpyrimidinhydrobromid im Ölbad erhitzt.



Dann versuchte ich das Nicotinythiazolalkohol mit dem 2-Methyl-4-amino-5-brommethylpyrimidinhydrobromid zu kondensieren. Nicotinsäure wurde durch Erhitzen mit Thionylchlorid zum Nicotinsäurechloridhydrochlorid übergeführt, das man mit dem Thiazolalkohol erhitzte. Wenn man den entstandenen 4-Methyl-5-nicotinyloxyathylthiazol mit dem Brompyrimidinkörper einwirken liess, so wurde eine Substanz erhalten, die die

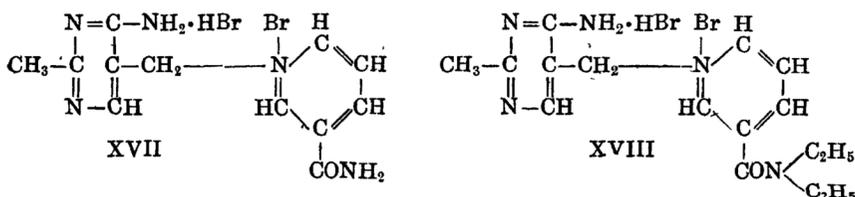
Formel (XV) trägt, da sie bei Oxydation mit Ferricyankali in alkalischer Lösung einen thiochrom- und pyrichromkernhaltigen Farbstoff gab. (XVI)



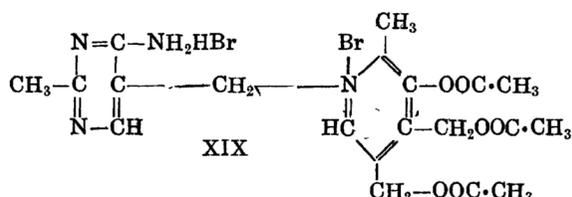
Er kristallisierte aus absolutem Alkohol in schonem Zustand, aber war sehr hygroskopisch und daher schwer analysierbar.

Bei dem Studien über Antipellagrafaktor kamen Makino und Chang zu der Gedanke, dass vielleicht Nicotinsäureamid in Reisbran und Hefe in Form von quartärer Base vorliegen soll, da in Reisbran 2-Methyl-4-amino-5-amino-methylpyrimidin, die durch teilweise Desaminierung 2-Methyl-4-amino-5-oxymethylpyrimidin liefern kann, gefunden worden ist. Durch Kondensation von Nicotinsäureamid mit Brompyrimidinkörper wurde 3-Carbamid-N-(2-Methyl-4-aminopyrimidyl(5)-methyl)-pyridinium-bromidhydrobromid erhalten.

Bei Verwendung von Pyridin- β -carbonsäurediäthylamid wurde 3-Carbdäthylamid-N-(2-methyl-4-aminopyrimidyl(5)-methyl(1)-pyridinium-bromidhydrobromid erhalten.



Die physiologisch-funktionelle Analogie zwischen Pellagra und Rattendermatitis führte Makino⁽¹²⁾ zur Gedanke, dass auch Adermin wie Nicotinsäureamid einem Pyridinkern haben soll. In der Tat wurde nachgewiesen, dass Adermin ein Pyridinderivat ist, da das Kondensationsprodukt vom Acetyladermin mit Brompyrimidinkörper bei der Oxydation mit alkalischer Ferricyanidlosung ein Pyrichromfarbstoff lieferte. Auch diese Adermin-Pyrimidin-Verbindung scheint physiologisch sehr interessant. (Heterovitaminproblem)



Im folgenden wurden Aneurinester und Pyridiniumverbindungen zum Vergleich auf deren physiologische Wirksamkeit geprüft.

Versuchsteil.

Darstellung von Acetylneurin.

4-Methyl-5-acetoxyäthylthiazol. (II)

0.3 g 4-Methyl-5-β-oxyäthylthiazol wurden mit 1 ccm Essigsäureanhydrid und 1 ccm trockenem Pyridin gemischt, unter Chlorcalciumrohr über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen und hierauf auf dem Wasserbade während 30 Minuten erwärmt. Dazu wurde absoluter Alkohol hinzugefügt, der wieder verdampft wurde. Diese Operation wurde noch zweimal wiederholt, dann im Vakuum destilliert. Kp 112° Pikrat Fp 130°



Ber.	N	13.53%
Gef.	N	13.43%

Acetylneurin, 4-Methyl-5-acetoxyäthyl-N-(2-methyl-4-amino-pyrimidyl-5-methyl)-thiazoliumbromid-hydrobromid. (IV)

0.2 g 2-Methyl-4-amino-5-brommethylpyrimidinhydrobromid wurden mit 0.3 g 4-Methyl-5-β-aceoxyäthylthiazol und Isobutanol (0.3 ccm) gut durchgemischt, unter Chlorcalciumrohr allmählich bis 100° erhitzt. Wenn Temperatur daran erreichte, wurde das Gemisch an dieser Temperatur noch 20 Minuten gehalten, mit 1 ccm heissem Alkohol versetzt. Nach dem Erkalten wurde der Niederschlag abgenutscht, aus absolutem Alkohol 3 mal umkristallisiert. Farblose Tafeln Fp 245° (Kuhn gab dieser Substanz Fp 235-236°, Andersag, Westphal 241°.)



Ber.	C	33.33	H	4.76	N	11.11%
Gef.	C	33.46	H	4.80	N	10.97%

(12) Makino, Morii, Chang und Tagami, dieses Bulletin, 19 (1944), 1.

Darstellung von Pyruvylaneurin.

4-Methyl-5-β-pyruvyl-oxyathylthiazol. (V)

3 g frisch destillierte Brenztraubensäure wurden mit 0.3 g 4-Methyl-5-Oxyathylthiazol unter Zusatz von 10 ccm Chloroform unter Rückflusskuhler auf dem Wasserbade sorgfältig erwärmt. Nach Verdampfen des Chloroforms unter vermindertem Druck wurde der Rückstand mit Äther extrahiert, die Ätherlösung zuerst mit verd. Na_2CO_3 -Lösung, dann mit verd. NaHCO_3 -Lösung bis Neutralreaktion gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, eingedampft. Öl. Als Pikrat analysiert.



Ber.	N	12,87%
Gef.	N	12,21%

Pyruvylaneurin, 4-Methyl-5-β-pyruvyl-oxyathyl-N-(2-Methyl-4-amino-pyrimidyl-(5)-methyl)-thiazoliumbromidhydrobromid. (VI)

0.2 g 4-Methyl-5-pyruvyl-oxyathylthiazol wurden mit 0.2 g 2-Methyl-4-amino-5-brommethylpyrimidin-hydrobromid und 0.2 ccm Isobutanol gut durchgemischt, im Paraffinbade erhitzt. Die Temperatur wurde sorgfältig bis 90° gesteigert. Bei dieser Temperatur wurde das Reaktionsgemisch noch 20 Minuten gehalten. Der Ganze wurde in kleine Menge Alkohol gelöst. Nach Zusatz von viel Äther wurde es an kühlem Ort stehen gelassen. Nach längerer Zeit kristallisierte durchsichtige kubische Kristalle aus. Dies wurde abgenutzt, rasch im Vakuumexsiccator über Schwefelsäure getrocknet; sehr hygroskopisch. Fp 218°.



Ber.	C	32,72	H	4,72%
Gef.	C	32,87	H	5,18%

Darstellung von Propionylaneurin

Propionylchlorid.

Unter Rückflusskuhler wurden 6 g frisch destillierte Propionsäure auf 20 g Phosphorpentachlorid eingetropft. Nach Ablauf von drastischer Reaktion wurde das Reaktionsgemisch noch einiger Zeit auf dem Wasserbade erwärmt, aus dem Ölbade fraktioniert destilliert.

Die Fraktion von 80° bis 95° wurde gesammelt.

4-Methyl-5-β-propionyl-oxyathylthiazol. (VII)

0.2 g 4-Methyl-5-oxyathylthiazol wurden in 1 ccm Pyridin unter Eiskühlung mit 0.7 g Propionylchlorid tropfenweise versetzt. Unter Rauchen trat starke Reaktion ein. Es wurde über Nacht stehen gelassen. Zu dem braunlichen weissen Reaktionsprodukt wurde 1 ccm absoluter Alkohol hinzugefügt, um überschüssiges Propionylchlorid zu zersetzen, dann wurde der Alkohol verdampft. Diese Operation wurde noch zweimal wiederholt. Der Rückstand wurde in wenig Wasser gelöst, mit eisgekühlter 30% Natriumbicarbonatlösung alkalisch gemacht, mit Äther 3 mal extrahiert.

Die Ätherlösung wurde mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, durch Tierkohle entfärbt, im Vakuum verdampft. Der Rückstand stellte 0.25 g schwach gelbliche kristallinische Substanz dar, die als Pikrat analysiert wurde. Pikrat Fp 126–130°.



Ber.	N	13.09%
Gef.	N	78.15%

Propionylaneurin, 4-Methyl-5-propionyloxyäthyl-N-(2-methyl-4-amino-pyrimidin-(5)-methyl)-thiazoliumbromid-hydrobromid. (VIII)

0.25 g 4-Methyl-5-propionyloxyäthylthiazol wurden mit 0.1 g Brompyrimidinkörper und 0.2 ccm Isobutanol gut durchgemischt, allmählich auf 110° erhitzt, bei dieser Temperatur wurde noch 15 Minuten gehalten.

Nach dem Erkalten wurden 0.6 ccm absoluter Alkohol hinzugefügt, das ausgeschiedene rohe Propionylaneurin abgenutscht, aus Alkohol-Äther umkristallisiert. Farblose Tafeln Fp 238°. Thiochromeaktion stark positiv.



Ber.	C	34.74	H	5.01	N	10.81%
Gef.	C	34.63	H	5.13	N	10.50%

Darstellung von Butyrylaneurin.

Buttersäurechlorid.

30 g Proosphortrichlorid wurden zu 20 g frisch destillierter Buttersäure eingetroffen. Nach Ablauf von sturmischer Reaktion wurde der Kolbeninhalt auf dem Wasserbade erhitzt. Die Temperatur wurde allmählich auf 100° aufgesteigert, bei dieser Temperatur wurde Erhitzung noch 6 Stunden fortgesetzt. Nach dem Erkalten wurde fraktionierdestilliert. Die Fraktion von 95° bis 105° wurde gesammelt. Ausbeute 8.5 g

4-Methyl-5-β-butyryloxyäthylthiazol. (IX)

0.2 g 4-Methyl-5-oxyäthylthiazol wurden in 1 ccm Pyridin gelöst, eisgekühlt, mit 0.8 g Buttersäurechlorid tropfenweise versetzt. Anfanglich wurde rauchende sturmische Reaktion gesehen. Nach 12-stündigem Stehen bei Zimmertemperatur wurde 1 ccm absoluter Alkohol hinzugefügt und verdampft. Diese Operation wurde noch zweimal wiederholt. In Vakuum wurde das Lösungsmittel abdestilliert, der Rückstand in Wasser gelöst, mit eisgekühlter 30% Natriumcarbotlösung alkalisch gemacht, mit Äther 3 mal extrahiert, die Ätherlosende mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, das Äther abdestilliert. Es hinterblieb ein gelblicher kristallinischer Rückstand, der als Pickrat analysiert wurde. Ausbeute 0.277 g. Pickrat Fp 121°-125°



Ber.	N	12.67%
Gef.	N	12.54%

Butyrylaneurin, 4-Methyl-5-β-butyryloxyäthyl-N-2-methyl-4-amino-pyrimidyl-(5)-methyl)-thiazoliumbromid-hydrobromid. (X)

0.277 g 4-Methyl-5-β-butyryloxyäthylthiazol wurden mit 0.1 g 2-Methyl-4-amino-5-brommethylpyrimidinhydrobromid und 0.2 ccm Isobutanol unter Chlorcalciumrohr im Ölbad bei 115° 30 Minuten erhitzt. Das schwach bräunlich gefarbte Reaktionsprodukt wurde in 1 ccm absolutem Alkohol gelöst, mit Äther versetzt, 23 mg kristallinische Substanz erhalten, die als Pikrolonat analysiert wurden. Pikrolonat. Fp 215°.

$C_{36}H_{39}N_{12}O_{12}S$ (863)

Ber.	C 50.06	H 4.56	N 19.46%
Gef.	C 50.42	H 4.66	N 18.98%

Darstellung von Benzoylaneurin.

4-Methyl-5-β-benzoyloxyäthylthiazol. (XI)

0.2 g 4-Methyl-5-β-oxyäthylthiazol wurden in 1 ccm Pyridin gelöst, eisgekühlt, 0.6 g Benzoylchlorid hinzugegt. Anfänglich wurde stürmische Reaktion gesehen, und färbt sich das Reaktionsgemisch grauweisslich.

Nach 12-stündigem Stehen bei Zimmertemperatur wurde 1 ccm Alkohol hinzugegt, der im Vakuum verdampft wurde. Diese Operation wurde 2 mal wiederholt, der halb feste Rückstand in Wasser suspendiert, mit 30% Na_2CO_3 -Lösung alkalisch gemacht, mit Äther 3 mal extrahiert. Die Ätherlösung wurde mit Wasser gut gewaschen. Über Natriumsulfat getrocknet, mit Tierkohle entfärbt, zur Trockne eingedampft.

Der Rückstand wog 0.25 g und wurde als Pikrat analysiert. Pikrat Fp 191° .

 $C_{19}H_{16}O_9N_4S$ (477)

Ber.	N 11.74%
Gef.	N 11.56%

Benzoylaneurin, 4-Methyl-5-β-benzoyloxyäthyl-N-(2)-methyl-4-amino-pyrimidyl-(5)-methyl--thiazolumbromidhydrobromid. (XII)

0.25 g 4-Methyl-5-β-benzoyloxyäthylthiazol wurden mit dem Brompyrimidinkörper und 0.2 ccm Isobutanol allmählich bis 135° erhitzt, und an derselben Temperatur noch 15 Minuten gehalten. Beim Erkalten erstarrte das Reaktionsgemisch ganz kristallinisch.

Nach Zusatz von 10 ccm absolutem Alkohol wurden die Kristalle abfiltriert, aus Alkohol umkristallisiert. Farblose Prismen, Fp 213° . Thiochromreaction stark positiv.

 $C_{18}H_{22}N_4O_2Br_2S + \frac{1}{2}C_2H_5OH$ (528)

Ber.	C 43.18	H 4.73	N 10.50%
Gef.	C 42.93	H 4.37	N 10.05%

Darstellung von Nicotinylaneurin.

Nicotinsaurechloridhydrochlorid. (XIII)

0.3 g Nicotinsäure wurden in einem kleinen langhalsigen Rundkolben mit 2 g Thionylchlorid tropfenweise versetzt, auf dem Wasserbad bis vollständigem Auflösen erwärmt, dann überschüssiges Thionylchlorid auf dem Wasserbad unter vermindertem Druck abdestilliert. Das Chlorid erstarrte am Kolbenwand als federartige Kristalle.

4-Methyl-5-nicotinyloxyäthylthiazol. (XIV)

Zum oben erwähnten Chlorid wurden 2.0 g 4-Methyl-5-oxyäthylthiazol und 1 ccm Pyridin hinzugefügt. Ein schwaches Erwärmen wurde gesehen. Es wurde auf dem Wasserbad 25 Minuten erwärmt. Nach dem Erkalten wurde das völlig kristallinisch erstarrte Reaktionsgemisch mit 1 ccm absoluter Alkohol versetzt, abgedunstet. Diese Operation wurde noch 2 mal

wiederholt. Der Rückstand wurde in Wasser gelöst, mit Sodalösung alkalisch gemacht, mit Äther 3 mal extrahiert, die Ätherlösung wurde mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, durch Tierkohle entfärbt, unter vermindertem Druck destilliert, als Pikrat analysiert.



Ber. N 15.87%

Gef. N 15.26%

Nicotinylaneurin. (XV)

Zum oben hergestellten 4-Methyl-5-nicotinyloxyäthylthiazol wurden 0.2-g 2-Methyl-4-amino-5-brommethylpyrimidinhydrobromid und 0.2 ccm Isobutanol zugesetzt, unter Chlorcalciumrohr auf dem Ölbad erhitzt, bei 60° war der Kolbeninhalt breiig, bei 140° völlig gelöst, beim Erkalten erstarrte er Geleeartig. Das Reaktionsprodukt wurde in absoluten Alkohol warm gelöst. Nach dem Erkalten schied sich schneeweisse Kristalle aus. Aus der Mutterlauge wurden noch dieselbe Kristalle durch Zusatz von Äther gewonnen. Beide Kristalle wurden gesammelt, und aus absolutem Alkohol umkristallisiert.

Sehr hygroskopische Kristalle, die daher schwer analysierbar war. Bei der Oxydation mit alkalischer Ferricyanidlösung lieferte diese Substanz ein stark fluoreszierender Farbstoff, der der gemischten Form von Thiochrom- und Pyrichromfarbstoff gehört.

Biologische Versuche.

Zur biologischen Auswertung auf Aneurinwirkung durch Taubentest wurden folgende Substanzen geprüft, und mit Aneurinhydrochlorid verglichen.

- (1) 4-Methyl-5- β -acetoxyäthyl-N-(2-methyl-4-amino-pyrimidyl-(5)-methyl)-thiazolumbromidhydrobromid.
- (2) 4-Methyl-5- β -pyruvyloxyäthyl-N-(2-methyl-4-amino-pyrimidyl-(5)-methyl)-thiazolumbromid-hydrobromid.
- (3) 4-Methyl-5- β -propionyloxyäthyl-N-(2-methyl-4-amino-pyrimidyl-(5)-methyl)-thiazolumbromid-hydrobromid.
- (4) 4-Methyl-5- β -butyryl-oxpäthyl-N-(2-methyl-4-amino-pyrimidyl-(5)-methyl)-thiazolumbromid-hydrobromid.
- (5) 4-Methyl-5- β -benzoyloxyäthyl-N-(2-methyl-4-amino-pyrimidyl-(5)-methyl)-thiazolumbromidhydrobromid
- (6) Nicotylaneurin.
- (7) 2-Methyl-3-acetoxy-4, 5-diacetoxymethyl-N-(2-methyl-4-aminopyrimidyl-(5)-methyl)-pyridinumbromidhydrobromid. (Heteroaneurin. I)
- (8) 3-Carbamid-N-(2-methyl-4-aminopyrimidyl-(5)-methyl)-pyridinumbromidhydrobromid. (Heteroaneurin. II)
- (9) 3-Carbidäthylamid-N-(2-methyl-4-aminopyrimidyl-(5)-methyl)-pyridinumbromidhydrobromid. (Heteroaneurin. III)
- (10) Aneurinhydrochlorid.

Alle Substanzen wurden 48 Stunden in Vakuumexsiccator über konz.

Schwefelsaure getrocknet, mit Mikrowage je äquimolekulare Menge entsprechend 2 mg Aneurinhydrochlorid genau gewogen, in 20 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst, unmittelbar vor den Versuchen wurde, je 1 ccm davon mit 9 ccm physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. Die Wirksamkeitsprüfung wurde in Taubengewichtstest nach Kimura⁽¹³⁾ und Imai⁽¹⁴⁾ durchgeführt. Diese Methode beruht auf der Erscheinung, dass ausgewachsene Tauben von etwa 330 g auf der Vitamin B₁-freien Kost etwa nach 3 Wochen 23% an Körpergewicht verlieren und auf Vitamin B₁-mangel beruhende Erscheinungen zeigen, und dass diese Gewichtsabnahme nur durch Zufuhr von Vitamin B₁ behoben kann. Bei der Untersuchung haben sie stets die folgende Grundkost verwendet.

Reisstarke, gereinigt	71.0
Casein, gereinigt	15.0
Salzgemisch (nach McCollum)	4.0
Schweinefett	2.0
Lebertran	2.0
Citronensaft	1.0

Dass die Tauben Lactoflavin, Vitamin B₃ und B₆ entbehren können, kann leicht daraus geschlossen werden, dass sie durch alleinige Zugabe von Aneurin zur Grundkost gut wachsen. Die Tauben wurden, bis zur Gewichtskonstanz mit einer Diät aus 3 Teilen Bohnen und 7 Teilen unpoliertem Reis gefüttert, und dann auf die oben erwähnte Grundkost gesetzt. Wenn die Tiere etwa nach 3 Wochen 23% an Körpergewicht verlieren, dann werden verschiedene Testpräparate ausgewertet. Wie aus Fig. XIII ersichtlich, entfaltet steigende Dosis von Aneurin auch steigende Wirkung (Aufsteigen der Körpergewichtskurve geht parallel der Menge des verabreichten Aneurins). Die Methode wurde zuerst im Jahre von 1937 von Kimura unter Verwendung von weissen Tauben begonnen. Weisse Taube sind aber schwer zugänglich, besonders in Mandschukuo. So verwendete Imai im hiesigen Laboratorium schwärzliche, gemischte Taube und bewies, dass auch gemischte Taube gut verwendbar ist, wenn noch die gemischte etwas unempfindlich gegen B₁-Mangel ist. Von der B₁-Auswertungsmethode liegen zwei Ausführungstechniken vor; (1) Wenn die Versuchstiere 23% an Körpergewicht verloren, erhalten sie taglich die zu prüfende Substanz während 11 Tagen und wird jeden zwei Tage das Körpergewicht gewogen. (2) Nach Herabsetzen des Körpergewichts bis 77% bekommen die Versuchstiere eine einmalige Dosierung der zu prüfenden Substanz. Die erste Technik ist umsändiger, aber zuverlässiger als der zweite. Andersseits ist bewiesen, dass avitaminotische Taube am empfindlichsten auf die Differenz der Aneurindosis von 20 γ bis 5 γ reagiert, während dieselbe Differenz bei der Dosis über 40 γ Aneurin keine zuverlässige Ergebnisse liefert. In dieser Mitteilung wählte ich als Vergleichsstandard 20 γ Aneurinhydrochlorid und gab diese Dosis Aneurin

(13) Kimura, *Nisshin Igaku*, **26** (1937), 231.

(14) Imai, noch nicht publiziert.

und dementsprechende äquimolekulare Menge der zu prüfende Substanz in 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung per oral täglich während 11 Tagen und wog das Körpergewicht der Versuchstiere jeden zwei Tage. Ich verwendete junge Tauben im Gewicht 300–360 g, die Einzelkäfige gehalten wurden, bis Gewichtskonstanz mit einer Diät aus Bohnen und unpolierten Reis gefüttert wurden. Da nach drei Wochen Gewichtskonstanz erreicht wurde, bestimmte ich vom der vierten Wochen an jeden zwei Tage während 10 Tagen das Körpergewicht und berechnete das durchschnittliche Körpergewicht, hiess es als Anfangswert.

Ich teilte dann die Tauben in Gruppen auf, die einander möglichst gleichwertig zusammengesetzt sind (Durchschnitt: 210 g bis 315 g), dann setzt auf die folgende Diät

Reisstarke, gereinigt	71.0
Casein, gereinigt	15.0
Salzgemisch (nach McCollum)	4.0
Butter	7.0
Lebertran	2.0

Statt schwer zugängliches Schweinefett in der Kimuraschen Diät verwendete ich Butter. Citronensaft ist entbehrlich, da Taube keiner Ascorbinsäurezufuhr benötigt ist. Wenn die Tauben auf diese Kost 23% an ihren Gewicht verloren hat, wurden täglich die schon oben erwähnten zu prüfenden Substanzen gegeben, und das Körpergewicht jeden zwei Tage gewogen. In der Orthogonalen Koordination wurde die Veränderung des Körpergewichts auf die Ordinate, die Versuchstage auf die Abszisse aufgetragen und die Feldgrösse zwischen Körpergewichtskurve und der Abszisse annähernd nach folgender Gleichung gerechnet und diese Werte mit den Standardwerten von Aneurinhydrochlorid verglichen.

Feldgrösse am 11 ten Tage

$$J_{11} = G_3 + G_5 + G_7 + G_9 + G_{11}.$$

Wo G_3 die Differenz zwischen dem Körpergewicht vom ersten Tage und dritten Tage, G_5 die Differenz zwischen dem Körpergewicht an ersten und am funften Tage, bedeutet, G_7 , G_9 , G_{11} desgleichen.

Nur die Nicotinsäureamid-pyrimidinverbindung (Heteroaneurin II) die Triacetyladermin-pyrimidinverbindung (Heteroaneurin I) wurden mit der zweiten Bestimmungstechnik ausgewertet; nämlich, wenn die Versuchstiere 23% an Körpergewicht auf B_1 -Mangelkost verloren, erhielten sie eine einmalige Dosierung der zu prüfenden Substanzen und wurde täglich während 7 Tagen das Körpergewicht gemessen. Die zu prüfenden Substanzen wurden in Wasser gelöst und mittels Sonde per oral gegeben. Die approximative Flächenraum J zwischen der Körpergewichtskurve und der Abszisse ergibt sich durch die Formel

$$J_n = G_2 + G_3 + G_4 + \dots + G_n.$$

Durch Vergleich dieser J mit den Standardwerten, die an kristallini-

schem Aneurin festgestellt wurden, wurde die Wirksamkeit der zu prüfenden Substanzen abgeschätzt. Der approximative Flächenraum des sieben-tages ergibt sich durch die Formel

$$\Delta_7 = G_2 + G_3 + G_4 + G_5 + G_7,$$

wo G_2 den Körpergewichtsunterschied zwischen dem ersten Tage und dem zweiten, G_3 den Unterschied dem ersten und dem dritten bedeutet, und $G_4, G_5 \dots$ die analoge Verhältnisse zeigen.

Tabelle 1.

Aneurindosis mg	D			
	Δ_5	Δ_7	Δ_9	Δ_{11}
0.03	52	92	140	188
0.025	47	83	123	163
0.02	41	73	106	138
0.015	31	53	76	97
0.01	20	33	46	56
0.0075	5	7	6	4
0.005	-10	-20	-34	-49
0	-35	-62	-108	-127

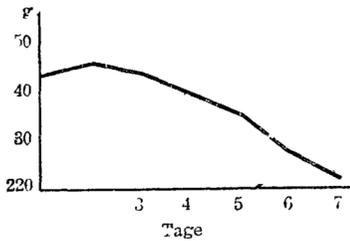


Fig. 1

Tabelle 2.

Aneurindosis mg	D	
	Δ_5	Δ_8
0.04	24	3
0.03	0	-30
0.02	-25	-30
0.01	-32	-76
0	-44	-92

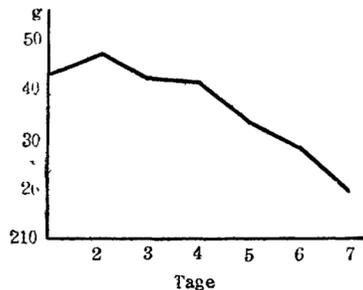


Fig. 2

Die Standardwerte der Technik I wurde in der Tab. I, die Standardwerte der Technik II in der Tab. 2 niedergelegt.

Tabelle 3. Körpergewichtsveränderung der Tauben nach
Verabreichung von 0.5×10^{-4} Millimol.]

Tauben Nr.	Anfangs- körper- gewicht in g	Aneurinhydrochlorid												
		A in g	B %	C Tag	K G am ersten Tage in g	3''	5''	7''	9''	11''	D			
											d_5	d_7	d_9	d_{11}
6	330	254	77	29	254	281	289	285	291	290	62	93	130	166
44	305	237	78	17	237	244	252	252	252	256	22	37	52	71
1	304	234	77	27	234	255	257	260	262	270	44	70	98	134
21	292	228	78	29	228	259	274	272	287	291	77	121	180	243
28	290	225	78	23	225	246	255	261	258	268	51	87	120	163
5	329	252	77	21	252	263	280	280	272	291	39	67	87	126
14	315	242	77	27	242	266	253	263	263	278	35	56	82	118
Durch- schnitt	309	239	77	25	239	259	266	263	270	278	47	76	107	146

(1) Aneurinhydrochlorid (Tab. 3, Fig. 3)

Aus Vergleich des approximativen Flächenraum mit den Standardswerten ausgewertet, zeigten diese B_1 -Kristalle fast theoretische Werte.

(2) Acetylaneurin (Tab. 4, Fig. 4).

Im Gegensatz zur Erwartung von R. Kuhn scheint die acetylierung des Aneurins die Herabsetzung der Wirksamkeit herbeizuführen. d_{11} entsprach einer Menge von 0.017 mg Aneurin.

Tabelle 4. Körpergewichtsveränderung der Tauben nach
Verabreichung von 0.5×10^{-4} Millimol.

Tauben Nr.	Anfangs- körper- gewicht in g	Acetylaneurin												
		A in g	B %	C Tag	K G am ersten Tage in g	3''	5''	7''	9''	11''	D			
											d_5	d_7	d_9	d_{11}
20	330	225	77	30	255	278	276	283	279	287	44	72	96	128
23	306	236	77	16	236	254	262	246	235	263	44	54	53	80
43	305	234	77	22	234	245	228	250	235	247	5	21	22	35
20	334	250	75	21	250	272	280	299	287	292	52	101	138	180
22	307	241	79	21	241	262	267	277	271	275	47	83	113	148
29	300	234	78	20	234	248	249	259	259	262	29	54	79	107
9	306	236	77	31	236	247	252	263	268	263	27	54	86	113
13	305	230	75	26	230	342	248	254	253	254	30	54	77	101
26	328	251	76	27	251	266	279	282	272	288	43	74	95	132
Durch- schnitt	314	241	77	24	241	268	260	268	262	270	36	63	84	114

A) Körpergewicht unmittelbar vor dem Beginn der Verabreichung der zu prüfenden Substanz.

B) $A \times \frac{100}{\text{Anfangswerte}}$

C) Zur Gewichtsabnahme erforderliche Tage.

D) Approximativer Flächenraum.

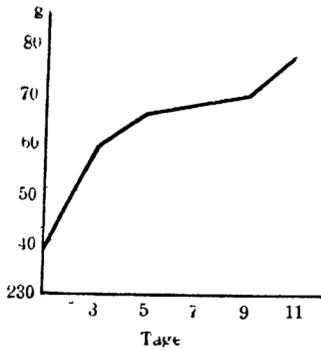


Fig. 3

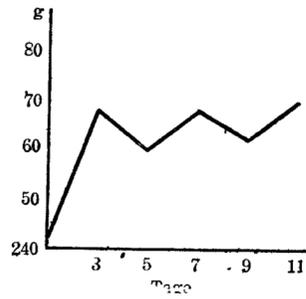


Fig. 4

(3) Pyruvylaneurin (Tab. 5, Fig. 5)

Trotz meiner Erwartung erfolgt auch hier die Pyruvylierung des Aneurins die starke Herabsetzung der Wirksamkeit. Es ist deshalb interessant, da das antagonistische Verhältniss zwischen dem Aneurin und der Brenztraubensäure bei Beriberi vorliegt. M_{11} entsprach einer Menge von weniger als 0.005 mg Aneurin, d. h. die Aneurinwirkung wurde bis unter $\frac{1}{4}$ herabgesetzt.

Tabelle 5. Körpergewichtsveränderung der Tauben nach Verabreichung von 0.5×10^{-4} Millimol.

Tauben Nr	Anfangskörpergewicht in g	Pyruvylaneurin									D			
		A in g	B %	C Tag	K G. am ersten Tage in g	3''	5''	7''	9''	11''	D_5	D_7	D_9	D_{11}
28	318	244	77	21	244	228	222	210	213	Op.	-38	-72	-103	—
7	316	241	76	22	241	238	239	227	221	215	-5	-19	-39	-65
38.	307	236	77	20	236	243	237	232	229	229	8	4	-3	-10
11	298	230	77	30	230	234	226	220	Op.	—	0	-10	—	—
10	336	261	78	25	261	265	247	240	237	230	-10	-31	-55	-86
32	311	240	77	25	240	232	225	222	222	208	-23	-41	-59	-91
Durchschnitt	314	242	77	24	242	240	233	225	224	221	-11	-28	-52	-63

Op = *Ophithotonus*.

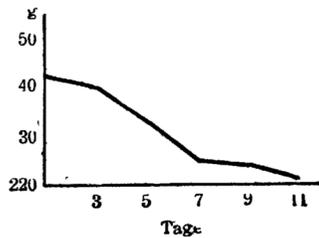


Fig. 5

(4), (5) Propionylaneurin und Butyrylaneurin. (Tab. 6, Fig. 6 und Tab. 7, Fib.. 7)

†Tabelle 6. Körpergewichtsveränderung der Tauben nach Verabreichung von 0.5×10^{-4} Millinol.

Tauben Nr	Anfangs- körper- gewicht in g	Propinylaneurin												
		A in g	B %	C Tag	K G am ersten Tage in g	3''	5''	7''	9''	11''	D			
											d_5	d_7	d_9	d_{11}
24	327	248	76	24	248	262	275	275	275	279	41	68	95	126
19	312	240	77	24	240	272	269	276	274	270	61	97	131	161
9	331	256	77	25	256	237	285	298	305	299	60	102	151	194
15	297	228	77	23	228	245	246	255	262	263	35	62	96	131
25	313	242	77	22	242	259	263	271	265	277	38	67	90	125
Durch- schnitt	316	243	77	24	243	265	268	275	276	278	47	79	113	147

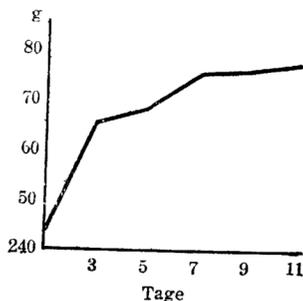


Fig 6

Beide Substanzen zeigten fast dieselbe Wirksamkeit die Aneurinhydrochlorid. d_{11} des Propionylaneurins entsprach einer Menge von 0.0218 mg, während d_{11} des Butyrylaneurins einer Menge von 0.0216 mg Aneurinhydrochlorid entsprach.

Tabelle 7. Körpergewichtsveränderung der Tauben nach Verabreichung von 0.5×10^{-4} Millinol.

Tauben Nr.	Anfangs- körper- gewicht in g	Butyrylaneurin												
		A in g	B %	C Tag	K G am ersten Tage in g	3''	5''	7''	9''	11''	D			
											d_5	d_7	d_9	d_{11}
21	317	245	77	27	245	268	275	280	282	286	53	88	125	166
22	316	245	78	20	245	273	275	272	278	278	58	85	118	151
18	308	237	77	27	237	255	247	255	263	264	28	46	72	99
31	323	251	78	25	251	292	283	285	291	291	73	107	147	187
34	297	230	77	22	230	240	251	250	264	284	31	51	85	139
33	321	247	77	23	247	267	271	274	271	284	44	71	95	132
Durch- schnitt	314	243	77	24	243	266	267	269	275	281	48	75	107	146

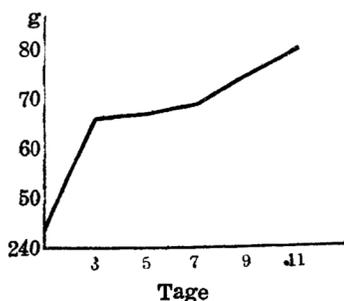


Fig. 7

(6) Benzoylaneurin (Tab. 8, Fig. 8)

Die Benzoylierung des Aneurins versucht auch Herabsetzung der Wirksamkeit. Δ_{11} entsprach einer Menge von 0,0157 mg Aneurins.

Tabelle 8. Körpergewichtsveränderung der Tauben nach Verabreichung von $0,5 \times 10^{-6}$ Millimol.

Tauben Nr.	Anfangs- körper- gewicht in g	Benzoylaneurin										D			
		A in g	C %	B Tag	K.G.am ersten Tage in g	3''	5''	7''	9''	11''	Δ_5	Δ_7	Δ_9	Δ_{11}	
40	324	247	76	24	247	252	264	254	267	264	22	29	49	66	
15	317	242	76	22	242	266	260	262	262	273	42	62	82	113	
34	300	229	76	34	229	247	251	258	256	263	40	69	96	130	
16	337	251	74	19	251	271	276	267	259	267	45	61	69	85	
13	311	240	77	20	240	248	248	256	270	276	16	32	62	98	
30	298	226	76	26	226	242	240	250	259	264	30	54	87	125	
Durch- schnitt	315	237	76	24	239	255	257	258	262	268	33	51	74	103	

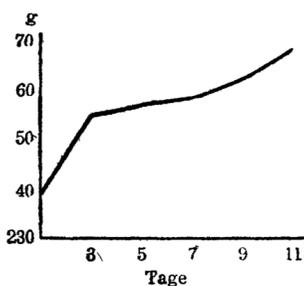


Fig. 8

(7) Nicotinylaneurin. (Tab. 9, Fig. 9)

Die Nicotinsäure wurde zuerst von U. Suzuki in Reiskleie aufgefunden und von Funk als ein Bestandteil des Vitamin B₁-Moleküls angesprochen. Sie ist nun als Antipellagravitamin anerkannt. Noch heute glaubte C. Funk das Vorhandensein des schwefelfreien antineuritischen Vitamins.

Er denke vielleicht eine Pyridinketnhaltige Verbindung. In dieser Beziehung sei der Nicotinsäureester des Vitamins-B₁ eine sehr interessante Verbindung. Durch Nicotinylierung wurde indessen die Aneurinwirkung nicht nur gesteigert, sondern stark abgeschwächt. Δ_{11} entsprach einer Menge von 0.0089 mg Aneurinhydrochlorid.

Heteroaneurin

Man heisst im allgemeinen die schwefelfreie Pyrimidin-pyridinumverbindungen als Heterovitamine. Von diesen Reihen sind einige bereits bekannt.

Tabelle 9. Körpergewichtsveränderung der Tauben nach Verabreichung von 0.5×10^{-4} Millimol.

Tauben Nr.	Anfangs- körper- gewicht in g	Nicotinylaneurin												
		A	B	C	K.G.am ersten Tage in g	3''	5''	7''	9''	11''	D			
		in g	%	Tag							Δ_5	Δ_7	Δ_9	Δ_{11}
41	340	262	77	24	262	275	270	271	272	275	21	30	40	53
2	303	231	76	26	231	231	235	238	241	248	4	11	21	38
25	326	253	78	29	253	257	261	253	257	255	12	12	16	18
10	315	246	78	27	246	255	256	258	243	246	19	31	28	28
Durch- schnitt	321	248	77	27	248	255	256	255	253	256	14	21	26	34

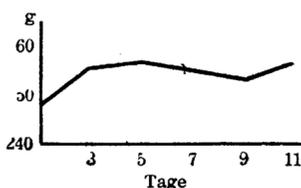


Fig. 9

(8) Heterovitamin I (Tab. 10, Fig. 10)

Das Adermin ist ein zwei Methylalkoholgruppe tragendes Pyridon. Die quartäre Base, welche durch Verbinden dieses Vitamins mit Pyrimidinverbindung besteht, scheint sowohl Vitamin B₆ als auch Heteroaneurin sehr interessant. Es hat auch eine geringe antineuritische Wirkung, wenn auch sehr schwach. Δ_7 ist weniger als eine Menge von 0.005 mg Aneurinhydrochlorid. Mit der Technik II entsprach 1 mg Sub. 0.033 mg Aneurin. (Fig. I, Tab. XIII)

Tabelle 10. Körpergewichtsveränderung der Tauben nach Verabreichung von 0.5×10^{-4} millimol.

2-Methyl-3-acetoxy-4, 5-diacetoxymethyl-N-(2-methyl-4-aminopyrimidyl-(5)-methyl)-pytidinumbromidhydrobromid.

Tauben Nr.	Anfangs- körper- gewicht in g	2-Methyl-3-acetoxy-4, 5-diacetoxymethyl-N-(2-methyl-4-aminopyrimidyl-(5)-methyl)-pytidinumbromidhydrobromid.												
		A	B	C	K.G.am ersten Tage in g	3''	5''	7''	9''	11''	D			
		in g	%	Tag							Δ_5	Δ_7	Δ_9	Δ_{11}
39	336	260	77	31	260	260	257	249	252	246	-3	-14	-22	-36
35	303	230	76	26	230	221	222	212	218	207	-17	-35	-47	-70
33	301	227	75	22	227	220	215	210	202	193	-19	-36	-61	-95
Durch- schnitt	313	239	76	26	239	234	231	223	224	215	-13	-23	-43	-67

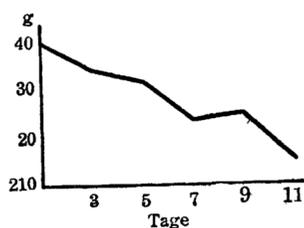


Fig. 10

Tabelle 11. Körpergewichtsveränderung der Tauben nach Verabreichung von 0.5×10^{-4} Millimol. 3-Carbamid-N-(2-methyl-4-aminopyrimidyl)-(5)-methyl-pyridiniumbromidhydrobromid.

Tauben Nr	Anfangskörpergewicht in g	A in g	B %	C Tag	K.G am ersten Tage in g	3''	5''	7''	9''	11''	D			
											d_5	d_7	d_9	d_{11}
3	346	266	77	20	266	250	258	249	Op.	—	-24	-41	—	—
17	302	227	75	21	227	218	Op.	—	—	—	—	—	—	—
12	295	220	75	19	220	206	195	193	Op.	—	-39	-66	—	—
Durchschnitt	314	238	76	20	238	225	227	221	Op.	—	-32	-54	—	—

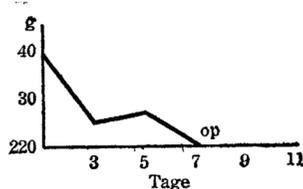


Fig. 11

(9) Heterovitamin II (Tab. 11, Fig. 11)

Die Wirkung dieser Substanz ist so schwach, dass es unmöglich ist, die Wirkung mit Bestimmungstechnik I zu bestimmen. Mit Bestimmungstechnik II unter Anwendung von 1 mg ausgewertet, entsprach d_7 einer Menge von 0.0277 mg Aneurin. (Fig. II, Tab. XIV)

Tabelle 12. Körpergewichtsveränderung der Tauben nach Verabreichung von 0.5×10^{-4} Millimol. 3-Carbdiäthylamid-N-(2-methyl-4-aminopyrimidyl)-(5)-methyl-pyridinium-bromidhydrobromid.

Tauben Nr	Anfangskörpergewicht in g	A in g	B %	C Tag	K.G am ersten Tage in g	3''	5''	7''	9''	11''	D			
											d_5	d_7	d_9	d_{11}
4	337	254	75	22	254	249	237	242	Op.	—	-22	-34	—	—
36	304	234	77	23	234	237	236	231	214	211	5	2	-18	-38
27	299	232	77	24	232	226	218	213	199	202	-20	-39	-72	-102
Durchschnitt	313	240	76	23	240	237	230	229	207	208	-12	-24	-45	-70

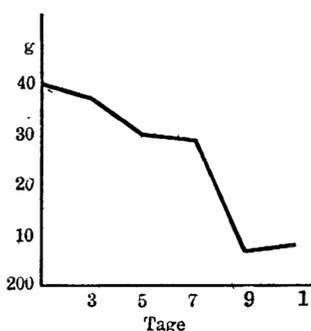


Fig. 12

(10) Heterovitamin III. (Tab. 12, Fig. 12)

Dieses Vitamin ist als Substanz II ein wenig wirksamer, aber Δ_{11} liegt unter einer Menge von 0.005 mg Aneurin.

Tabelle 13. Körpergewichtsveränderung der Tauben nach Verabreichung von 2.5×10^{-4} Millimol. 2-Methyl-3-acetoxy-4, 5-diacetoxymethyl-N (2-methyl-4-aminopyrimidyl(5)-methyl)-pyridiniumbromidhydrobromid.

Tauben Nr.	Anfangs- körper- gewicht in g	A in g	B %	C Tag	K G am ersten Tage in g	2''	3''	4''	5''	6''	7''	C	
												Δ_5	Δ_7
5	323	250	77	25	250	259	260	256	246	240	234	21	-5
1	313	245	78	22	245	249	248	245	240	234	231	2	-23
40	299	233	78	17	233	227	221	216	219	208	201	-14	-32
Durch- schnitt	312	243	78	21	243	245	243	239	235	227	222	3	-20

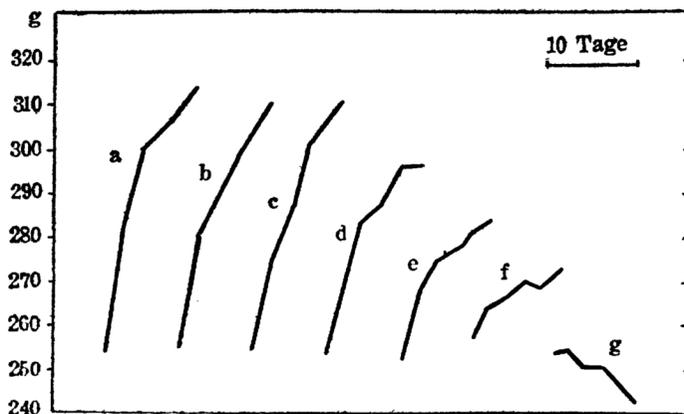


Fig. 13

Jede Kurve zeigt Durchschnittswerte von 10 Tauben.

a) 0.1 mg	täglich	} Aneurinhydrochlorid
b) 0.05 mg	"	
c) 0.04 mg	"	
d) 0.03 mg	"	
e) 0.02 mg	"	
f) 0.01 mg	"	
g) 0.005 mg	"	

Tabelle 14. Körpergewichtsveränderung der Tauben nach Verabreichung von 2.3×10^{-4} Millimol. 3-Carbamid-N-(2-methyl-4-aminopyrimidyl-(5)-methyl)-pyridinumbromidhydrobromid.

Tauben Nr.	Anfangs- körper- gewicht in g	A in g	B %	C Tag	K.G.am ersten Tage in g	2''	3''	4''	5''	6''	7''	C	
												4 ₅	4 ₇
3	312	241	77	31	241	240	239	238	234	228	217	-13	-50
12	332	255	77	27	255	261	258	250	244	240	229	-11	-25
7	301	232	77	21	232	239	230	236	220	216	210	- 3	-41
Durch- schnitt	315	243	77	26	243	247	242	241	233	228	219	- 9	-39

Die vorliegende Arbeit wurde mit Unterstützung von Stipendium der Sudmandschurei-Eisenbahngesellschaft und Nippon Gakujutsu Shinkokai durchgeführt.

Einen Teil der Mikroanalyse verdanke ich dem chemischen Laboratorium von Firma-Takeda (K. Makino).

Zum Schluss spreche ich Dr. S. Morii meinen herzlichen Dank für seine wertvolle Hilfe aus.

*Aus der biochemischen Abteilung des Davren-Hospitals,
Davren.*