

## Fortschritte der physiologischen Chemie seit 1929.

## III. Vitamine\*).

## Vitamin A.

Von Dr. HANS BROCKMANN, Heidelberg.

(Eingeg. 14. Mai 1934.)

Kaiser Wilhelm-Institut für medizinische Forschung, Heidelberg.

Inhalt: Einleitung. — Die Carotinoide mit A-Vitamin-Wirkung (Provitamine). —  $\beta$ -Carotin-Abbauprodukte mit A-Vitamin-Wirkung. — Das A-Vitamin. — Das Vorkommen der Provitamine und des A-Vitamins. — Nachweis und quantitative Bestimmung. — Physiologisches.

## Einleitung.

Die Erforschung des A-Vitamins oder, besser gesagt, der Stoffe mit A-Vitamin-Wirkung hat erst in der Zeitspanne dieses Fortschrittsberichtes zu Ergebnissen geführt, durch die eine weitgehende Konstitutionsaufklärung möglich geworden ist. Damit ist die chemische Seite des A-Vitamin-Problems in den wesentlichen Teilen geklärt und für die trotz emsiger Einzelarbeit noch immer ungeklärte Frage nach dem Mechanismus der biologischen Wirkung die Grundlage gegeben.

Bekannt ist im Jahre 1929 im wesentlichen folgendes. A-Vitamin, ein fettlöslicher vom ebenfalls fettlöslichen D-Vitamin scharf zu unterscheidender Stoff, läßt sich aus Lebertranpräparaten anreichern und ist in Form so gewonnener Konzentrate im Hochvakuum destillierbar. Sein Fehlen bewirkt beim Menschen und bei der Ratte Trübung und Verhornung der Augenhornhaut (Xerophthalmie) und damit Erblindung, bei der jungen Ratte außerdem Gewichtsabfall und schließlich den Tod. Für den chemischen Nachweis und die quantitative Bestimmung stehen in ihrem Wert umstrittene Farbreaktionen zur Verfügung; die biologischen Bestimmungsmethoden an der jungen Ratte sind eingehend studiert und haben zu einer guten Kenntnis der Verbreitung dieses Vitamins geführt. Ein schon 1919 von *Steenbock* aufgefundener Parallelismus zwischen der A-Vitamin-Wirksamkeit pflanzlicher Produkte und dem Carotinoidgehalt im unverseifbaren Anteil ihrer Extrakte führt diesen Forscher zu der Annahme, daß Carotin A-Vitamin-Wirkung hat, und daß das A-Vitamin als Leukoverbindung des Carotins aufzufassen ist. Es gelingt ihm, mit kristallisiertem Carotin A-Mangelerscheinungen zu heilen. Unverständlicherweise können verschiedene Untersucher<sup>1)</sup> diese Ergebnisse nicht reproduzieren, so daß eine der wichtigsten Entdeckungen auf dem Vitamingebiet zunächst unbeachtet bleibt.

Es ist das große Verdienst *H. v. Eulers* gemeinsam mit *P. Karrer*<sup>2)</sup>, durch sorgfältige Tierversuche gezeigt zu haben, daß reines Carotin in Tagesdosen von 5—10  $\gamma$  A-Vitamin-Wirkung besitzt. Diese Arbeit hat der Erforschung des A-Vitamins einen neuen Impuls gegeben.

## Die Carotinoide mit A-Vitamin-Wirkung (Provitamine).

Verschiedene Arbeiten des Jahres 1929 bringen eine Bestätigung des *v. Eulerschen* Befundes<sup>3)</sup>. Die vielfach

\* ) Bereits erschienen sind die Abschnitte I. *Naturstoffe*, vgl. diese Ztschr. 47, 247, 271, 286, 290, 294, 315, 318, 351 [1934], und II. *Enzyme*, ebenda 47, 447, 451, 475, 491, 515 [1934].

<sup>1)</sup> *J. C. Drummond*, *Biochemical Journ.* 13, 81 [1919]. *O. Rosenheim* u. *J. C. Drummond*, *Lancet* 1920, 862. *M. Stephenson*, *Biochemical Journ.* 14, 715 [1920]. *J. C. Drummond*, *H. J. Channon* u. *K. H. Coward*, ebenda 19, 1047 [1925].

<sup>2)</sup> *B. v. Euler*, *H. v. Euler* u. *P. Karrer*, *Helv. chim. Acta* 12, 278 [1928].

<sup>3)</sup> *D. L. Collison*, *E. M. Hume*, *I. Smedley-Maclean* u. *H. H. Smith*, *Biochemical Journ.* 23, 634 [1929]. *T. Moore*, *Lancet* 1929, 499; *Biochemical Journ.* 23, 803 [1929]. *Javillier* u. *Emerique*, *Compt. rend. Acad. Sciences* 190, 655 [1930].

diskutierte Möglichkeit, daß die Vitaminwirkung des Carotins durch geringe Beimengungen eines unbekannten Stoffes bedingt sein kann, läßt sich durch Versuche mit sehr sorgfältig gereinigten Carotinpräparaten widerlegen<sup>4)</sup>. *R. Kuhn* und *H. Brockmann*<sup>5)</sup> reinigen Carotin auf drei verschiedene Arten, durch Adsorption, durch Regeneration aus dem Jodid und endlich dadurch, daß etwa 90% durch Oxydation zerstört und der Rest in kristallisierter Form wiedergewonnen wird. Alle Präparate zeigen in Tagesdosen von 5  $\gamma$  gute A-Vitamin-Wirksamkeit. Durch alle diese Versuche ist erwiesen, daß es neben dem A-Vitamin des Lebertranes noch ein anderes stark gefärbtes gibt, das der Gruppe der Carotinoide angehört. *H. v. Euler* vermutet, daß die gleiche biologische Wirksamkeit beider auf der Gegenwart eines bestimmten Systems von Doppelbindungen beruht.

Die Beziehung dieser beiden Vitamine zueinander wird in einer wichtigen Arbeit von *T. Moore*<sup>6)</sup> geklärt, der in der Rattenleber nach Verfütterung größerer Dosen Carotin reichliche Mengen A-Vitamin vorfindet, und dadurch zu der Auffassung geführt wird, daß das Carotin im Organismus der Ratte in A-Vitamin übergeht, also als Provitamin fungieren kann. Ob diese Überführung in der Leber vor sich geht oder in einem anderen Organ, ist bisher nicht mit Sicherheit festgestellt. Ebenso ist es nicht gelungen, diese Umwandlung in vitro mit Leberpreßsaft, Leberbrei oder mit Durchblutungsversuchen durchzuführen. Versuche *Olcotts*<sup>7)</sup>, der eine solche Umwandlung in vitro festgestellt zu haben glaubte, hielten der Nachprüfung von verschiedenen Seiten nicht stand<sup>8)</sup>. In gleicher Weise wirksam wie das Carotin, wenn auch erst in Tagesdosen von 40  $\gamma$ , ist das Carotinjodid, aus dem im Organismus wahrscheinlich Carotin regeneriert wird<sup>9)</sup>. Die von *H. v. Euler* beobachtete Wachstumswirkung der uneinheitlichen Dihydrocarotine ist nach *Kuhn* und *Brockmann* schwankend<sup>10)</sup>.

Die Zahl der Stoffe mit A-Vitamin-Wirkung erhöht sich, als es *Kuhn* und *Lederer*<sup>11)</sup> gelingt, das für einheitlich gehaltene Rüben-carotin in zwei Komponenten zu zerlegen, in das optisch inaktive  $\beta$ -Carotin und das optisch aktive  $\alpha$ -Carotin. Die biologische Prüfung der beiden Komponenten durch *Kuhn* und *Brockmann*<sup>12)</sup> ergibt, daß beide in Tagesdosen von 5  $\gamma$  gutes Wachstum und Heilung der Xerophthalmie bewirken. Unabhängig und fast zur gleichen Zeit gelingt es *Karrer* und Mitarbeitern, reines

<sup>4)</sup> *P. Karrer* u. *M. Rydholm*, *Ber. Dtsch. chem. Ges.* 62, 2445 [1929]. <sup>5)</sup> *Ber. Dtsch. chem. Ges.* 64, 1859 [1930].

<sup>6)</sup> *Biochemical Journ.* 24, 692 [1930].

<sup>7)</sup> *H. S. Olcott* u. *D. C. McCann*, *Journ. biol. Chemistry* 94, 185 [1931].

<sup>8)</sup> *B. Ahmad*, *Biochemical Journ.* 25, 1195 [1931]. *J. L. Rea* u. *J. C. Drummond*, *Ztschr. Vitaminforsch.* 1, 177 [1932].

<sup>9)</sup> *T. Moore*, *Lancet* 1929, 219.

<sup>10)</sup> *Ztschr. physiol. Chem.* 213, 1 [1932].

<sup>11)</sup> *Naturwiss.* 19, 306 [1930]; *Ber. Dtsch. chem. Ges.* 64, 1849 [1931]. <sup>12)</sup> *Ber. Dtsch. chem. Ges.* 64, 1859 [1931].

$\beta$ -Carotin herzustellen und  $\alpha$ -Carotinpräparate mit einem Gehalt von etwa 50% der optisch aktiven Komponente zu gewinnen. Besonders reich an  $\alpha$ -Carotin, das in gewöhnlichem Rüben-carotin zu etwa 10% enthalten ist und in den meisten Pflanzen nur in geringer Menge vorkommt, erweist sich das rote Palmöl<sup>13)</sup>. Ein drittes biologisch wirksames Carotinisomeres, das  $\gamma$ -Carotin, wird von Kuhn und Brockmann aus dem Rüben-carotin isoliert, in dem es zu etwa 0,1% enthalten ist<sup>14)</sup>. Die kleinste wirksame Menge beträgt 5  $\gamma$  pro Tag.

Xanthophylle: Eine von H. v. Euler bei Hühnern gefundene schädigende Wirkung des Blattxanthophylls hat sich nicht bestätigen lassen<sup>15)</sup>. Ebenso ließ sich eine vorübergehende Wachstumswirkung bei Ratten nicht reproduzieren<sup>16)</sup>. Einwandfrei nachgewiesen ist dagegen die A-Vitamin-Wirkung des von Kuhn und Grundmann<sup>17)</sup> aus Mais isolierten Kryptoxanthins (Tagesdosis 5  $\gamma$ ), das somit als das erste biologisch wirksame Xanthophyll anzusehen ist.

Die für das  $\alpha$ -Carotin,  $\beta$ -Carotin und A-Vitamin von P. Karrer, für das  $\gamma$ -Carotin von A. Winterstein sowie Kuhn und Brockmann aufgestellten Konstitutionsformeln<sup>17a)</sup> deuten die Beziehungen der drei wirksamen Carotine  $C_{40}H_{56}$  zum A-Vitamin  $C_{20}H_{30}O$  dahin gehend, daß aus  $\beta$ -Carotin durch Wasseranlagerung 2 Mol A-Vitamin entstehen können, aus  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Carotin dagegen nur 1 Mol. Dementsprechend müssen  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Carotin nur halb so wirksam sein wie  $\beta$ -Carotin. Eine genaue Bestimmung der kleinsten noch wirksamen Dosis der drei Isomeren<sup>15)</sup> durch Kuhn und Brockmann in Gemeinschaft mit A. Scheunert und Schieblich bestätigt die Richtigkeit dieser Folgerung, die kleinste tägliche Dosis des  $\beta$ -Carotins wird zu 2,5  $\gamma$ , die des  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Carotins zu 5  $\gamma$  gefunden. Unterschiede, die in derselben Richtung liegen, finden Brockmann und M. L. Tecklenburg im A-Vitamin-Gehalt der Rattenleber nach Fütterung mit den drei Carotinen<sup>18)</sup>. Aus  $\beta$ -Carotin bildet sich unter den gleichen Bedingungen wesentlich mehr A-Vitamin als aus  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Carotin. Alle drei Isomeren können also als Provitamine fungieren. Als wichtiges Resultat dieser Versuche ergibt sich, daß die biologische Wirksamkeit nicht streng an die Konstitution gebunden ist, daß aber mindestens eine Hälfte des Moleküls so gebaut sein muß, daß aus ihm durch Sauerstoffaufnahme A-Vitamin hervorgehen kann<sup>19)</sup>.

Eine weitere Bestätigung dieses Ergebnisses bringen eingehende Untersuchungen von Kuhn und Brockmann<sup>20)</sup> über die Zusammenhänge zwischen Konstitution und physiologischer Wirksamkeit am  $\beta$ -Carotin, die zeigen, bei welchen Veränderungen am Molekül die Vitaminwirksamkeit erhalten bleibt und bei welchen sie zum Erlöschen kommt.

<sup>13)</sup> R. Kuhn u. H. Brockmann, Ztschr. physiol. Chem. 200, 255 [1931].

<sup>14)</sup> Ber. Dtsch. chem. Ges. 66, 407 [1933].

<sup>15)</sup> Journ. biol. Chemistry 97, 83 [1932].

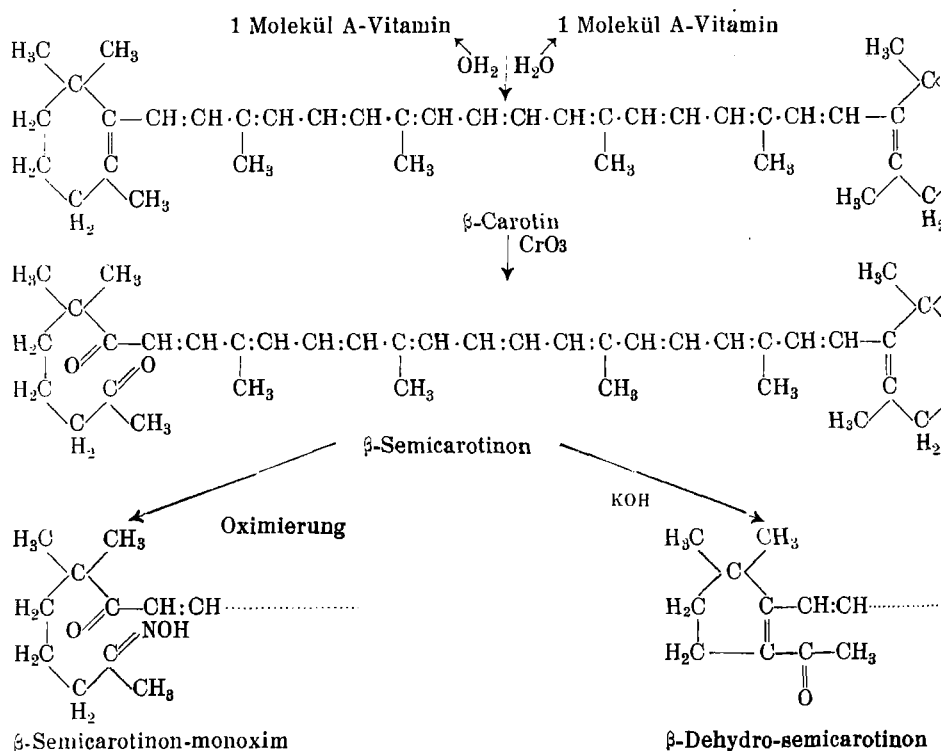
<sup>16)</sup> R. Kuhn u. H. Brockmann mit A. Scheunert u. M. Schieblich, Ztschr. physiol. Chem. 221, 129 [1933].

<sup>17)</sup> Ber. Dtsch. chem. Ges. 67, 339 [1934].

<sup>17a)</sup> Vgl. Beitrag Carotinoide von A. Winterstein in dieser Berichtfolge, S. 315. <sup>18)</sup> Ztschr. physiol. Chem. 221, 117 [1933].

<sup>19)</sup> Vgl. R. Kuhn u. H. Brockmann, Klin. Wchschr. 12, 972 [1933].

<sup>20)</sup> R. Kuhn u. H. Brockmann, Ber. Dtsch. chem. Ges. 65, 894 [1932]; Ztschr. physiol. Chem. 213, 1 [1932]; Ber. Dtsch. chem. Ges. 66, 1319 [1933].



Durch eine milde Oxydation mit verd. Chromsäure gelingt es zum ersten Male, eine Reihe noch stark gefärbter Abbauprodukte in einheitlicher kristallisierter Form zu fassen. Das erste mit biologischer Wirksamkeit, das in Tagesdosen von 5  $\gamma$  Wachstum und Heilung der Xerophthalmie bei A-frei ernährten Ratten bewirkt, ist das  $\beta$ -Oxycarotin, ein in gelbroten Nadeln schön kristallisierender Stoff, dessen Konstitution noch nicht geklärt ist. Da sich Jonon aus ihm bilden kann, ist anzunehmen, daß die eine Hälfte des Moleküls intakt geblieben ist und die Oxydation nur auf der einen Seite eingesetzt hat. Gut bekannt dagegen ist die Konstitution des  $\beta$ -Semicarotins  $C_{40}H_{56}O_2$ , eines Diketons, dessen zwei  $C=O$ -Gruppen durch oxydative Sprengung einer Ringdoppelbindung entstanden sind. Bei ihm ist die eine Hälfte des Moleküls unverändert und daher noch zur A-Vitamin-Bildung befähigt. In Analogie zum  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Carotin, in deren Molekül, wie erwähnt, auch nur die eine Hälfte A-Vitamin zu bilden vermag, ist die kleinste Tagesdosis 5  $\gamma$ . Die gleiche Wirksamkeit besitzt das Oxim des Semicarotins, das somit der erste N-haltige Stoff mit A-Vitaminwirksamkeit ist. Ebenso unberührt wie durch Oximierung bleibt die biologische Wirkung, wenn durch Alkalibehandlung des Semicarotins der gesprengte Jononring sich unter Wasseraustritt zum 5-Ring schließt, wobei das Dehydro-semicarotin entsteht<sup>21)</sup> (Tagesdosis 5  $\gamma$ ), das von allen Abbauprodukten die langwelligsten Absorptionsbanden hat. Daß in diesen drei Semicarotinonen die Vitaminwirkung auf die intakte Hälfte des Moleküls zurückzuführen ist, wird dadurch bewiesen, daß sich im Semicarotin der zweite Jononring in genau der gleichen Weise sprengen läßt, so daß ein Tetraketon,  $\beta$ -Carotinon, entsteht, das keine biologische Wirksamkeit mehr besitzt. Ein Jahr nach Beginn dieser Untersuchung gelingt es H. v. Euler, P. Karrer und Mitarbeitern<sup>22)</sup>, durch Oxydation mit Benzopersäure ein Carotinoxid zu gewinnen, dessen Sauerstoff ätherartig gebunden ist, und das identisch zu sein scheint mit einem Oxydationsprodukt, das Kuhn und Brockmann bei der Oxydation des  $\beta$ -Carotins mit Chromsäure oder Luftsauerstoff erhalten haben<sup>21)</sup>. Es ist in Tagesdosen von 5  $\gamma$  ebenfalls wirksam.

<sup>21)</sup> R. Kuhn u. H. Brockmann, unveröffentlicht.

<sup>22)</sup> H. v. Euler, P. Karrer u. O. Walker, Helv. chim. Acta 15, 1507 [1932].

**$\beta$ -Carotin-Abbauprodukte mit A-Vitamin-Wirkung.**

Name	Formel	Aussehen	F. P. ° C	Lage der Ab- sorptions- bandenl. m $\mu$ in Benzin
$\beta$ -Oxycarotin . . . . .	—	Rotgelbe Nadeln	184	478 448
$\beta$ -Semi-carotinon . . . . .	$C_{40}H_{56}O_2$	Carmoisin- rote Blättchen	119	501 470
$\beta$ -Semi-carotinon- monoxim . . . . .	$C_{40}H_{57}O_3N$	Carmoisin- rote Blättchen	135	501 470
$\beta$ -Dehydro-semi- carotinon . . . . .	$C_{40}H_{54}O$	Schwarze glänzende Blättchen	176	512 480
$\beta$ -Carotinoxid . . . . .	$C_{40}H_{56}O$	Gelblichrote Nadelchen	161	453 423

Es sind also vier natürlich vorkommende Carotinoide und fünf Abbauprodukte mit A-Vitamin-Wirkung bekannt, eine bemerkenswerte Tatsache in Anbetracht der strengen Konstitutionsspezifität der anderen Vitamine. Hervorgehoben werden muß, daß das Auftreten von A-Vitamin in der Leber nach Verfütterung größerer Mengen der genannten Stoffe keineswegs beweist, daß diese Umwandlung auch bei den kleinen therapeutisch wirksamen Dosen stattfindet, so daß es nicht gerechtfertigt ist, sie ohne weiteres als „Vorstufen“ des A-Vitamins zu bezeichnen. Es entspricht unserem augenblicklichen Wissen besser, die Bezeichnung Provitamin nicht im Sinne einer solchen „Vorstufe“ zu gebrauchen, sondern sie, gemäß der eigentlichen Bedeutung der Silbe pro, für Stoffe zu verwenden, die, an Stelle des A-Vitamins verwendet, die gleiche biologische Wirkung zeigen wie dieses.

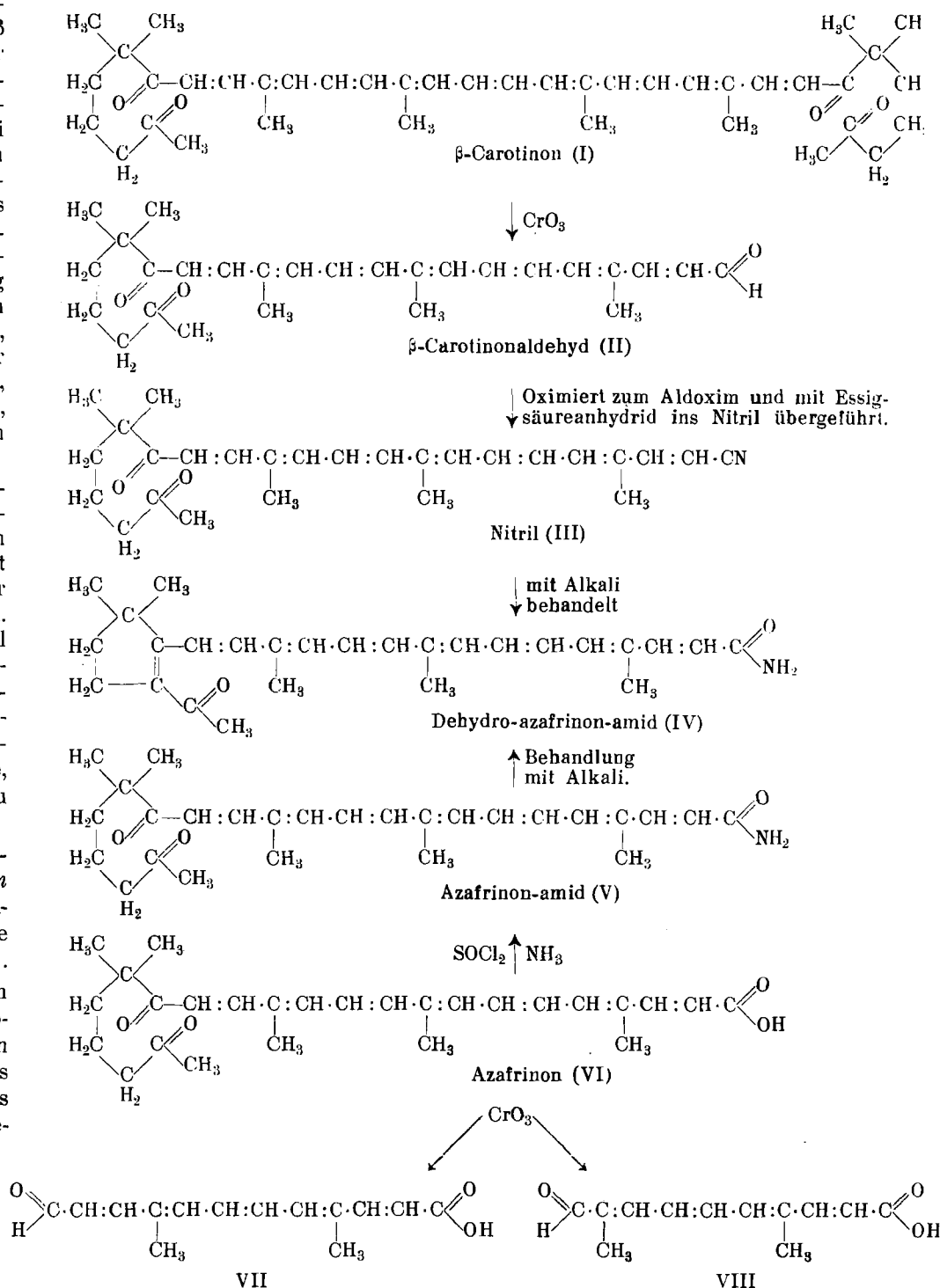
Die große Bedeutung, die dem  $\beta$ -Carotin als Provitamin und als Stammsubstanz einer Reihe von Abbauprodukten mit A-Vitamin-Wirkung zukommt, läßt eine möglichst genaue Kenntnis seiner Konstitution als sehr wichtig erscheinen. Die von *P. Karrer* aufgestellte Formel wird gestützt durch den oxydativen Abbau der beiden  $\beta$ -Jonon-Ringe zu Geronensäure, Dimethyl-glutarsäure und Dimethyl-bernsteinsäure und der seitenständigen Methylgruppen zu Essigsäure, ferner durch den thermischen Abbau von *Kuhn* und *Winterstein*<sup>23)</sup>.

Eine endgültige Sicherung der Formel ist erst in jüngster Zeit durch *Kuhn* und *Brockmann* erfolgt, die die Konstitution des  $\beta$ -Carotins auf die bekannte des Azafrins<sup>24)</sup> zurückführen konnten<sup>25)</sup>.

Die rechts angeführten Formeln geben den Weg an, auf dem beide Carotinoide miteinander verknüpft worden sind.  $\beta$ -Carotin läßt sich über das  $\beta$ -Semicarotinon (s. S. 524) und das  $\beta$ -Carotinon (I) in den  $\beta$ -Carotinonalde-

hyd (II) überführen. Aus diesem wird durch geeignete Behandlung mit  $NH_2OH$  ein Mono-aldoxim gewonnen, das sich durch Essigsäureanhydrid in das entsprechende Nitril (III) verwandeln läßt. Behandelt man dieses Nitril mit wäßrig-alkoholischem Alkali, so lagert sich  $H_2O$  an die  $C\equiv N$ -Gruppe und außerdem reagiert die eine  $C=O$ -Gruppe mit dem  $\alpha$ -ständigen Wasserstoff der anderen unter Wasseraustritt und Bildung eines Fünfringes, es entsteht ein Körper, der identisch ist mit Dehydro-Azafrinon-amid, das in folgender Weise aus Azafrin erhalten wird.

Azafrin wird durch Oxydation mit verd. Chromsäure nach der Methode von *Kuhn* und *Brockmann* in Azafrinon (VI) übergeführt<sup>24)</sup>. Dieses läßt sich mit Thionylchlorid in das Chlorid verwandeln, das durch Behandlung mit Ammoniak in Azafrinon-amid (V) übergeht. Aus Azafrinon-amid entsteht bei Einwirkung von Alkali unter Wasserabspaltung Dehydro-azafrinon-amid (IV).

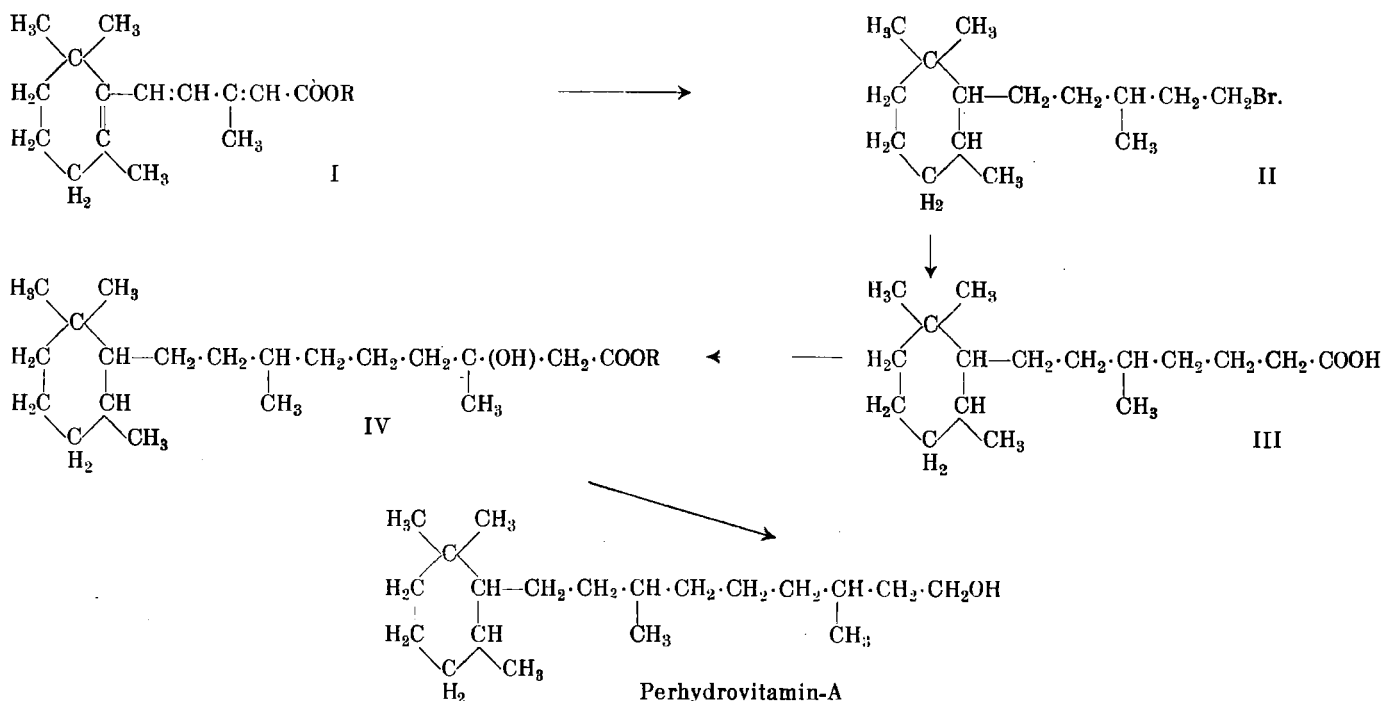


<sup>23)</sup> Ber. Dtsch. chem. Ges. 65, 1873 [1932]. Vgl. Beitrag Carotinoide von *A. Winterstein*, diese Ztschr. 47, 315 [1934].

<sup>24)</sup> *R. Kuhn* u. *A. Deutsch*, Ber. Dtsch. chem. Ges. 66, 883 [1933].

<sup>25)</sup> Ebenda 67, 885 [1934].





tinmengen enthalten die grünen Kohl- und Salatarten und der Spinat. Nach *Kuhn* und *Grundmann*<sup>35)</sup> findet sich im gelben Mais in größerer Menge Kryptoxanthin, das bei Völkern, die vorwiegend von Mais leben, die Stelle des Carotins und des tierischen A-Vitamins vertritt. Reich an Carotin ist das rote Palmöl<sup>36)</sup>.

Bei Tieren: Die A-Vitamin-Wirksamkeit tierischer Organe wird, wie schon erwähnt, in der Hauptsache durch das eigentliche wenig gefärbte A-Vitamin bedingt, wobei auch hier wie bei den Provitaminen mit der Existenz mehrerer Isomeren zu rechnen ist. Bisweilen kommen daneben geringe Carotinmengen vor. Das A-Vitamin der Pflanzenfresser stammt wohl zum größten Teil aus dem Carotin der Nahrung. Ob daneben eine Synthese von Vitamin im tierischen Organismus stattfindet, ist nicht mit Sicherheit nachgewiesen. Die Fähigkeit, Carotin in Vitamin  $C_{20}H_{30}O$  umzuwandeln, ist bei den einzelnen Tierarten verschieden ausgeprägt, nach *B. Ahmad* und *K. Malik*<sup>37)</sup> am stärksten bei der Ratte, weniger beim Huhn<sup>38)</sup>, Meerschweinchen<sup>39)</sup>, Kaninchen<sup>40)</sup>, Schwein<sup>41)</sup>, und bei der Kuh<sup>42)</sup>. Keine Umwandlung wurde bei der Katze beobachtet. Ob bei Fleischfressern allgemein die Fähigkeit fehlt, Carotin in A-Vitamin umzuwandeln, bedarf weiterer Untersuchungen. Es wäre möglich, da sie in ihrer Nahrung genügend A-Vitamin aufnehmen und daher auf eine Umwandlung von Carotin nicht angewiesen sind.

Den größten A-Vitamin-Gehalt weist unter allen Organen die Leber auf. Besonders reich sind die Lebern gewisser Fischarten (*Hippoglossus hippoglossus*, *Sombresox saurus*). Eine vergleichende Untersuchung über den Vitamingehalt von Lebern der verschiedensten Tiere haben *P. Karrer*, *H. v. Euler* und *K. Schöpp* ausgeführt<sup>43)</sup>. In allen anderen Organen ist der A-Vitamin-Gehalt nur

gering, er kann unter Umständen nach *T. Moore*<sup>44)</sup>, dem man eingehende Versuche über die Verteilung von A-Vitamin im tierischen Organismus verdankt, höhere Werte annehmen in der Lunge und in den Nebennieren.

Die Milch und damit die Butter verdankt ihre A-Vitamin-Wirkung in der Hauptsache dem farblosen A-Vitamin<sup>45)</sup>. Daneben enthält sie Carotin, durch das im wesentlichen ihre gelbe Farbe bedingt wird. Der Vitamingehalt ist abhängig von dem der Nahrung<sup>46)</sup> und daher im Winter geringer als im Sommer (Grünfutter). Die Abhängigkeit des Vitamingehaltes der Milch von dem der Nahrung<sup>46)</sup> verdient Beachtung für die Säuglingsernährung, bei der für eine reichliche A-Vitamin-Zufuhr bei der stillenden Frau Sorge getragen werden sollte. Im Hühnereigelb findet sich A-Vitamin neben wenig Carotin<sup>47)</sup>. Auch bei Zufuhr größerer Carotinmengen steigt nach *H. Brockmann* und *O. Völker*<sup>48)</sup> der A-Gehalt im Dotter nicht über ein gewisses Maß, offenbar eine ökonomische Maßnahme, um der Verschwendung des wertvollen Stoffes vorzubeugen.

Der A-Vitamin-Gehalt des Lebertrans kann durch Lichteinwirkung und beigemengte autoxydable Stoffe stark vermindert werden<sup>49)</sup>. In neuester Zeit verwendet man Carotin oder hochkonzentrierte A-Vitamin-Präparate in reinen Öllösungen an Stelle des Dorschlebertranes zu therapeutischen Zwecken (Kombinationspräparat A+D *Detavit*, *Merck*). Emulgierung in Malzextrakten soll die Resorptionsfähigkeit erhöhen<sup>50)</sup>.

#### Nachweis und quantitative Bestimmung.

Physikalische Methoden: A-Vitamin zeigt in Chloroformlösung eine charakteristische Absorptionsbande im Ultraviolett bei 328 m $\mu$ , wie zuerst *I. M. Heil-*

<sup>43)</sup> Biochemical Journ. 25, 275 [1931].

<sup>44)</sup> R. A. Morton u. I. M. Heilbron, ebenda 24, 860 [1930].  
*T. Moore*, ebenda 26, 1 [1932].

<sup>45)</sup> S. V. Gudjonsson, Dissertation, Kopenhagen.

<sup>46)</sup> W. J. Dann, Biochemical Journ. 26, 1072 [1932].

<sup>47)</sup> H. v. Euler u. E. Klupmann, Biochem. Ztschr. 219, 215 [1933].

<sup>48)</sup> Ztschr. physiol. Chem. 224, 193 [1934].

<sup>49)</sup> J. C. Drummond u. T. P. Hilditch, Empire Marketing Bd. Rep. 35.

<sup>50)</sup> E. R. Janes, H. F. Grover u. E. J. Quinn, Proceed. Soc. exp. Biol. and Med. 30, 516 [1933].

<sup>35)</sup> Ber. Dtsch. chem. Ges. 67, 593 [1934].

<sup>36)</sup> R. Kuhn u. H. Brockmann, Ztschr. physiol. Chem. 200, 255 [1931].

<sup>37)</sup> Indian Journ. med. Res. 20, 1033 [1933].

<sup>38)</sup> N. St. Capper, I. M. W. McKibbin u. J. H. Prentice, Biochemical Journ. 25, 265 [1931].

<sup>39)</sup> H. Brockmann u. M. L. Tecklenburg, Ztschr. physiol. Chem. 221, 117 [1933].

<sup>40)</sup> T. Moore, Biochemical Journ. 25, 2131 [1931].

<sup>41)</sup> T. Moore, ebenda 26, 1 [1932].

<sup>42)</sup> Helv. chim. Acta 15, 493 [1932].

bron und Mitarbeiter erkannten<sup>51)</sup>. Die spektroskopische Bestimmung des Absorptionskoeffizienten kann zur quantitativen Bestimmung des A-Gehaltes in Lebertranen und in Konzentraten dienen. Literaturangaben und genaue Beschreibung der Methoden geben *A. Chevalier* und *P. Chabre*<sup>52)</sup>. Bei Untersuchung von Lebertranen können freie Säuren und gewisse Farbstoffe zu Störungen Veranlassung geben.

**Chemische Methoden:** Als geeignetste Farb-reaktion zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung von A-Vitamin hat sich die Blaufärbung erwiesen, die entsteht, wenn zu einer Lösung eines A-Vitamin-haltigen Stoffes in Chloroform eine gesättigte Lösung von Antimontrichlorid in Chloroform gesetzt wird. Nach *F. H. Carr* und *E. A. Price*<sup>53)</sup> wird diese Reaktion folgendermaßen zur quantitativen Bestimmung gebraucht: Zu 0,2 cm<sup>3</sup> einer 20%igen Lösung der zu untersuchenden Substanz in Chloroform werden 2 cm<sup>3</sup> einer gesättigten Lösung von Antimontrichlorid in Chloroform gesetzt. Die dabei auftretende rasch verblassende Blaufärbung wird möglichst schnell in einem Lovibond-Tintometer gemessen und in „Lovibond-Einheiten“ oder „Blauen Einheiten“ angegeben. Allgemeiner angewandt und für den internationalen Gebrauch empfohlen ist die Angabe in CLO- (cod liver oil-) Einheiten, die man erhält, wenn man bei der Carr-Price-Reaktion statt der 20%igen Lösung der zu untersuchenden Substanz eine 2%ige verwendet. Zur Umrechnung in CLO-Einheiten müssen die Carr-Price-Einheiten also durch 10 dividiert werden. Zur Berechnung der CLO-Einheiten dient folgende Formel<sup>54)</sup>:

$$\text{CLO} = \frac{20 \times \text{abgelesener Blauwert in Lovibond}}{\text{mg Substanz} / \text{cm}^3 \text{ Reaktionslösung}}$$

An Stelle des teuren Lovibond-Tintometers verwenden *Brockmann* und *Tecklenburg*<sup>55)</sup> einen Satz von Kupfersulfatlösungen verschiedener Konzentration, die nach Lovibond-Einheiten geeicht sind.

Zahlreiche Arbeiten ergeben, daß diese colorimetrische Methode Werte gibt, die mit den Ergebnissen der Tierversuche übereinstimmen. Bei Lebertranen können durch gewisse Beimengungen Störungen der Reaktion auftreten. Zweckmäßig ist es daher, die Bestimmung erst nach der Verseifung im unverseifbaren Anteil vorzunehmen<sup>56)</sup>. Die Blaufärbung mit Antimontrichlorid ist für A-Vitamin nicht charakteristisch, sondern wird auch von vielen Carotinoiden gegeben<sup>57)</sup>, doch erlaubt die verschiedene Lage der Absorptionsbanden dieser blauen Lösungen eine Differenzierung. So ergibt  $\beta$ -Carotin bei der Reaktion eine blaue Lösung mit einer Bande bei 590 m $\mu$ , während die Absorptionsbande von guten A-Vitamin-Präparaten bei 620 m $\mu$  liegt. Dieselbe Bande zeigen Leberöle von Ratten, die mit größeren Mengen  $\beta$ -Carotin gefüttert worden sind. Nach Fütterung von  $\alpha$ -Carotin beobachteten *Brockmann* und *Tecklenburg*<sup>58)</sup> neben der Bande bei 620 m $\mu$  in den Leberölen noch eine Bande bei 540 m $\mu$ , ein Hinweis, daß vielleicht aus den isomeren Provitaminen  $\alpha$ -Carotin und  $\beta$ -Carotin auch isomere A $_{\alpha}$ - und A $_{\beta}$ -Vitamine entstehen

können. Bei Fischleberölen kann durch Beimengungen die Absorptionsbande von 620 m $\mu$  nach 608 m $\mu$  verschoben sein<sup>59)</sup>. Bisweilen zeigen die blauen Reaktionslösungen von A-Vitamin-Präparaten eine Absorptionsbande bei 573 m $\mu$ , die von *Heilbron* und Mitarbeitern<sup>60)</sup> als charakteristisch für das Vitamin angesehen worden ist. Da nach *M. van Eekelen* und Mitarbeitern<sup>61)</sup> manche Stoffe eine Verschiebung der Absorptionsbande von 620 m $\mu$  nach 573 m $\mu$  bewirken können, liegt es nahe, bei den von *Heilbron* untersuchten Präparaten ähnliche Stoffe für die abnorme Lage der Absorptionsbande verantwortlich zu machen<sup>55)</sup>. Eine Verbesserung der Antimontrichloridreaktion soll durch Zusatz von Brenzcatechin zu erzielen sein<sup>62)</sup>. Carotin neben A-Vitamin kann entweder dadurch bestimmt werden, daß man zunächst den Carotingehalt colorimetrisch ermittelt<sup>63)</sup> und den daraus errechneten Blauwert vom Gesamtblauwert abzieht, um den des A-Vitamins zu erhalten, oder aber dadurch, daß man nach *Karrer* und *Schöpp* beide chromatographisch trennt<sup>64)</sup>.

**Biologische Methoden:** Der biologische Test wird an jungen wachsenden Ratten entweder nach der prophylaktischen Methode vorgenommen, bei der Tiere, die von Jugend an gewisse Mengen des zu prüfenden Präparates erhalten, mit normal ernährten Kontrolltieren verglichen werden, oder nach der kurativen Methode, bei der ein durch A-Mangel bewirkter Gewichtsstillstand oder Abfall durch eine möglichst kleine Menge Testsubstanz behoben und eventuell eingetretene Xerophthalmie geheilt werden muß. Die letzte Methode ist die allgemein übliche. Wichtig ist ein gleichmäßiges Tiermaterial und geeignete Diät. Ausgedehnte Untersuchungen über den A-Vitamin-Test mit Ratten verdankt man *S. V. Gudjonsson*<sup>65)</sup>. Über Fehlerquellen durch schlechte Diät und ungeeignetes Tiermaterial sowie über technische Einzelheiten des Tierversuches berichten *Coward* und Mitarbeiter<sup>66)</sup>, *A. L. Bacharach*<sup>67)</sup> sowie *Scheunert* und *Schieblich*<sup>68)</sup>.

Als geeignet für einen A-Vitamin-Test erweist sich nach *A. Hohlweg* und *B. Dohrn*<sup>69)</sup> auch die mikroskopisch gut erkennbare Verhornung der Vaginalschleimhaut bei A-frei ernährten weiblichen Ratten, die schon vor dem Gewichtsstillstand auftritt, also ein sehr empfindliches Zeichen für mangelnde A-Zufuhr ist. Die Brauchbarkeit dieser Methode ist von *Kuhn* und *Brockmann*<sup>70)</sup> sowie von *Th. Moll*, *G. Domagk* und *F. Laquer*<sup>71)</sup> bestätigt worden.

Sehr schwankend sind die Literaturangaben über die kleinste noch wirksame Tagesdosis der besten A-Vitamin-Präparate, deren Vitamingehalt über 90% betragen dürfte. Sie liegen zwischen 0,1 und 1  $\gamma$ . Der Grund dafür liegt darin, daß die meisten Autoren nicht genau genug definieren, was sie unter kleinster noch wirksamer Menge verstehen, und daß vor allem nicht genügend Tiere ver-

<sup>59)</sup> *I. M. Heilbron*, *A. E. Gillam* u. *R. A. Morton*, *Biochemical Journ.* **25**, 1352 [1931].

<sup>60)</sup> *M. van Eekelen*, *A. Emmerie*, *H. W. Julius* u. *K. L. Wolff*, *Acta brevia Neerlandica* **I**, 8 [1931].

<sup>61)</sup> *E. Rosenthal* u. *J. Erdélyi*, *Biochemical Journ.* **28**, 41 [1934].

<sup>62)</sup> *R. Kuhn* u. *H. Brockmann*, *Ztschr. physiol. Chem.* **206**, 41 [1932].

<sup>63)</sup> *Helv. chim. Acta* **15**, 745 [1932].

<sup>64)</sup> Diss. Kopenhagen (Statens Vitamininstitut).

<sup>65)</sup> *K. H. Coward*, *K. M. Key* u. *B. G. Morgan*, *Biochemical Journ.* **27**, 973 [1933].

<sup>66)</sup> Ebenda **27**, 5, 17 [1933].

<sup>67)</sup> *Biochem. Ztschr.* **263**, 444 [1933].

<sup>68)</sup> *Ztschr. ges. exp. Med.* **71**, 762 [1930].

<sup>69)</sup> *Klin. Wchschr.* **12**, 972 [1933].

<sup>70)</sup> Ebenda **12**, 465 [1933].

<sup>51)</sup> *Biochemical Journ.* **22**, 987 [1928].

<sup>52)</sup> Ebenda **27**, 298 [1933]. <sup>53)</sup> Ebenda **20**, 497 [1926].

<sup>54)</sup> *Pharmacopoeia Commission Reports*, Report of Cod-liver oil test sub-committee London, März 1931.

<sup>55)</sup> *Ztschr. physiol. Chem.* **221**, 117 [1933].

<sup>56)</sup> *E. R. Norris* u. *A. E. Church*, *Journ. biol. Chemistry* **85**, 477; **87**, 139; **89**, 421 [1930]. *E. L. Smith* u. *V. Hazley*, *Biochemical Journ.* **24**, 1942 [1930]. *K. H. Coward*, *F. J. Dyer*, *R. A. Morton* u. *J. H. Gaddum*, ebenda **25**, 1102 [1931]. *R. S. Morgan*, ebenda **26**, 1144 [1932].

<sup>57)</sup> *H. v. Euler*, *P. Karrer*, *E. Klußmann* u. *R. Morf*, *Helv. chim. Acta* **15**, 502 [1932].

<sup>58)</sup> *Ztschr. physiol. Chem.* **221**, 117 [1933].



wendet worden sind. Bedenkt man, daß die Versuchstiere verschiedene Widerstandsfähigkeit besitzen und infolgedessen schwer auf einen gleichen gut definierten Krankheitszustand zu bringen sind, so wird klar, daß die kleinsten Dosen schwankend sein müssen. Diese Streuung der Ergebnisse läßt sich nur durch Verwendung einer größeren Zahl Versuchstiere ausschalten.

Vergleicht man die kleinste Tagesdosis von  $\beta$ -Carotin, die 2–2,5  $\gamma$  beträgt, mit derjenigen der besten Vitaminpräparate, die zu 0,3–0,5  $\gamma$  angegeben wird, so muß man daraus den Schluß ziehen, daß die Umwandlung des  $\beta$ -Carotins in A-Vitamin mit einer Ausbeute von etwa 20% verläuft, denn theoretisch sollten etwa 0,5  $\gamma$   $\beta$ -Carotin genügen, um 0,5  $\gamma$  A-Vitamin zu liefern. Ganz neuerdings hat dagegen T. Moore<sup>71)</sup> durch einen genauen Vergleich der kleinsten Dosen festgestellt, daß  $\beta$ -Carotin und A-Vitamin in Tagesdosen von 1 bis 3  $\gamma$  gleiche Wirksamkeit entfalten, was für eine nahezu quantitative Ausbeute bei der Umwandlung spricht.

Als internationale Einheit zur Messung von A-Vitamin-Präparaten ist die Vitaminwirksamkeit von 0,001 mg Standardcarotin (nach besonderen Vorschriften gereinigt) festgesetzt. 1 g Carotin besitzt demnach eine Wirksamkeit von 1 000 000 internationalen Einheiten. Da das gewöhnliche Carotin stets nur halb so wirksames  $\alpha$ -Carotin enthält, sollte man reines  $\beta$ -Carotin als Standardcarotin verwenden.

Nach Kuhn und Brockmann<sup>72)</sup> genügt die kleinste Menge  $\beta$ -Carotin, die noch gutes Wachstum und Heilung der Xerophthalmie hervorruft, nicht, um den durch A-Mangel gestörten Genitalzyklus wieder normal werden zu lassen; dazu ist die 5–10fache Menge nötig. Sie unterscheiden daher zwischen „minimaler“ und „optimaler“ Dosis. Es ist also der Fall möglich, daß bei dauernder Zufuhr der „Minimaldosis“ gewisse Schädigungen infolge Unterdosierung auftreten können, ohne daß Gewichtsstill-

stand oder Xerophthalmie auftreten. Die Möglichkeit solcher „latenten Avitaminosen“ verdient, von der Medizin beachtet zu werden.

### Physiologisches<sup>73)</sup>.

Von den vielen Tatsachen über die Physiologie der A-Avitaminose sollen hier nur die wichtigsten kurz aufgezählt werden. Zusammenfassend läßt sich über alle sagen, daß sie eine Aufklärung über den Mechanismus der A-Vitamin-Wirkung nicht gebracht haben.

Mangelnde Zufuhr von A-Vitamin gibt sich dadurch zu erkennen, daß eine degenerative Veränderung aller Schleimhäute eintritt<sup>74)</sup>; das epitheliale Gewebe beginnt teils zu wuchern, teils zu verhornen. Zuerst treten solche Erscheinungen im empfindlichen Genitalsystem auf (Vaginalschleimbaut, Hoden), später am Auge und im Verdauungstraktus. Damit verbunden ist eine allgemeine Resistenzverminderung gegen Infektionen, die dazu geführt hat, das A-Vitamin auch als „Antiinfektionsvitamin“<sup>75)</sup> zu bezeichnen. Ferner bewirkt A-Mangel Störungen im Zahnwachstum, auffallend starke Steinbildung im Urogenitalsystem, Nervenstörungen und Sehstörungen (Nachtblindheit). Starke Überdosierung führt bei der Ratte unter Gewichtsverlust und Haarausfall an der Schnauze zum Tod. Infolge seiner geringen Löslichkeit in Öl läßt sich Carotin nicht überdosieren.

Im Gegensatz zu den anderen Vitaminen, deren Fehlen zu einem ganz typischen, scharf umrissenen Krankheitsbild führt, zeigen sich bei A-Vitamin-Mangel viel allgemeinere Schäden, die darauf hindeuten, daß das A-Vitamin an einer zentralen Stelle angreift. Die Therapie dürfte durch diese Tatsachen gewisse Anregungen erfahren.

[A. 66.]

<sup>73)</sup> Zusammenfassende Darstellung in „Vitamins“ a survey of present knowledge, Medical Research Council, London 1932, und bei H. v. Euler in Ergebn. d. Physiol. 34, 360 [1932].

<sup>74)</sup> Über die Epithelschutzfunktion vgl. auch W. v. Drigalski, Klin. Wchschr. 13, 226 [1934].

<sup>75)</sup> H. v. Euler in Ergebn. d. Physiologie 34, 402 [1932].

## Untersuchungen über Oxydationsvorgänge an festen Brennstoffen\*).

Von Dr. KURT PETERS und Dr. WERNER CREMER.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Kohlenforschung, Mülheim-Ruhr.)

(Eingeg. 1. Juni 1934.)

Vorgetragen von K. Peters in der Fachgruppe für Brennstoff- und Mineralölchemie auf der 47. Hauptversammlung des V. d. Ch. zu Köln am 24. Mai 1934.

### Einleitung.

In einer Arbeit über die Bildung kristallisierter Oxydationsprodukte beim Erhitzen von Brennstoffen im Luftstrom sind von Franz Fischer, Peters und Cremer (1) einige Beobachtungen mitgeteilt worden, die Anlaß zu den folgenden Untersuchungen gaben.

Wenn feste Brennstoffe im Luftstrom langsam ansteigend erwärmt werden, so daß die Temperatur, bei der normalerweise Selbstentzündung eintritt, erst nach einigen Tagen erreicht wird, so findet bei dieser Temperatur keine Selbstentzündung mehr statt; sie tritt erst bei wesentlich höheren Temperaturen ein. Bei einer solchen Oxydation beobachtet man bei festen Brennstoffen mit Ausnahme der hochvorerhitzten Koks das Auftreten farbloser kristallisierter Oxydationsprodukte, die sich an kalten Teilen der Reaktionsrohre abscheiden und Benzolcarbonsäuren enthalten. Gleichzeitig werden die Brennstoffe infolge Sauerstoffaufnahme alkalilöslich, und ihre Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln wird grundlegend geändert.

\* Vorgetragen in einer Vortragssitzung des Kaiser Wilhelm-Instituts für Kohlenforschung in Mülheim-Ruhr am 3. Mai 1934.

### Besprechung der Oxydationsvorgänge auf Grund der Versuchsergebnisse.

Aus der Fülle des Schrifttums über die Oxydation von Kohlen wird im folgenden nur auf wenige Arbeiten hingewiesen, die in unmittelbarem Zusammenhang mit den weiter unten beschriebenen Versuchsergebnissen stehen.

Der primäre Vorgang der Oxydation von Kohlen bzw. „Kohlenarten“, die aus Zucker, Holz, Graphit usw. hergestellt sind, beruht nach Schilow (2) auf der Bildung von sauren sog. Oberflächenoxyden. Bruns, Maximowa und Pos (3) bestätigen diese Ansicht bei der Oxydation ähnlicher „Kohlen“ bei 250°, finden aber, daß die Menge dieser Oberflächenoxyde mit steigender Herstellungstemperatur und Aktivierung abnimmt, und daß diese oxydierten Kohlen eine ausgeprägte Ionen-Adsorption sowohl für Anionen als auch für Kationen zeigen (4). Lamb und Elder (5) finden, daß beim Schütteln von Aktivkohlen mit Wasser in Luft an der Kohle Peroxyde gebildet werden, und zwar in einer Menge, die je Gramm Kohle 0,0001 Äquivalent aktivem Sauerstoff entspricht. Darüber hinaus fand King (6), daß beim Schütteln von Zuckerkohle mit Wasser und Sauerstoff je Gramm Kohle etwa