

Das Vitamin C<sup>1)</sup>.

Von Priv.-Doz. Dr. F. MICHEEL.

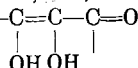
(Eingeg. 3. April 1934.)

Allgemeines chemisches Universitätslaboratorium Göttingen.

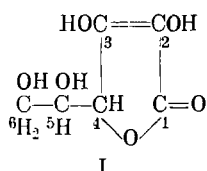
Die chemische Untersuchung des antiskorbutischen Vitamins (Vitamin C, Ascorbinsäure) kann heute, etwa zwei Jahre nach seiner Entdeckung und Identifizierung, im wesentlichen als abgeschlossen gelten, soweit es sich um seinen Abbau und seine Synthese handelt<sup>2)</sup>. Im Anfang des Jahres 1932 wurde durch Untersuchungen von *Szent-Györgyi*<sup>3)</sup>, *Tillmans*<sup>4)</sup> und *King*<sup>5)</sup> fast gleichzeitig der Nachweis erbracht, daß eine schon im Jahre 1928 von *Szent-Györgyi*<sup>6)</sup> aus den Nebennieren von Ochsen, aus Kohl und Apfelsinen dargestellte Substanz  $C_6H_8O_6$  identisch mit dem Vitamin C ist. 1–2 mg des reinen Vitamins genügen, um ein Meerschweinchen bei sonst Vitamin-C-freier Ernährung vor Skorbut zu schützen. Diese Dosis ist etwa 1000mal so groß wie die einiger anderer bekannter Vitamine (A und D bei der Ratte, B<sub>1</sub> bei der Taube). Aber das Vitamin C findet sich in der Pflanzenwelt in so beträchtlichen Mengen (Apfelsine, Zitrone, Paprika, Kohl, Kartoffeln, Rüben, Blätter von Iris und viele andere Pflanzen), daß bei normaler Ernährung die Versorgung von Mensch und Tier gesichert ist, daß ferner seine technische Darstellung in großem Maßstabe aus Pflanzenmaterial möglich ist. Im tierischen Organismus ist das Vitamin besonders in der Nebennierenrinde und Leber, aber auch an vielen anderen Stellen zu treffen.

Bemerkenswert ist, daß manche Tierarten (Hunde, Ratten) das Vitamin selbst zu synthetisieren vermögen, das also für sie einen hormonartigen Charakter besitzt. Es findet sich bei ihnen auch bei vitamin-C-freier Ernährung, z. B. in den Nebennieren.

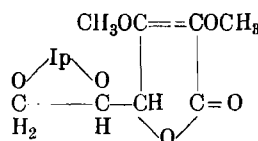
Die erste Isolierung des damals noch nicht als Vitamin C erkannten Stoffes  $C_6H_8O_6$ <sup>7)</sup> gelang auf Grund seines starken Reduktionsvermögens gegenüber Jod und Silbernitrat in saurer Lösung. Dies Verhalten, das, wie sich später zeigte, der Atomgruppierung



eigentlich ist<sup>8)</sup>, bildete ähnlich dem Indophenol-reagens ein wertvolles Mittel, seine Gegenwart und Konzentration festzustellen. Zur Konstitutionsaufklärung haben neben einer Reihe von anderen im wesentlichen die Arbeiten von *Haworth*, *Hirst* und Mitarbeitern<sup>9)</sup> und *Micheel* und Mitarbeitern<sup>10)</sup> geführt. Danach kommt dem Vitamin C die Formel I zu.



I



II

<sup>1)</sup> Auf Wunsch der Schriftleitung wird die Literatur nur in Auswahl zitiert.

<sup>2)</sup> Über seine physiologische Bedeutung siehe die Einleitung des Vortrages auf der Hauptversammlung des Vereins deutscher Chemiker, Würzburg 1933, diese Ztschr. 46, 534 [1933].

<sup>3)</sup> Nature 130, 576 [1932].

<sup>4)</sup> Biochem. Ztschr. 250, 312 [1932]. Zur Bestimmung des Vitamingehalts auf chemischem Wege wurde von *Tillmans* erfolgreich das Dichlor-phenol-indophenol verwandt.

<sup>5)</sup> Science 75, 357 [1932].

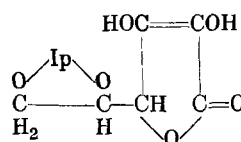
<sup>6)</sup> Biochemical Journ. 22, 1387 [1928].

<sup>7)</sup> *Szent-Györgyi*, l. c.

<sup>8)</sup> v. *Euler* u. *Martius*, Ztschr. physiol. Chem. 217, 167 [1933].

<sup>9)</sup> Journ. chem. Soc. London 1933, 1270 u. frühere.

<sup>10)</sup> Ztschr. physiol. Chem. 218, 280 [1933]; 222, 235 [1933] u. frühere.



III

Ip =  $\text{C}(\text{CH}_3)_2$   
(Iso-propyliden)

Charakteristisch ist das Vorliegen zweier enolischer Hydroxylgruppen an der gleichen Doppelbindung, die selbst konjugiert zu einer Lactongruppe liegt. Dieser Lactonring ist außerordentlich stabil gegen Alkali; hingegen ist eins der enolischen Hydroxyle mit Lauge (Phenolphthalein) titrierbar. Beide enolischen Hydroxyle sind leicht durch Diazomethan methylierbar. Dies Dimethylvitamin (Schmp. 63°<sup>11)</sup>) besitzt nicht mehr das Reduktionsvermögen des Vitamins und ist antiskorbutisch unwirksam. Es läßt sich jedoch ebenso wie das Vitamin<sup>12)</sup> mit Aceton zu einer Isopropylidenverbindung II<sup>13)</sup> (Schmp. 101°) kondensieren. Die Acetonverbindung des Vitamins selbst (Schmp. 220°) zeigt noch das charakteristische Reduktionsvermögen, ist aber im Tierversuch ebenfalls unwirksam<sup>14)</sup>. Da das aus ihr durch Abspaltung des Acetonrestes regenerierte Vitamin seine volle physiologische Wirksamkeit besitzt, war damit der Beweis erbracht, daß nicht etwa eine Verunreinigung für die Vitaminwirkung der Ascorbinsäure verantwortlich war. Die Synthese der Ascorbinsäure hat dies später bestätigt. Durch die Bildung von Kondensationsprodukten mit Aceton ist für das Vitamin wie für das Dimethylvitamin das Vorhandensein zweier alkoholischer, räumlich nahe gelegener Hydroxyle bewiesen. Eins davon mußte, wie die Bildung eines Triphenylmethyl-äthers<sup>15)</sup> zeigte, der noch beide enolischen Hydroxyle enthielt<sup>16)</sup>, primär sein. Die entscheidende Aufklärung über die weitere Anordnung der Atome, insbesondere das Vorliegen eines stabilen Furanringes, einer Doppelbindung zwischen den C-Atomen 2 und 3 und einer nicht verzweigten Kette, brachte die Ozonspaltung des 2,3-Dimethyl-5,6-di-p-nitro-benzoyl-vitamins IV, dessen p-Nitro-benzoesäuregruppen an den gleichen Hydroxylgruppen sitzen wie der Acetonrest im Isopropyliden-dimethyl-vitamin<sup>17)</sup>.

Die Ozonspaltung führte zu einem Methyleneester der l-Threonsäure (Schmp. 162°) V, dessen Hydroxyle 3 und 4 mit Nitrobenzoesäure und 1 mit dem Methyl-oxalylrest verestert sind. Da eine Zerlegung des Moleküls in zwei Teile nicht erfolgt war, mußte die Doppelbindung in einem stabilen Ringe liegen. Durch Verseifung erhält man neben Methanol und p-Nitrobenzoesäure die beiden Spaltstücke des Vitaminmoleküls, Oxalsäure und l-Threonsäure (VI). Die Identifizierung der l-Threonsäure brachte den Nachweis, daß das Vitamin, trotz seiner nahen Verwandtschaft zu den Hexosen, der l-Reihe angehört, während jene, soweit sie sich in der Natur finden, fast ausschließlich die d-Konfiguration be-

<sup>11)</sup> *Karrer* u. Mitarb., Vierteljahrssch. naturforsch. Ges. Zürich 78, 9 [1933]. *Micheel* u. *Kraft*, Naturwiss. 21, 63 [1933]; Ztschr. physiol. Chem. 216, 234 [1933].

<sup>12)</sup> v. *Vargha*, Nature 130, 847 [1932].

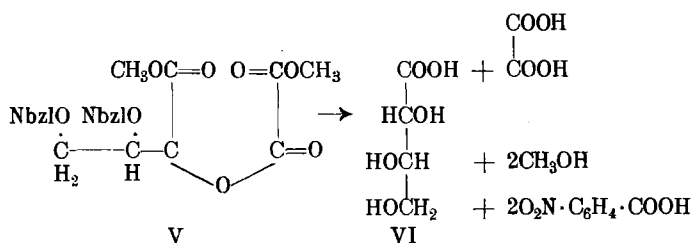
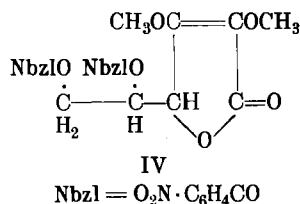
<sup>13)</sup> *Karrer* u. Mitarb., Biochem. Ztschr. 258, 4 [1933]. *Micheel* u. Mitarb., Ztschr. physiol. Chem. 216, 233 [1933].

<sup>14)</sup> *Micheel* u. *Moll*, Ztschr. physiol. Chem. 219, 253 [1933].

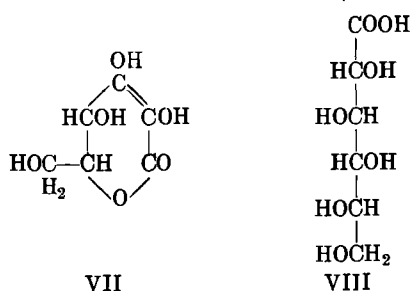
<sup>15)</sup> v. *Vargha*, Nature 131, 363 [1933].

<sup>16)</sup> *Karrer* u. Mitarb., Helv. chim. Acta 16, 302 [1933].

<sup>17)</sup> *Micheel* u. *Kraft*, Ztschr. physiol. Chem. 215, 215; 222, 235 [1933].



sitzen. Ferner mußten die C-Atome in gerader Kette verknüpft sein. Der Ozonabbau wurde später von *Haworth, Hirst* und Mitarbeitern<sup>18)</sup> am Tetramethylvitamin wiederholt und die Bildung von Oxalsäure und in diesem Falle Dimethyl-l-threonsäure bestätigt. Nachdem so die Funktionen der Sauerstoffatome und das Vorliegen einer di-enolischen Doppelbindung in einem Ringe bewiesen waren, mußte noch die Spannweite des Ringes ermittelt werden. Denn die beschriebenen Ergebnisse waren auch mit der Formulierung des Vitamins als Pyranderivat verträglich (VII). Auch zwischen diesen beiden Formeln (I und VII) konnte eine sichere Ent-



scheidung getroffen werden. Nach einem von *Crige*<sup>19)</sup> angegebenen Verfahren geben nur solche primären Hydroxyle bei der Oxydation Formaldehyd, die benachbart zu einem C-Atom mit freier Hydroxylgruppe stehen. Es konnte also Formaldehyd nur entstehen, wenn dem Vitamin Formel I zukäme. Wahrscheinlich infolge schneller sekundärer Veränderungen des leicht oxydablen Vitamins fand *Karrer*<sup>20)</sup> bei der Oxydation mit Bleitetraacetat keinen Formaldehyd. Verwendet man aber das schwer oxydable Dimethylvitamin, so erhält man 70% d. Th. an Formaldehyd<sup>21)</sup>. Die endgültige Entscheidung zugunsten der Formel I brachte die katalytische Hydrierung des Vitamins<sup>22)</sup>. Sie führte in guter Ausbeute zur l-Idonsäure (VIII)<sup>23)</sup>. Die Formel I für das Vitamin ist somit als völlig gesichert anzusehen. Noch nicht fest steht, ob das Vitamin als Enol mit wesentlichen Mengen seiner beiden zugehörigen Ketoformen IX und X im Gleichgewicht steht.

<sup>18)</sup> Journ. chem. Soc. London 1933, 1270.

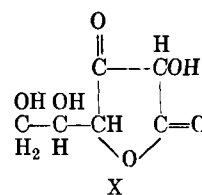
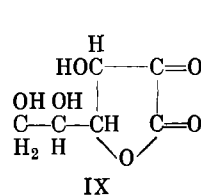
<sup>19)</sup> LIEBIGS Ann. 495, 218 [1932].

<sup>20)</sup> Helv. chim. Acta 16, 303 [1933].

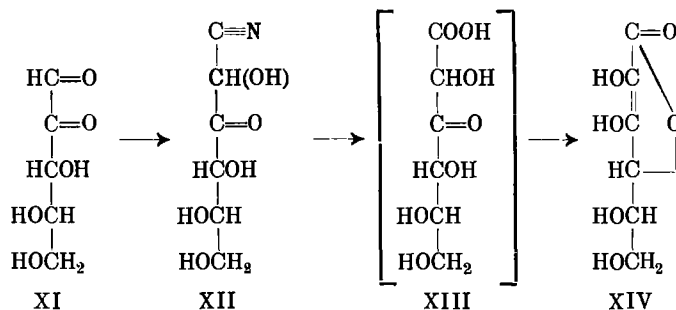
<sup>21)</sup> Micheel u. Mitarb., Ztschr. physiol. Chem. 222, 242 [1933].

<sup>22)</sup> Haworth u. Mitarb. (Journ. chem. Soc. London 1933, 1270) zogen aus dem Verhalten der durch Ozonabbau erhaltenen Dimethyl-l-threonsäure beim Abbau nach *Weermann* (Rec. Trav. chim. Pays-Bas 37, 16 [1917]) ebenfalls den Schluß, daß Formel I die richtige ist. Über die Unsicherheit dieser Schlußweise vgl. jedoch *Micheel* u. *Kraft*, l. c. (Ann. 3) u. Ber. Dtsch. chem. Ges. 67, 841 [1934].

<sup>23)</sup> Micheel u. Mitarb., Ztschr. physiol. Chem. 222, 242 [1933].

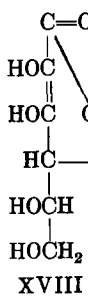
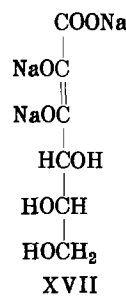
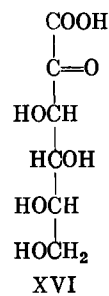
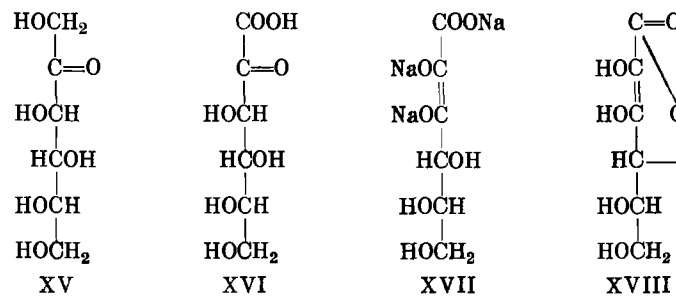


Auch die Synthese des Vitamins ist nach einer Reihe von Methoden erfolgreich durchgeführt worden. Alle Synthesen müssen bei Verwendung natürlicher Zucker zuerst diese aus der d-Form in die l-Form umwandeln<sup>24)</sup>. Die erste Synthese wurde etwa gleichzeitig von *Reichstein*<sup>25)</sup> und von *Haworth*<sup>26)</sup> ausgeführt. Sie geht aus von l-Xylosen (XI), das durch Cyanhydrin-synthese in das Nitril einer  $\beta$ -Keto-hexonsäure übergeht (XII).



Die durch Verseifung intermediär gebildete  $\beta$ -Ketosäure (XIII) bildet unter Lactonringschluß das Vitamin (XIV). Da jedoch das l-Xylosen nur über eine ganze Reihe von Zwischenstufen aus d-Galaktose zugänglich ist, so ist diese Synthese langwierig. Auch das Spiegelbild des Vitamins wurde so dargestellt (aus d-Xylosen). Die synthetische l-Ascorbinsäure erwies sich auch in bezug auf ihr physiologisches Verhalten als völlig identisch mit dem natürlichen Vitamin.

Ein anderer Weg wurde von *Micheel* und Mitarbeitern<sup>27)</sup> beschrieben. Das Vitamin kann letzten Endes als das enolisierte Lacton einer 2-(oder 3-)Ketosäure aufgefaßt werden. Deshalb sollte es gelingen, aus einer 2-Keto-säure unter geeigneten Bedingungen das Vitamin zu erhalten. Diese schon bei Abschluß der Strukturermittlung vorauszusehende Möglichkeit<sup>28)</sup> ließ sich auf folgendem Wege verwirklichen: Die l-Sorbose (XV), (erhalten auf folgendem Wege: d-Glucose [Hydrierung]  $\rightarrow$  Sorbit [Oxydation mit *Bact. xylinum*]  $\rightarrow$  l-Sorbose) wird über das Sorboson in 2-Keto-l-gulonsäure (XVI) übergeführt. Diese geht in alkalischer Lösung in die



<sup>24)</sup> Die l-Galaktose scheint aus Leinsamenschleim in präparativem Ausmaße gewinnbar zu sein (*Anderson*, Journ. biol. Chemistry 100, 249 [1933]).

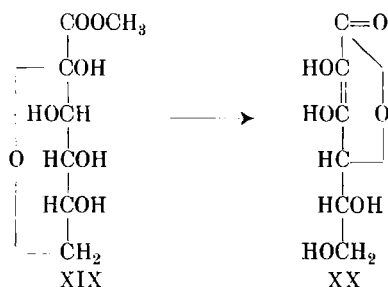
<sup>25)</sup> Helv. chim. Acta 16, 1020 [1933].

<sup>26)</sup> Journ. chem. Soc. London 1933, 1270.

<sup>27)</sup> Naturwiss. 22, 206 [1934]; Ztschr. physiol. Chem. (im Druck), Vortrag auf dem 9. intern. Kongr. f. reine u. angew. Chemie Madrid 1934.

<sup>28)</sup> Micheel u. Kraft, Ztschr. physiol. Chem. 218, 280 [1933].

Natriumverbindung des Enols (XVII) über (es ist nicht bekannt, ob beide enolischen OH-Gruppen durch Na ersetzt werden). Die Doppelbindung läßt eine cis- und trans-Form zu. Beim Ansäuern erhält man unter Lactonbildung das Vitamin (XVIII), aber nur die cis-Form vermag diese Lactonbildung einzugehen, während die trans-Form in das Ausgangsmaterial oder Isomere übergeht. Zu einer ähnlichen Synthese gelangte *Reichstein*<sup>29)</sup>, als er 2-Keto-l-gulonsäure für sich oder mit Mineralsäuren längere Zeit kochte. Auch die Ester von 2-Ketosäuren der Hexosereihe gehen leicht nach einem von *Ohle*<sup>30)</sup> und von *Maurer*<sup>31)</sup> angegebenen Verfahren in ihre Di-enol-lactone über. Von diesen Autoren wurde so, ausgehend von der 2-Keto-d-gluconsäure (XIX) ein Isomeres des Vitamins (XX) erhalten, und *Reichstein*<sup>29)</sup> stellte später nach dieser Methode aus dem 2-Keto-l-gulonsäureester das Vitamin her. Außerdem haben *Haworth* und seine Schule<sup>32)</sup> ausgehend von verschiedenen Osonen der Zuckerreihe noch eine Anzahl von Isomeren und Homo-



logen des Vitamins erhalten. Über eine vitaminartige Wirkung dieser Isomeren im Tierversuch ist nichts bekannt. Hingegen zeigen die d-Ascorbinsäure und das Isomere von *Ohle* und *Maurer* (vgl. oben) eine schwache antiskorbutische Wirkung im Tierversuch<sup>33)</sup>.

Wie schon in der Einleitung bemerkt, gehört das Vitamin zu den Stoffen, die in der Pflanzenwelt allge-

mein weit verbreitet sind, besonders in vielen Früchten, aber auch in Blättern und Wurzeln. Zwar ist die Menge des Vitamins, die ein Mensch täglich braucht, beträchtlich. Sie dürfte nach Schätzungen zwischen etwa 30 und 60 mg liegen<sup>34)</sup>. Man darf aber annehmen, daß bei einer normalen Ernährung, in der nicht lange Zeit Milch, Obst, Gemüse, Kartoffeln oder Rüben fehlen, der Bedarf des Menschen gedeckt wird. Kochen des Gemüses oder Obstes schädigt das Vitamin nur mäßig und wohl im wesentlichen dadurch, daß es dabei wegen seiner leichten Oxydierbarkeit verändert wird. In Obst- und Gemüsekonserven findet sich jedoch häufig nur noch sehr wenig Vitamin, anscheinend besonders dann, wenn Spuren von Schwermetall (Cu) bei der Zubereitung nicht ausgeschlossen werden (besonders Kupfer katalysiert die Oxydation). Hingegen behalten Konserven, die unter Berücksichtigung dieser Eigenschaften des Vitamins hergestellt werden, einen großen Teil ihres Vitamin-C-Gehaltes. Rohes Fleisch enthält nur wenig Vitamin. Trotzdem scheint es, als ob die Polarkölker ihren Bedarf daraus decken, sofern nicht bei ihnen ein stark vermindertes Bedürfnis besteht oder eine Partialsynthese möglich ist. Auch die Möglichkeit, daß andere Kohlenhydrate als „Provitamin“ auftreten könnten und so am Vitaminhaushalt beteiligt sind, ist zu erwägen.

Die weite Verbreitung des Vitamins C in tierischen und pflanzlichen Organen und Geweben läßt vermuten, daß ihm bestimmte Funktionen darin zukommen, die womöglich im Tierkörper mit seinem Vitamincharakter zusammenhängen. Es ist naheliegend, dabei auf Grund seiner besonderen chemischen Eigenschaften an eine Mitwirkung bei Oxydo-Reduktionsprozessen zu denken. Aber auch als Aktivator von eiweißspaltenden Enzymen scheint ihm Bedeutung zuzukommen<sup>35)</sup>. [A. 43.]

<sup>34)</sup> Fälle von deutlichem Skorbut gehören z. B. in der deutschen Bevölkerung zu den großen Seltenheiten und kommen nur unter anormalen Lebensbedingungen (z. B. auf Polar-Expeditionen) wiederholt vor. Hingegen dürfte ein „latenter“ Skorbut häufiger sein.

<sup>35)</sup> *Karrer u. Zehender*, *Helv. chim. Acta* **16**, 701 [1933]. *Maschmann u. Helmert*, *Ztschr. physiol. Chem.* **223**, 122 [1934]. *Pucc*, *Biochemical Journ.* **27**, 1703 [1933]. *Birch u. Dann*, *Nature* **131**, 469 [1933].

<sup>29)</sup> *Helv. chim. Acta* **17**, 311 [1934].

<sup>30)</sup> *Ber. Dtsch. chem. Ges.* **67**, 324 [1933]; vgl. auch *angew. Chem.* **45**, 709 [1932].

<sup>31)</sup> *Ber. Dtsch. chem. Ges.* **66**, 1054 [1933].

<sup>32)</sup> *Journ. chem. Soc. London* **1934**, 62.

<sup>33)</sup> *Dalmer u. Moll*, *Ztschr. physiol. Chem.* **222**, 116 [1934].

## Vitamin D.

Von Dr. A. LÜTTRINGHAUS, Universität Heidelberg.

(Eingeg. 30. Mai 1934.)

Inhalt: Natürliches Vitamin D. — Vitamin D aus Ergosterin. — Konstitution. — Physiologische Wertbestimmung. — Wirkungsmechanismus. — Identität. — Bildung des Vitamins D in der Natur. — Herstellung und Anwendung.

### Natürliches Vitamin D.

Im Jahre 1906 sprach *Hopkins* erstmalig die Vermutung aus, daß die Ursache der Rachitis in der Armut der Nahrung an einem jener Stoffe — heute *Vitamine* genannt — zu suchen sei, deren der Organismus, wenn auch in geringer Menge, so doch unbedingt bedarf. Die Richtigkeit dieser Hypothese konnte später, vor allem durch *Mellanby*, an Hand von Tierexperimenten und klinischen Beobachtungen bewiesen werden. Die Vervollkommenung der Tierversuche gestattete die Analyse der Nahrungsmittel auf ihren Gehalt an antirachitischem Vitamin, und man fand, daß es zu den *fettlöslichen* Vitaminen gehörte, sich aber von dem antixerophthalmischen Vitamin A, mit dem es zunächst für identisch gehalten wurde, nach Vorkommen und Eigenschaften deutlich unterschied.

In besonders großer Konzentration findet sich das antirachitische Vitamin D in den Leberölen der Knochenfische (1) wie Dorsch, Heilbutt und Thunfisch; demgegenüber erscheint der Gehalt sonstiger tierischer und pflanzlicher Quellen recht gering, z. B. hat die Butter höchstens 5% vom Gehalt des Dorschlebertrans, und Fleisch,

Eier, Gemüse und Pilze sind noch ärmer (vgl. 2). Versuche zur Reindarstellung des Vitamins D sind bislang noch nicht geglückt; es konnte immerhin durch Extraktion von Lebertran mit Eisessig oder Alkohol, Verseifung des Extraktes und Abtrennung der Sterine aus dem Neutralteil etwa 10 000fach angereichert werden (3). *Ender* (4) kam zu besonders hochaktiven Produkten, indem er aus solchen Konzentraten das Vitamin D als saures Phthalat abschied und das begleitende Vitamin A durch Adsorptionsmittel entfernte; *Dalmer*, *v. Werder* und *Moll* (5) trennten das Vitamin A durch Addition an Maleinsäureanhydrid ab. Das Vitamin D setzt sich chemisch nur aus Kohlenstoff, Wasserstoff und Sauerstoff zusammen (6) und besitzt Alkoholnatur (4), ist aber mit Digitonin nicht fällbar. Es ist fettlöslich, ziemlich haltbar und beständig gegen milde chemische Reagenzien; beim Erhitzen auf 200° wird es rasch zerstört (7). Damit sind unsere heutigen chemischen Kenntnisse über das Vitamin D der Fischtrane im wesentlichen erschöpft.