

Über das Vitamin E

Von Dr. W. JOHN

Allgemeines chemisches
Universitätslaboratorium Göttingen
Eingeg. 23. Mai 1939

Inhalt: Vitamin-E-Mangelerscheinungen an der Ratte und Testverfahren — Die praktische Bedeutung des Vitamins E — Vorkommen des Vitamins E und seine Konzentrierung — Konstitution der Tocopherole und chemische Eigenschaften — Die Synthese der Tocopherole und tocopherolähnlicher Stoffe — Andersartige synthetische Stoffe mit Vitamin-E-Wirksamkeit

Die ersten Beobachtungen über die Existenz eines Nahrungsfaktors, der von Ratten zur Erhaltung ihrer normalen Fortpflanzungsfähigkeit benötigt wird, gehen zurück auf *Evans* u. Mitarb. (1) im Jahre 1922. In jahrelanger Arbeit mit Versuchen an über 10000 Ratten haben *Evans* u. *Burr* die Erscheinungsformen des Vitamin-E-Mangels an männlichen und weiblichen Tieren sowie die Eigenschaften und das Vorkommen dieses neuen Nahrungsfaktors eingehend studiert und ihre Beobachtungen in einem ausgezeichneten Werke, „The antisterility vitamine E“ (2) niedergelegt, das noch heute die Grundlage jeder Forscherarbeit auf dem Vitamin-E-Gebiet darstellt. Von Anbeginn dieser Arbeiten über natürliche Antisterilitätsfaktoren an haben auch vor anderen *Sure* (3) sowie *Mattill* u. *Olcott* (4) wertvolle Beiträge geliefert. Versuche, die Vitamin-E-Faktoren aus ihren natürlichen Quellen, wie Weizenkeimölen, Baumwollsamen, Lattich usw., zu isolieren, sind außer von den genannten Autoren hauptsächlich von *Drummond* u. Mitarb. (5) unternommen worden. Die Reindarstellung zweier im Rattentest wirksamer Faktoren gelang dann *Emerson* (6) im Göttinger Universitätslaboratorium im Jahre 1936. Die beiden Faktoren erhielten die Namen α - und β -Tocopherol. Die Aufklärung der Konstitution der Tocopherole ist in erster Linie das Verdienst von *Fernholz* (7) gewesen, der das erste kristallisierte Abbauprodukt des α -Tocopherols erhalten und dann auch zuerst die richtige Strukturformel des α -Tocopherols aufgestellt hat. Ergänzend beigetragen zur Konstitutionsaufklärung haben die Arbeiten von *Emerson* (8), *Todd* u. *Bergel* (9) sowie *John* (10) u. Mitarb. Schon wenige Monate nach erfolgter Konstitutionsaufklärung synthetisierten *Karrer*, *Fritzsche*, *Ringier* u. *Salomon* (11) ein racemisches α -Tocopherol in überraschend eleganter Weise aus Pseudocumo-hydrochinon und Phytylbromid.

Damit haben die chemischen Arbeiten über Vitamin E in außerordentlich rascher Entwicklung in einem Zeitraum von knapp 2 Jahren zu einem gewissen vorläufigen Abschluß geführt. Es soll deshalb im folgenden eine kurze Übersicht über unsere heutigen Kenntnisse der Chemie der Vitamin-E-Faktoren gegeben werden; auch die Physiologie des Vitamins E soll in ihren Grundzügen behandelt werden, soweit sie nicht in der gleichzeitig in dieser Zeitschrift erscheinenden Abhandlung von *F. Grandel* ihre Erörterung gefunden hat. Die Kenntnis der Physiologie und Chemie der E-Vitamine muß heute um so dringlicher breiten Kreisen zugänglich gemacht werden, als die große praktische Bedeutung des Vitamins E für eine gesunde Volksernährung immer deutlicher in Erscheinung tritt. Das Erfassen aller Problemstellungen des Vitamin-E-Gebietes ist nur möglich durch eine enge Zusammenarbeit von Chemikern, Biologen, Physiologen, Medizinern, Ernährungsfachleuten und Industriellen; nur so wird es gelingen, die wertvollen Fähigkeiten des Vitamins E in der Behandlung kranker Menschen und Tiere erschöpfend zu verwerten und Mangelerkrankungen durch eine gesunde Ernährung zu verhüten. Anregungen zu einer solchen m. E. unumgänglich notwendigen gemeinsamen Arbeit zu geben, soll auch das Ziel dieses zusammenfassenden Berichtes sein.

I. Vitamin-E-Mangelerscheinungen an der Ratte und Testverfahren.

Die Ratte hat sich bisher als das geeignetste Versuchstier zur Erzeugung der E-Avitaminose erwiesen. Die jungen Tiere werden nach dem Entwöhnen im Alter von 3 bis 4 Wochen auf eine vitamin-E-freie Diät gesetzt, auf der sie mehrere Monate gehalten werden. Die Mangeldiät, wie sie schon von *Evans* angegeben wurde, setzt sich wie folgt zusammen:

Stärke 40%	Lebertran 2%
Casein 32%	Salzmischung nach <i>Mc Collum</i> 4%
Schweinefett 22%	Hefe 0,4—0,5 g pro Tag und Tier.

Vitamin-E-haltige Diätformen lassen sich durch Behandlung der Nahrungsbestandteile mit einer etwa 1%igen ätherischen Ferrichloridlösung vitamin-E-frei machen (12), doch ist diese Methode wenig gebräuchlich. Die zur Mangeldiät verwendeten Fette enthalten in frischem Zustande leicht erhebliche Mengen an Vitamin E. Man wird daher zweckmäßigerweise alle zur Verwendung gelangenden Fette vorher einige Monate lagern, dabei zerstören die im natürlichen Alterungsprozeß der Fette sich bildenden Peroxyde das anwesende Vitamin E (13). Schneller kann man die Zerstörung des Vitamins E in frischen Fetten erzielen durch Zumischung von Fetten, die bereits eine gewisse Ranzigkeit aufweisen; es ist jedoch zweckmäßig, von einem solchen Verfahren abzusehen, da andere in ranzigen Fetten sich bildende Stoffe die Implantation bei Ratten ungünstig beeinflussen können (14).

Nach *Mason* und *Bryan* (15) ist es empfehlenswert, auch schon den Muttertieren der für den Vitamin-E-Versuch zu verwendenden jungen Ratten während des zweiten Teiles der Säugeperiode eine vitamin-E-freie Kost zu geben, weil gegen Ende der Säugezeit beträchtliche Vitamin-E-Mengen durch die Milch oder durch Teilnahme an der mütterlichen Kost auf die jungen Tiere übertragen werden können und dadurch der Eintritt der Vitamin-E-Mangelerscheinungen verzögert wird. Durch die Placenta und anfänglich auch durch die Milch wird wenig Vitamin E vom Muttertier auf die jungen Tiere übertragen. Bei Eintritt der geschlechtlichen Reife im Alter von etwa 3 Monaten zeigen dann sowohl die männlichen als auch die weiblichen Tiere die charakteristischen Erscheinungen des Vitamin-E-Mangels, der sich zuerst in den bei den beiden Geschlechtern verschiedenartigen typischen Störungen in den Funktionen des Genitalapparates äußert.

Die männliche Ratte zeigt den Vitamin-E-Mangel früher an als die weiblichen Tiere. Schon in einem Alter von etwa 60 Tagen haben die Hoden bei E-frei ernährten Tieren ein deutlich geringeres Gewicht als bei normal ernährten Tieren. Die bei Eintritt der geschlechtlichen Reife erstmalig auftretenden Spermien zeigen bereits deutliche Degenerationserscheinungen, verminderter Fortbewegungsvermögen und Mißbildung der Spermatidenkerne. Von vielen Autoren wird das frühesten Auftreten von Degenerationserscheinungen erst sehr viel später, 100 und mehr Tage, angegeben; die Ursache dürfte jeweils darin zu suchen

sein, daß die jungen Tiere vor ihrem Einsetzen auf Mangel-diat bereits Vitamin-E-Beträge aufgenommen haben, die nur langsam wieder aufgebraucht werden.

Bei weiterer Diätbehandlung degenerieren die Spermien stärker, sie verlieren sehr bald die Fähigkeit zur Befruchtung, die Zellkerne sind vergrößert und mißgestaltet, die Geißeln werden kürzer oder fehlen ganz. Nach 5monatiger Diät-behandlung verschwinden die Spermien vollständig. Gleichzeitig degeneriert das germinative Gewebe, die Samen-kanälchen atrophieren und das Keimepithel erfährt all-mäßig einen völligen Abbau. Nach über 12monatiger Diät erlischt auch jegliches sexuelle Interesse der Tiere. Das Gewicht der Hoden ist auf etwa $\frac{1}{3}$ zurückgegangen.

Durch Verabfolgung von vitamin-E-haltigen Nahrungs-bestandteilen gelingt es, die Anfangsstadien der männlichen Degenerationserscheinungen wieder zur Norm zurück-zuführen, die Hoden erreichen ihr normales Gewicht und die Spermien ihre normale Beweglichkeit zurück. Die Prüfung des Gewichtes der Hoden läßt sich sehr gut als Test auf Vitamin-E-Gehalte verwenden. Quantitative Auswertungen sind damit jedoch noch sehr wenig durchgeführt worden. Fortgeschrittenere Degenerationserscheinungen am männlichen Tier, also Abbau des Keimgewebes, lassen sich mit Vitamin-E-Gaben nicht mehr heilen, selbst monatelange Zufütterung von Vitamin E bleibt ohne Erfolg.

Die weibliche Ratte zeigt nach der angegebenen Diätbehandlung bei Eintritt der geschlechtlichen Reife keine äußerlich erkennbaren Mangelerscheinungen im Vergleich mit normal ernährten Rattenweibchen. Brunstzyklus und Ovulation verlaufen normal. Bei der Kopulation mit Rattenmännchen erwiesener Fruchtbarkeit tritt wie bei normal ernährten Tieren Befruchtung und Implantation der Eizelle ein, die Trächtigkeit beginnt mit einer normalen Entwicklung der Fötten und dem dafür charakteristischen Gewichtsanstieg. Erst nach etwa 10 Tagen, etwa in der Mitte der Schwangerschaftsperiode, beginnt eine Rückentwicklung der Fötten. Diese zeigen charakteristische Veränderungen hauptsächlich der Blutgefäße, sterben etwa am 13. Tage, fallen einer intrauterinen Autolyse anheim und werden schließlich vom 16.—20. Tage vollständig vom Uterus resorbiert. Mit dem Tode der Fötten beginnt auch die Rückbildung der Placenta, die dann ebenfalls intrauterin re-sorbiert wird. Die Unfähigkeit der weiblichen Tiere, ihre Frucht auszutragen, wird daher als „Resorptionssterilität“ bezeichnet. Wenige Tage nach erfolgter Resorptions-sterilität zeigen die Tiere wieder ihren normalen Brunst-zyklus; sie sind erneut zur Konzeption befähigt, die dann jedoch wieder eine genau gleichartige Resorption zur Folge hat. Die Resorption läßt sich mehrfach an denselben Tieren wiederholen, jedoch bleibt eine Resorption nicht ganz ohne Schädigungen des Organismus, die Befähigung zur Im-plantation nimmt ab, der Uterus zeigt eigentümliche Ver-färbungen und Pigmentierungen.

Sind die jungen Rattenweibchen nicht völlig vitamin-E-frei aufgezogen worden, so zeigen sie bei ihrer ersten Gravidität nur Vorstufen der Resorptionssterilität. Bei geringerem Vitamin-E-Mangel verweigern die Muttertiere ihren Jungen die Aufzucht und beißen sie meist tot. Mangelnde Lactation scheint indessen nicht die Ursache dieses Verhaltens zu sein. Bei stärkerem Vitamin-E-Mangel kommen die Jungen nicht lebensfähig zur Welt oder es tritt Fehlgeburt der unterentwickelten Fötten ein. Bei der zweiten Schwangerschaft tritt dann regelmäßig Resorptionssterilität ein. Die erste noch erfolgreich verlaufene Schwangerschaft wird von *Evans* als „initial fertility“ bezeichnet.

Erhalten die Tiere nach einmal erfolgter Resorption am Tage einer erneuten Befruchtung genügende Mengen von Vitamin E per os eingegeben, so erfolgt ein völlig normaler Verlauf der zweiten Schwangerschaft, es werden normal ent-wickelte Junge zur Welt gebracht, die vom Muttertier in

natürlicher Weise genährt werden. Die Gewichtskurve eines solchen Tieres zeigt deutlich erkennbar die einzelnen Stadien der Resorptionssterilität und ihrer Heilung durch Vitamin E. Zur weiteren Kontrolle dient der tägliche Scheidenabstrich, er zeigt den Eintritt der Brunst durch das Auftreten der typischen Schollen, die erfolgte Kopulation durch den Befund lebender Spermien und die Resorption durch den Nachweis häufiger Blutungen.

Auf diese Weise läßt sich eine Austestung von Nahrungs-bestandteilen auf den Gehalt an Vitamin E vornehmen. Als Einheitsdosis des Vitamins E muß man die Menge bezeichnen, die bei einmaliger peroraler Verabreichung am Tage des Belegens bei 50% der zum Versuch eingesetzten Tiere die Geburt von mindestens einem lebenden Jungen herbeizuführen vermag. Diese biologische Einheit ist enthalten in 3 mg α -Tocopherol und etwa 5 mg β -Tocopherol. Die Genauigkeit einer solchen Bestimmung beträgt etwa $\pm 30\%$. Andere ebenfalls gebräuchliche Definitionen der Vitamin-E-Einheit besitzen eine noch erheblich größere Un-genaugigkeit.

Nach *Bacharach* (16) ist es vorteilhaft, zum Testversuch sog. virginelle Rattenweibchen zu verwenden, d. h. solche Tiere, die nicht erst eine Resorption durchgemacht haben, sondern man benutzt die Beobachtung der ersten Trächtig-keit direkt als Test. Dies ist möglich, da bei sorgfältig vitamin-E-freier Aufzucht die Tiere in 100% der Fälle bereits Resorption bei ihrer ersten Schwangerschaft zeigen. Die auszutestende Substanz wird den Tieren daher bei der ersten Kopulation eingegeben, enthält sie ausreichende Mengen Vitamin E, so führt die Schwangerschaft zur Ge-burt gesunder Jungen, im anderen Falle zur Resorption. Dieses Vorgehen hat zwei Vorteile, erstens wird die Gesamt-dauer des Versuches um mindestens 4 Wochen abgekürzt, zum anderen ist bei virginellen Tieren der Prozentsatz an Implantationen nach dem Belegen erheblich höher. Die Substanz wird, auf 10 gleiche Teile verteilt, in den 10 ersten Tagen nach der Kopulation eingegeben.

Zum Unterschied von der E-Avitaminose bei Ratten-männchen ist die Sterilität der Rattenweibchen auch nach sehr langer Diätbehandlung durch Vitamin E wieder heil-bar. Tiere mit mehreren Resorptionen benötigen etwas größere Dosen an Vitamin E zur Heilung, außerdem sind die nach Resorptionen geborenen Jungen stets weniger gut entwickelt (17). Damit in Zusammenhang stehen wohl die von *Barrie* (18) nach Resorptionen beobachteten dauernden Schädigungen des Uterus.

Weitere Mangelerscheinungen bei beiden Ge-schletern treten auch außerhalb der eigentlichen Sexualsphäre auf. So beobachtete schon *Evans* ein deutliches Zurückbleiben im Wachstum und Gewicht der vitamin-E-frei ernährten Tiere, wie dies in ähnlicher Weise auch bei dem Mangel anderer Vitamine zu beobachten ist. Die Jungen von vitamin-E-arm ernährten Muttertieren zeigen charakteristische Lähmungserscheinungen der hinteren Glied-maßen; bei längerem E-Mangel treten im gesamten Muskel-system Degenerationserscheinungen auf (19, 20), begleitet von einer gelblichen Verfärbung der Muskeln.

Von besonderem Interesse sind die Veränderungen der Hypophyse bei Vitamin-E-Mangel, da sie vielleicht eine Deutungsmöglichkeit des Wirkungsmechanismus des Vita-mins zu geben imstande sind. Die Hypophyse zeigt nach *Rowlands* u. *Singer* (21) sowie nach den histologischen Be-obachtungen von *Barrie* (22) und anderen (23, 24) bei E-frei ernährten Ratten degenerative Veränderungen hauptsächlich der basophilen Zellen des Vorderlappens, wie sie in ähnlicher Weise auch nach erfolgter Kastration auftreten. Damit parallel gehen Veränderungen in der Sekretionstätigkeit des Hypophysenvorderlappens, der Gehalt an luteinisierendem oder ovulationsförderndem Hormon sinkt unter die Norm. In weiterem Zusammenhang damit stehen wahrscheinlich

auch die von *Singer* (25) beobachtete Hypoplasie der Schilddrüse mit gleichzeitigen Schilddrüseninsuffizienzerscheinungen sowie die Veränderungen der Nebennieren (26).

Verzar (27) zeigte, daß gewisse Erscheinungen des Vitamin-E-Mangels in gleicher Weise wie beim Ausfall der Funktion der Hypophyse auftreten und daß sogar die durch Vitamin-E-Mangel hervorgerufenen Ausfallssymptome durch Extrakte aus Hypophysenvorderlappen wieder zur Norm zurückgeführt werden können, so die charakteristische Veränderung des Haarkleides der Tiere und die Verminderung des Grundumsatzes. In ähnlicher Weise wie Hypophysenhormon soll nach *Szarka* (28) auch Injektion von Vitamin E bei infantilen Tieren einen Östruszyklus auslösen. Diese Beobachtungen legen die Annahme nahe, daß das Vitamin E seine gesamten Funktionen auf dem Wege über die Hypophyse durch das gesamte endokrine Drüsensystem ausübt, etwa in der Weise, daß das Vitamin E eine Art Anregungswirkung auf die Hypophyse ausübt oder eine Vorstufe der gonadotropen Hormone darstellt. Daß der Wirkungsmechanismus des Vitamins E jedoch nicht auf eine so einfache Formel gebracht werden kann, zeigt einmal die Tatsache, daß es nicht gelingt, die typischen Vitamin-E-Manglerscheinungen im Fortpflanzungsgeschehen durch Hypophysenhormone günstig zu beeinflussen, zum anderen die Beobachtung, daß die Degenerationserscheinungen in den Hoden bei Vitamin-E-Mangel und bei Ausfall der Hypophysenhormone verschiedenartig sind, im ersten Falle wird das germinative Gewebe abgebaut, während im zweiten Falle das interstitielle Gewebe degeneriert. Das Studium dieser angedeuteten Beziehungen zwischen Vitamin E und Hypophyse kann noch keineswegs als abgeschlossen betrachtet werden.

Enge Beziehungen bestehen sicherlich auch zwischen Vitamin E und dem Gewebewachstum; *Juhasz-Schäffer* (17) beobachtete gesteigertes Wachstum am künstlich gezierten Gewebe. Vielleicht steht diese Erscheinung damit im Zusammenhang, daß auch im Organismus das Vitamin E benötigt wird, wo Zellneubildungen in größtem Maßstabe stattfinden, wie in den Hoden und bei der fötalen Entwicklung. Zusammenhänge zwischen Krebsgeschwülsten und Vitamin E sind häufig, aber mit vielfach widersprechenden Ergebnissen beobachtet worden. [Literaturzusammenstellung siehe (29).] Nach neueren Untersuchungen von *Demole* (29) beeinflußt reines Vitamin E (d, l, α -Tocopherol) das Wachstum von Krebsgeweben nicht, die beobachteten Wirkungen müssen daher auf andere Inhaltsstoffe der Weizenkeimöle zurückgeführt werden. Interessante Zusammenhänge zwischen Vitamin-E-Gehalt des Blutes und Gehalt an östrogenen Stoffen hat *Shute* (30) beobachtet. Es muß eine Art Gleichgewicht zwischen diesen beiden Faktoren im Blut angenommen werden; sinkt bei E-armen Diäten der Vitamin-E-Spiegel ab, so steigt der Gehalt an östrogener Substanz an, die Bestimmung des Gehaltes der letzteren kann daher mit Vorteil als Diagnose des Vitamin-E-Mangels verwendet werden. *Shute* beobachtete ferner, daß im Blutserum vitamin-E-arm ernährter Ratten die Proteolyse durch Trypsin gehemmt ist.

Das Gesamtbild der physiologischen Zusammenhänge im Wirkungsmechanismus des Vitamins E ist noch sehr unvollständig. Die weiteren Untersuchungen mit reinen Tocopherolen werden noch mehr Klarheit in die Funktionen des Vitamins E bringen müssen. Überdies dürfen an Weizenkeimölen festgestellte physiologische Beobachtungen nicht ohne weiteres auf die reinen Tocopherole übertragen werden. Unklar sind insbes. noch die Fragen, ob die Förderung der Lactation oder des Wachstums den Tocopherolen oder anderen Begleitstoffen zugeschrieben werden muß, weiter ob es Stoffe gibt, die entweder nur die Sterilität weiblicher Tiere heilen, nicht aber die männlicher Tiere, wie auch umgekehrt (31). Vergleichende quantitative Auswertungen an

weiblichen und männlichen Tieren mit genau definierten Präparaten müssen ebenfalls noch durchgeführt werden.

II. Die praktische Bedeutung des Vitamins E.

Die bisherigen Erfahrungen über die Bedeutung des Vitamins E bei Tieren und beim Menschen beziehen sich fast ausschließlich auf Weizenkeimöle. Es unterliegt keinem Zweifel, daß ein Teil der günstigen Auswirkungen dieser Öle auch von anderen Faktoren mitbedingt wird, wie etwa den Vitamin-B-Faktoren, Wuchsstoffen und anderen vielleicht noch unbekannten Faktoren. Eine genaue Abgrenzung des Wertes des reinen Vitamins E müssen daher erst ausgedehnte Versuchsreihen mit reinen Tocopherolen erbringen.

Die Bedeutung des Vitamins E in der Veterinärmedizin wurde zuerst von *Vogt-Möller* seit 1931 in eingehenden Experimenten untersucht. Vitamin-E-Faktoren scheinen für viele Tiere notwendig zu sein. Experimentelle Avitaminosen sind auch bei Mäusen und Meerschweinchen (32) erzeugt worden. Die Mänglerscheinungen bei verschiedenen Tieren unterscheiden sich jedoch deutlich. Keinesfalls lassen sich die an einer Tierart erzielten Ergebnisse ohne Prüfung auf andere Tiere übertragen; es soll z. B. nach *Wilson* (33) die Ziege überhaupt kein Vitamin E benötigen. Es ist jedoch sicher, daß Störungen der Fortpflanzungsfähigkeit, die den Vitamin-E-Manglerscheinungen ähnlich sind, bei vielen Tieren, besonders bei unseren Haus- und Nutztieren, häufig sind, und es ist bereits durch eine große Zahl von Beobachtungen (Zusammenstellung siehe *F. Grandel*) erwiesen, daß solche Störungen durch Verabreichung von Weizenkeimölen in vielen Fällen günstig beeinflußt werden können. Besonders bedeutungsvoll scheinen auch die Versuche zu sein, mit Weizenkeimölen die Resistenz unserer Nutztiere gegen die Brucella-Infektion zu erhöhen. Der Beweis, ob die Tocopherole wirklich die für die beobachteten Heilungen verantwortlichen Faktoren darstellen, muß noch erbracht werden, es dürfte aber kaum zweifelhaft sein, daß sie maßgeblich daran beteiligt sind. Eine weiter gesteigerte Verwendung von Vitamin-E-Präparaten kann sicherlich die Tierzucht vor erheblichen Verlusten bewahren und damit helfen, unsere Ernährungsgrundlage zu verbessern.

Die Bedeutung des Vitamins E in der Humanmedizin ist ebenfalls noch schwer abzugrenzen, da bisher fast nur Beobachtungen mit Weizenkeimölen vorliegen. Für die zahlreichen in der medizinischen Literatur beschriebenen Fälle von günstigen Heilergebnissen mit Weizenkeimölen ist aber wohl sehr wahrscheinlich das Vitamin E in erster Linie verantwortlich zu machen. Die jetzt möglich gewordene Therapie mit reinen Tocopherolen wird aber die Verhältnisse noch weiter klären müssen. Das Indicationsgebiet der Vitamin-E-Faktoren in der Humanmedizin scheint nach den bisherigen Erfahrungen sehr groß zu sein (Zusammenstellung siehe *F. Grandel*), so daß heute Vitamin-E-Konzentrate ein wertvolles Therapeutikum darstellen, dessen ausgedehntere Anwendung bei verschiedenen Arten von Sexualstörungen von großer praktischer Bedeutung ist.

Besondere Aufmerksamkeit ist einer genügenden Zufuhr von Vitamin-E-Faktoren durch die Nahrung zu widmen. Es ist sehr bedauerlich, daß gerade die beiden wertvollsten Vitamin-E-Quellen, die Weizenkeime und die verschiedenen Samenöle, durch Reinigungsprozesse ihres wesentlichen Wertes für die menschliche Ernährung fast völlig beraubt werden. Die Betrachtung des Vitamin-E-Gehaltes unserer Nahrungsbestandteile läßt erkennen, daß die Vitamin-E-Zufuhr insgesamt sehr gering ist. Wenn auch der Bedarf des Menschen an Vitamin E nicht genau bekannt ist, so dürfte die durchschnittliche Zufuhr durch die Ernährung nicht viel über dem notwendigen Minimum liegen. Da

zweifellos eine große Anzahl der so verbreiteten Fortpflanzungsstörungen durch Ernährungsdefekte mitverursacht werden, ist nachdrücklich auf eine genügende Zufuhr von Vitamin E durch die Kost zu achten. Maßnahmen zur Erhöhung des Vitamingehaltes einiger unserer Hauptnahrungsmittel, etwa der Fette oder einiger Brotsorten, liegen sicher im Interesse einer Förderung der Volksgesundheit.

Eine Zerstörung der Vitamin-E-Faktoren bei der haus- haltsüblichen Zubereitung der Speisen scheint i. allg. wenig zu befürchten zu sein (34), wenn auch sicherlich längeres Kochen und Durchlüften der Speisen dem Vitamin-E- Gehalt wie auch dem Gehalt an anderen Vitaminen wenig zuträglich sein wird. Auch diese Fragen bedürfen indessen noch eingehender Untersuchungen.

Ein großer Vorteil aller Vitamin-E-Applikationen ist die außerordentlich große therapeutische Breite der Tocopherole. Demole (35) hat in ausgedehnten Versuchen mit synthetischem $d,1,\alpha$ -Tocopherol an Ratten, Fröschen, Kaninchen, Katzen, Hunden und Affen die symptomlose Verträglichkeit selbst von Dosen bis zu 50 g pro kg Körpergewicht festgestellt. Daß eine Überdosierung von Vitamin E indessen nicht imstande ist, die Fruchtbarkeit der Ratte über das normale Maß hinaus zu erhöhen, ist schon von Evans betont worden.

III. Vorkommen des Vitamins E und seine Konzentrierung.

Vitamin-E-Faktoren sind in der Natur ziemlich weit verbreitet, kommen aber fast stets nur in kleinen Mengen vor. Die ergiebigsten natürlichen Quellen für Vitamin E sind in erster Linie das Weizenkeimöl, weiter Reiskeimöle und andere Getreidekeimöle, Baumwollsamenöl, dann grüne Gemüse, Lattich, Brunnenkresse usw. Von den tierischen Organen enthalten nur Placenta und Hypophysenvorderlappen bemerkenswerte Mengen. Weizenkeimöle, die nach Karrer u. Keller (36) bis zu 0,5% Tocopherol enthalten, sind schon von Evans wie auch von späteren Bearbeitern zur Anreicherung des Vitamins E benutzt worden. Für die weniger vitaminreichen Nahrungsstoffe Zahlenwerte anzugeben, hat wenig Zweck, denn die Fehlerbreite solcher Bestimmungen ist sehr groß, und es wird bald möglich sein, unter Verwendung der unten noch zu beschreibenden chemischen Bestimmungsmethoden genauere Angaben zu machen, als bisher bekannt sind.

Die Anreicherung des Vitamins E aus Weizenkeimölen geht folgenden Weg. Die Keimöle, die am besten durch Auspressen gewonnen werden, werden verseift durch etwa halbstündiges Kochen mit einer Lösung von 10% Ätzkali in wasserfreiem Methanol in inerter Gasatmosphäre. Das Vitamin E wird von Alkali langsam angegriffen, besonders bei Anwesenheit von Luft. Die unverseifbaren Anteile bestehen zu fast 90% aus Sterinen, hauptsächlich Sitosterinen, die durch Behandeln mit Pentan und Methanol abgetrennt werden. Die so von der Hauptmenge der Sterine befreiten Öle werden dann aus benzolischer Lösung durch eine Säule von Aluminiumoxyd (E. Merck, standardisiert nach Brockmann) filtriert, wobei die wirksamen Bestandteile im unteren Drittel der Säule festgehalten werden. Durch Elution mit Äther-Alkohol-Gemisch 1 : 1 erhält man ein gelbliches Öl, das mit rd. 10 mg einmaliger Dosis im Rattentest wirksam ist. Um eine alkalische Verseifung, die immer etwas Tocopherol zerstört, ganz zu vermeiden, chromatographieren Moss u. Drummond (37) die Weizenkeimöle direkt an Aluminiumoxyd. Aus den so gewonnenen Konzentraten lassen sich die Tocopherole nach der Behandlung mit Cyansäure als Allophanäureester isolieren.

Die Vitamin-E-Konzentrate sind leicht löslich in allen Lipoidlösungsmitteln. Die Konzentrate sind hitzebeständig bis gegen 200°, sie sind als Öle beständig gegen Luft, werden jedoch in fein verteiltem Zustande von Luft langsam angegriffen, sie sind weitgehend beständig gegen sichtbares Licht, werden aber von ultraviolettem Licht zerstört. Bemerkenswert ist die große Beständigkeit der Konzentrate gegen Säuren, während Basen bei gleichzeitigem Luft-

zutritt zerstörend wirken. Die Konzentrate sind ferner sehr beständig gegen Hydrierung, werden aber von Oxydationsmitteln leicht angegriffen. Die Anwesenheit von Antioxydantien wie Hydrochinon oder Ascorbinsäure machen das Vitamin E gegen oxydierende Einwirkung beständiger, solche Zusätze sind daher wertvoll zur Stabilisierung von Vitamin-E-Präparaten (38).

Die Bestimmung des Vitamin-E-Gehaltes in den Konzentraten konnte lange Zeit nur durch das biologische Testverfahren an Rattenweibchen ausgeführt werden; dieser Umstand hat die Isolierung der Tocopherole sehr erschwert. Als wertvolles Hilfsmittel bei der Konzentrierung hat sich dann die Kontrolle des U.-V.-Absorptionsspektrums erwiesen (39). Für die Vitamin-E-Gehaltsbestimmung kann die Messung der Höhe der Absorptionsbande bei 294 m μ nur bei relativ hohen Vitamin-E-Konzentrationen Verwendung finden, da die unspezifische Gesamtabsorption bis etwa 300 m μ bei natürlichen Ölen meist sehr stark ist.

Karrer u. Keller (36) haben ein Verfahren zur Vitamin-E-Gehaltsbestimmung in natürlichen Ölen angegeben, bei dem die Tocopherole mit Goldtrichlorid oxydiert werden und der Endpunkt der Titration potentiometrisch festgestellt wird. Bei dieser Methode stört die Anwesenheit von Carotinoiden, da diese auch von Goldchlorid oxydiert werden; sie müssen daher auf andere Weise bestimmt und in Abzug gebracht werden. Die Übereinstimmung der so gewonnenen Ergebnisse mit der biologischen Auswertung ist befriedigend.

Emmerie u. Engel (40) bestimmen den Tocopherolgehalt durch Oxydation der Tocopherole mit Ferrichlorid in alkoholischer Lösung. Die dabei sich bildenden Ferroionen werden durch α, α' -Dipyridyl in eine intensiv rot gefärbte Komplexverbindung übergeführt, deren Intensität im Zeiss-Pulfrich-Photometer gemessen wird. Die Methode ist einfacher zu handhaben und ist besonders zur Bestimmung von kleinen Quantitäten Vitamin E geeignet. Die bei dieser Methode ebenfalls unerwünschten Carotinoide lassen sich leicht durch eine Filtration der Konzentrate in benzolischer Lösung durch eine dünne Schicht Floridin-XS-Erde entfernen. Die Ergebnisse dieser Methode stehen in guter Übereinstimmung mit denen der Karrerschen Methode.

Furter u. Meyer (41) haben vor kurzem eine neue Bestimmungsmethode für Vitamin E angegeben. Bei der Oxydation der Tocopherole mit Salpetersäure in alkoholischer Lösung erhält man eine intensiv rote Färbung, die colorimetrisch ausgewertet wird. Der Vorteil dieser Methode liegt darin, daß Carotinoide nicht stören; ein Nachteil der Methode ist die Tatsache, daß auch die inaktiven chinoiden Oxydationsprodukte der Tocopherole miterfaßt werden, die häufig schon in den natürlichen vitamin-E-haltigen Ölen vorhanden sind. Dadurch werden die aufgefundenen Werte häufig zu hoch.

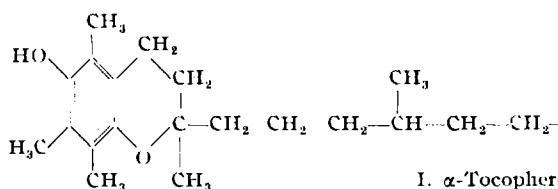
Alle angegebenen Methoden der Vitamin-E-Bestimmung beruhen auf einer Bestimmung des Tocopherolgehaltes. Die in den meisten Fällen aufgefundene Übereinstimmung zwischen Tocopherolgehalt und biologischer Aktivität läßt vermuten, daß außer den Tocopherolen keine weiteren hochaktiven Antisterilitätsfaktoren in den bisher ausgewerteten natürlichen Ölen vorhanden sind.

IV. Konstitution der Tocopherole und chemische Eigenschaften.

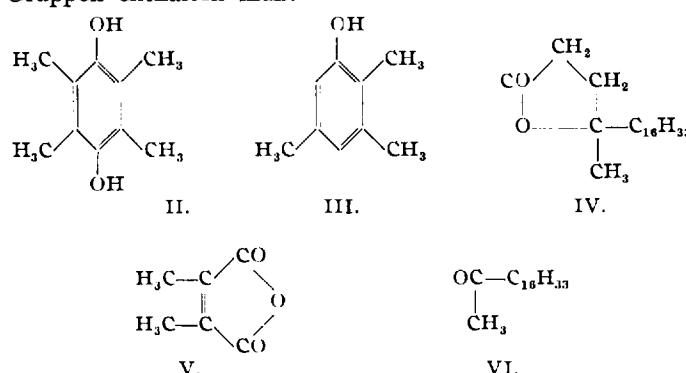
Das α -Tocopherol erhält man nach der Allophanierung der vitamin-E-reichen Konzentrate in Form seines Allophanäureesters vom Schmp. 160° [Evans, Emerson u. Emerson (6)]. Bei der vorsichtigen Verseifung des Esters erhält man das α -Tocopherol selbst, ein schwach gelbliches Öl mit allen oben für die Konzentrate angegebenen Eigen-

schaften. Die Ausbeuten schwanken sehr und betragen bestenfalls 1 g α -Tocopheryllallophanat aus 1 kg Weizenkeimöl. Es ist mit 3 mg einmaliger Dosis im Rattentest wirksam. Seine Summenformel ist $C_{29}H_{50}O_2$.

Für das α -Tocopherol hat *Fernholz* (7) die Konstitutionsformel I aufgestellt.

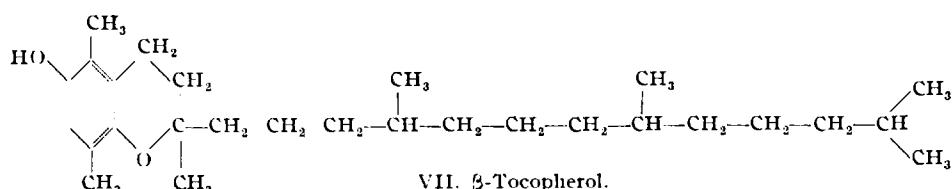


Die Formel wurde aufgestellt auf Grund der folgenden Reaktionen des α -Tocopherols. Durch Veresterung läßt sich eine Hydroxylgruppe nachweisen. Die Hydroxylgruppe muß phenolisch sein nach den Ergebnissen der Spektralmessungen und dem Verhalten gegenüber Oxydationsmitteln [John (10)]. Beim Erhitzen auf 350° erhält man aus α -Tocopherol in guter Ausbeute Durohydrochinon (II), beim Erhitzen mit Jodwasserstoffsäure entsteht Isopseudocumol (III). Bei der Oxydation mit Chromsäure nach *Fernholz* entsteht unter milden Bedingungen ein C_{21} -Lacton (IV), dessen freie Oxy-Säure leicht lactonisiert, so daß sie als γ -Oxsäure angesehen werden muß; die Hydroxylgruppe muß tertiär sein, da sie sich nicht oxydieren und nur sehr schwer verestern läßt. Bei energischeren Oxydationsbedingungen mit Chromsäure entstehen Dimethylmaleinsäureanhydrid (V), Diacetyl, Aceton, ein C_{18} -Keton (VI) und eine C_{16} -Säure, die nach den Ergebnissen einer *Kuhn-L'Orsaschen* C-Methylgruppenbestimmung drei $C-CH_3$ -Gruppen enthalten muß.



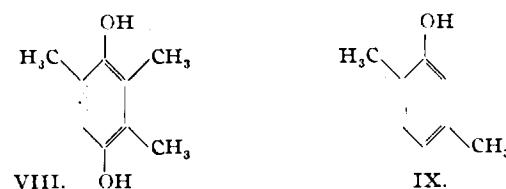
Die Deutung dieser Oxydationsprodukte ist nur möglich durch die Formulierung des α -Tocopherols als Chromanderivat. Die isoprenartige Anordnung der Seitenkette gründet sich auf eine an Naturstoffen häufig gemachte Erfahrung. Die *Fernholzsche* Formulierung des α -Tocopherols ist später durch die Synthese sicher bewiesen worden. Die zunächst noch strittige Frage, ob das α -Tocopherol als Chroman- oder Cumaranderivat [Karrer (11)] zu formulieren sei, ist auf Grund der U.-V.-Spektren und anderer vergleichender Modellversuche eindeutig zugunsten der Chromanformulierung zu entscheiden [John (43)].

Das β -Tocopherol kristallisiert als Allophanat vom Schmp. 146° aus den Mutterlaugen des α -Tocopheryllallophanates der allophanierten Weizenkeimöle. Das freie β -Tocopherol ist mit etwa 5 mg im Rattentest wirksam. Die Ausbeuten sind sehr wechselnd, bald größer, häufig auch kleiner als die an α -Tocopherol. Eine weitgehende Trennung des β -Tocopherols vom α -Tocopherol läßt sich durch Absorptionsverfahren erreichen. Das β -Tocopherol gleicht in allen seinen Eigenschaften dem α -Tocopherol so



außerordentlich, daß es zunächst als Isomeres des α -Tocopherols angesehen wurde. Nach John (10) besitzt es jedoch die Summenformel $C_{28}H_{48}O_2$ und ist das nächst niedere Homologe des α -Tocopherols entsprechend Formel VII. Diese Formel ergibt sich aus den Spektralmessungen, der thermischen Spaltung bei 350° , die zu Pseudocumol-hydrochinon (VIII) führt, der Jodwasserstoffsässpaltung, bei

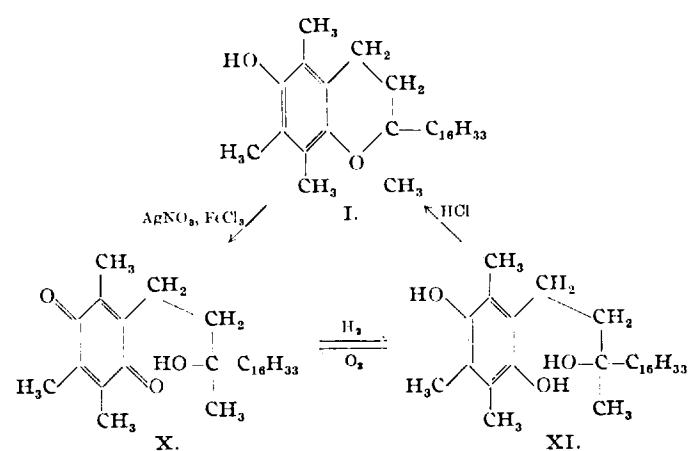
der p-Xylenol (IX) isoliert werden kann, und der Chromsäureoxydation, die ein mit dem aus α -Tocopherol erhältlichen Lacton identisches C_{21} -Lacton (IV) liefert [Emerson (44)]. Diese Formulierung des β -Tocopherols läßt sich auch durch die neuesten synthetischen Ergebnisse stützen.



Das γ -Tocopherol wurde von Emerson, Evans u. Olcott (45) aus Baumwollsamen als Allophanat vom Schmp. 138° isoliert. Es ist dem β -Tocopherol von der Formel $C_{28}H_{48}O_2$ isomer und gleicht diesem auch in der biologischen Wirksamkeit. Bei der thermischen Spaltung des γ -Tocopherols entsteht Pseudocumohydrochinon. Andere Abbauprodukte sind nicht mehr bekanntgeworden.

Weitere tocopherolähnliche Faktoren sind von verschiedenen Bearbeitern vermutet worden, konnten aber bisher nicht in reiner Form isoliert werden. Die Tocopherole besitzen auch oxydationshemmende Wirkung, zunehmend in der Reihenfolge α - β - γ -Tocopherol.

Die Oxydationsprodukte der Tocopherole besitzen vornehmliches Interesse im Hinblick auf den Wirkungsmechanismus der Tocopherole. Bei der Oxydation mit Ferrichlorid oder Silbernitrat geht das α -Tocopherol nach John (10) in ein Chinon $C_{29}H_{50}O_3$ (X) über, das sich durch Reduktion leicht in das α -Tocopheryl-hydrochinon (XI) überführen läßt, das selbst nicht kristallisiert erhalten worden ist, das sich aber leicht in gut kristallisierte Derivate verwandeln läßt.



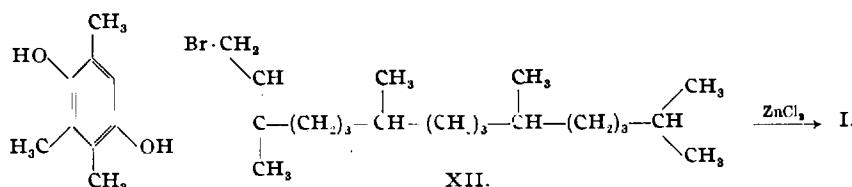
Das α -Tocopherylhydrochinon ist außerordentlich oxydationsempfindlich und bildet sich mit Luftsauerstoff

wieder in das α -Tocopherylchinon zurück. Mit starken Mineralsäuren spaltet das α -Tocopherylhydrochinon ein Molekül Wasser ab und verwandelt sich in das α -Tocopherol (I) zurück. Ob dieser durch die Formeln I, X und XI skizzierte Kreisprozeß, insbes. das leicht reversible Gleichgewicht α -Tocopherylchinon- α -Tocopherylhydrochinon, in den Oxydo-Reduktionsvorgängen des Zellstoffwechsels eine Rolle spielt, ist nicht erwiesen. Der Befund, daß das α -Tocopherylchinon in Dosen bis zu 30 mg keine Vitamin-E-Wirkksamkeit besitzt, ist schlecht vereinbar mit einer solchen Annahme. Ein analoger Kreisprozeß gilt mutatis mutandis auch für das β -Tocopherol.

Bei weiterer Oxydation mit Silbernitrat oder Salpetersäure in alkoholischer Lösung geht das α -Tocopherylchinon, wie auch das β -Tocopherylchinon, nach John (43) in einer eigentümlichen Reaktion, deren Verlauf nicht völlig geklärt ist, unter Methanabspaltung in einen intensiv rotgefärbten Körper über, den Furter u. Meyer (41) zur Tocopherolgehaltsbestimmung verwertet haben.

V. Die Synthese der Tocopherole und tocopherol-ähnlicher Stoffe.

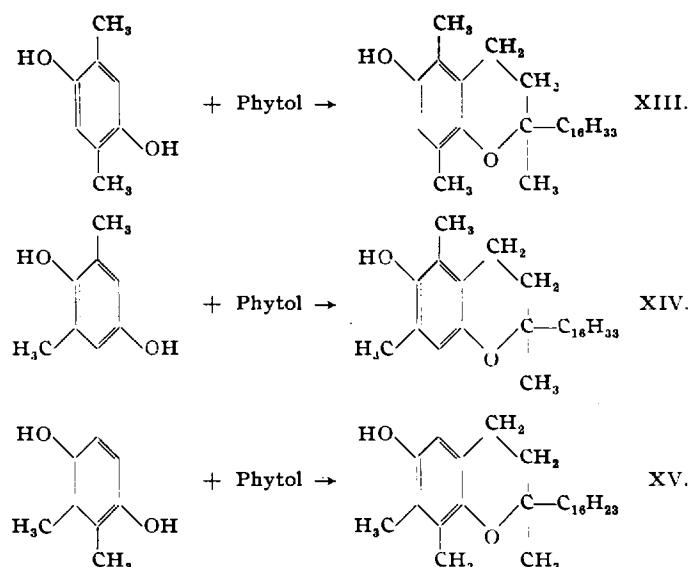
Die Synthese des α -Tocopherols ist zuerst von Karrer, Fritzsche, Ringier u. Salomon (11) auf folgendem Wege durchgeführt worden. Pseudocumohydrochinon wird mit Phytylbromid (XII) unter der Einwirkung von wasserfreiem Zinkchlorid bei 80° in Benzin gelöst zur Reaktion gebracht. Die Kondensation erfolgt erstaunlich glatt und führt in fast quantitativer Ausbeute direkt zu einem racemischen d,1, α -Tocopherol, dessen Allophanat bei 172° schmilzt.



Durch Veresterung mit einer Bromcamphersulfonsäure erhält man aus dem natürlichen α -Tocopherol und dem synthetischen d,1, α -Tocopherol identische Produkte. Mit kleinen Abänderungen ist die Synthese des d,1, α -Tocopherols wenig später auch von Bergel, Todd u. Mitarb. (46) durchgeführt worden aus Pseudocumohydrochinon und Phytol selbst sowie von L. J. Smith u. Mitarb. (47) aus Pseudocumohydrochinon und Phytylbromid oder auch aus Pseudocumohydrochinon und Phytadien, in beiden Fällen ohne Katalysator.

Durch diese Synthesen ist ein Diastereomeres des α -Tocopherols einigermaßen leicht zugänglich gemacht und damit die Möglichkeit, die Wirkungsweise des α -Tocopherols im Tierversuch zu untersuchen, wesentlich erleichtert worden. Das synthetische d,1- α -Tocopherol ist im biologischen Versuch an der Ratte mit 2–3 mg voll wirksam, demnach scheinen sich d- und l-Form in ihrer Wirksamkeit wenig zu unterscheiden.

Die Synthese der β -Tocopherol-Isomeren ist ebenfalls von Karrer u. Mitarb. (48) sowie auch von Bergel, Todd u. Mitarb. (49) in Angriff genommen worden. Es sind alle drei stellungsisomeren Xylohydrochinone mit Phytylbromid zur Reaktion gebracht worden. Karrer verwendet dabei als Kondensationsmittel Ameisensäure, während Zinkchlorid leicht weitere Addition von Phytylbromid an den aromatischen Ring verursacht. Besser scheint der zu reineren Endprodukten führende Weg von Todd zu sein, der die Monobenzoësäureester der drei Xylohydrochinone zur Kondensation verwendet.

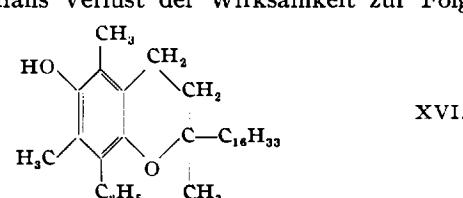


Das synthetische racemische Tocopherol aus p-Dimethylhydrochinon (XIII) ist nach Todd u. a. mit 5 mg im Rattenversuch wirksam. Die kristallisierten Ester dieses Produktes geben mit den entsprechenden Estern aus natürlichem β -Tocopherol keine Schmelzpunktsdepressionen, so daß die Annahme gerechtfertigt erscheint, daß damit die Synthese eines racemischen β -Tocopherols gelungen ist.

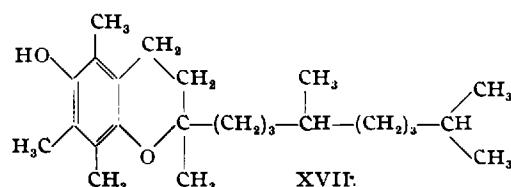
Synthese eines racemischen β -Tocopherols gründen ist. Das Kondensationsprodukt aus m-Dimethyl-hydrochinon (XIV) ist nach Todd u. a. im Rattentest mit 3 mg wirksam; das Tocopherol aus o-Dimethyl-hydrochinon (XV) ist etwas weniger wirksam und dürfte vielleicht dem γ -Tocopherol entsprechen. Genauere Angaben dürfen noch erwartet werden.

I_3 $\xrightarrow{ZnCl_2}$ I.
 I_3

Kernhomologe der Tocopherole hat ebenfalls Karrer (50) dargestellt. Das 5,7-Dimethyl-8-äthyl-tocopherol (XVI) ist mit 16 mg einmaliger Dosis im Rattentest wirksam. Ein Monomethyl-tocopherol mit unbekannter Stellung der Methylgruppe ist dagegen mit 40 mg unwirksam. Ent-

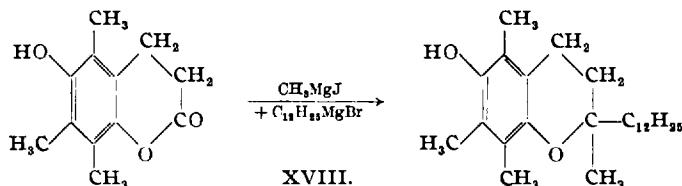


Seitenkettenhomologe des α -Tocopherols mit verkürzter Seitenkette zeigen einen erheblichen Abfall oder völligen Verlust der Wirksamkeit. Das von Karrer aus Pseudocumohydrochinon und Farnesylbromid synthetisierte Chromanderivat XVII ist mit 40 mg unwirksam.

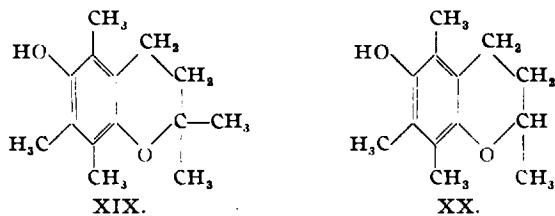


Ein andersartiges Verfahren zur Synthese von α -Tocopherol-Homologen mit beliebig variierbarer Seitenkette in der 2-Stellung des Chromanringsystems haben John u. Mitarb. angegeben. Das aus Durochinon leicht zugängliche 5,7,8-Trimethyl-6-oxy-3,4-dihydrocumarin wird mit einem Gemisch z. B. von Methylmagnesiumjodid und Dodecylmagnesiumbromid umgesetzt, wobei das gewünschte 2,5,7,8-Tetramethyl-2-dodecyl-6-oxy-chroman (XVIII) als

Hauptprodukt der Reaktion entsteht, das mit 60 mg als Antisterilitätsfaktor wirksam ist.



Noch niedere Homologe des α -Tocopherols, wie das 2,2,5,7,8-Pentamethyl-6-oxy-chroman (XIX) und das 2,5,7,8-Tetramethyl-6-oxy-chroman (XX), bei denen die Seitenkette in der 2-Stellung des Chromanringssystems völlig fehlt, sind von verschiedenen Bearbeitern auf verschiedenartigen Wegen synthetisiert worden. Sie besitzen in Dosen bis zu 100 mg keine Wirksamkeit als Antisterilitätsfaktoren.



VI. Andersartige synthetische Stoffe mit Vitamin-E-Wirksamkeit.

Als Fernholz aus α -Tocopherol das Durohydrochinon und John aus β -Tocopherol das Pseudocumohydrochinon isoliert hatten, vermuteten beide Autoren, daß die Tocopherole Monoäther dieser beiden pyrogenen Hydrochinone darstellten. Dies führte in allen an der Konstitutionsermittlung beteiligten Laboratorien dazu, solche Monoäther mit zunächst beliebigen Alkylteilen zu synthetisieren. Der Vergleich der synthetischen Produkte mit den natürlichen Tocopherolen ergab dann allerdings wesentliche Unterschiede. Überraschend war jedoch die Feststellung von v. Werder u. Moll (50), daß die Monoäther des Durohydrochinons wie auch die Monoäther des Pseudocumohydrochinons mit verschiedenen aliphatischen Alkylteilen eine deutliche Wirksamkeit als Antisterilitätsfaktoren im Rattentest entfalten können in Dosen von etwa 100 mg. Gleichzeitig beobachteten auch John u. Günther die Vitamin-E-Wirksamkeit des Dimethyl-tetrahydronaphthohydrochinon-mono-dodecyläthers mit 60—80 mg. Weitere Beobachtungen haben dann gezeigt, daß die Vitamin-E-Wirksamkeit sich in ganz unspezifischer Weise auch auf die in ihren Oxydationseigenschaften völlig verschiedenartigen Diäther des Durohydrochinons und des Pseudocumohydrochinons erstreckt; Durochinon selbst, wie auch verschiedene Hydrochinone, besitzen eine gewisse Vitamin-E-Wirksamkeit. Ob allerdings die Wirksamkeit dieser Produkte, die den Tocopherolen chemisch nur sehr entfernt verwandt sind, genau qualitativ der Vitamin-E-Wirksamkeit der Tocopherole gleichgesetzt werden darf, bedarf noch eingehender Prüfung. Bisher haben sich Unterschiede in der physiologischen Wirkungsweise nicht ergeben. Die Beobachtung, daß die Heilung der Resorptionssterilität meist nicht bei allen zum Versuch eingesetzten Tieren festgestellt werden kann, kann durch die vielleicht noch zu kleinen Dosen der verabfolgten Substanz gedeutet werden; Fütterung höherer Dosen wird von den Tieren jedoch meist schlecht vertragen.

Nach diesen Erfahrungen ist die Vitamin-E-Wirksamkeit weitgehend unspezifisch, sehr im Gegensatz zu der relativ großen Konstitutionsspezifität der bisher bekannten Vitamine. Die große Ausdehnung der Vitamin-E-Wirksamkeit über chemisch so verschiedenartige Substanzen kann daher eher mit der geringen Spezifität der östrogenen Stoffe in Analogie gesetzt werden. Eine genauere Abgrenzung der Vitamin-E-Spezifität ist jedoch noch ver-

früht, es ist vielmehr erforderlich, erheblich erweitertes experimentelles Material zu sammeln.

Schrifttum.

- (1) H. M. Evans u. K. J. Scott, Science, New York **56**, 650 [1922]; Amer. J. Physiol. **57**, 396 [1922]; H. M. Evans u. K. S. Bishop, J. Amer. med. Ass. **81**, 889 [1922]. — (2) H. M. Evans u. G. O. Burr, Memoirs Univ. California **8** [1927]. — (3) B. Sure, Science, New York **59**, 19 [1924]; J. biol. Chemistry **58**, 661, 693 [1924]; **62**, 371 [1925]. — (4) H. A. Mattill u. R. E. Conklin, ebenda **44**, 137 [1920]; **90**, 141 [1931]; J. Amer. med. Ass. **89**, 1505 [1927]; H. S. Olcott u. H. A. Mattill, J. biol. Chemistry **104**, 423 [1934]; J. Nutrit. **14**, 169 [1937]. — (5) J. C. Drummond, E. Singer u. R. J. Macwalter, Biochemical J. **29**, 456, 2510 [1935]; J. C. Drummond u. A. H. Hoover, ebenda **31**, 1852 [1937]. — (6) H. M. Evans, O. H. Emerson, G. A. Emerson, J. biol. Chemistry **113**, 319 [1936]. — (7) E. Fernholz, J. Amer. chem. Soc. **59**, 1154 [1937]; **60**, 700 [1938]. — (8) O. H. Emerson, ebenda **60**, 1741 [1938]; O. H. Emerson, G. A. Emerson, A. Mohamad u. H. M. Evans, J. biol. Chemistry **122**, 99 [1937]. — (9) R. A. Todd, F. Bergel, H. Waldmann u. T. S. Work, Nature, London **140**, 361 [1937]; F. Bergel, A. R. Todd u. T. S. Work, J. Soc. chem. Ind., Chem. & Ind. **56**, 1054 [1937]; J. chem. Soc. London **1938**, 253; F. Bergel, A. Jacob, A. R. Todd, T. S. Work, Nature, London **141**, 646 [1938]. — (10) W. John, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **250**, 11 [1937]; W. John, E. Dietzel u. Ph. Günther, ebenda **252**, 208 [1938]; Naturwiss. **26**, 366 [1938]; W. John, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **252**, 222 [1938]. — (11) P. Karrer, H. Fritzsche, B. H. Ringier u. H. Salomon, Helv. chim. Acta **21**, 520, 939 [1938]; Nature, London **141**, 1057 [1938]. — (12) J. Waddell, H. Steenbock u. E. van Donk, J. biol. Chemistry **80**, 431 [1928]; J. Nutrit. **4**, 79 [1931]. — (13) H. M. Evans u. G. O. Burr, Proc. Soc. exp. Biol. Med. **24**, 740 [1927]; **25**, 41, 390 [1928]. — (14) Kudrjaschov, Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **169**, 275 [1935]. — (15) K. E. Mason u. W. L. Bryan, Biochemical J. **32**, 1785 [1938]. — (16) A. L. Bacharach, E. Alchorne u. H. E. Glynn, ebenda **31**, 2287 [1937]; **32**, 1298, 2017 [1938]; Nature, London **142**, 35 [1938]. — (17) A. Juhasz-Schäffer, Virchow's Arch. pathol. Anat. Physiol. **281**, 35, 46, 53 [1931]; **282**, 662 [1931]; **286**, 834 [1932]. — (18) O. M. M. Barrie, Biochemical J. **32**, 21 [1938]. — (19) H. M. Evans u. G. O. Burr, J. biol. Chemistry **76**, 273 [1928]. — (20) A. Ringsted, Biochemical J. **29**, 788 [1935]. — (21) J. W. Rowland u. E. Singer, J. Physiology **86**, 323 [1936]. — (22) M. M. O. Barrie, Lancet **1937**, II, 251; Nature, London **139**, 386 [1937]. — (23) F. Ch. Geller u. Ch. Schuster, Arch. Gynäkol. **155**, 363 [1934]. — (24) E. Gierhake, ebenda **156**, 348 [1934]; **161**, 128 [1936]. — (25) E. Singer, J. Physiology **87**, 287 [1936]; Chr. Bomskow u. E. Schneider, Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **191**, 715 [1939]. — (26) Ch. M. Blumenfeld, Endokrinologie **18**, 367 [1934]. — (27) F. Verzár, Pflügers Arch. ges. Physiol. Menschen Tiere **227**, 499 [1931], vgl. Z. Vitaminforschung, **1**, 116 [1932]; F. Verzár u. E. Kokas, Pflügers Arch. ges. Physiol. Menschen Tiere **227**, 511 [1931]; F. Verzár, A. v. Arway u. E. Kokas, Biochem. Z. **240**, 19 [1931]. — (28) A. Szarka, Pflügers Arch. ges. Physiol. Menschen Tiere **223**, 657 [1929]. — (29) V. Demole, Z. Vitaminforschung, **8**, 338 [1939]. — (30) E. Shute, J. Obstetr. Gynaecol. Brit. Emp. **42**, 1071, 1085 [1935]; **43**, 74 [1936]. — (31) G. Grijns, Ber. ges. Physiol. exp. Pharmakol. **74**, 668 [1933]; Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam, Proc. **86**, 242 [1933]; Z. Vitaminforschung, **8**, 197 [1939]. — (32) M. Goetsch, Proc. Soc. exp. Biol. Med. **27**, 564 [1930]; E. L. Wood u. H. M. Hines, ebenda **86**, 746 [1937]. — (33) J. L. Wilson, B. H. Thomas u. C. Y. Cameron, J. Dairy Sci. **18**, 431 [1935]. — (34) G. Lunde, Z. Vitaminforschung, **8**, 97 [1938]; R. Lecoq, Allg. dtsch. Konserven-Ztg. **20**, 539 [1933]. — (35) V. Demole, Z. Vitaminforschung, **8**, 338 [1939]. — (36) P. Karrer u. M. Keller, Helv. chim. Acta **21**, 1161 [1938]. — (37) A. R. Moss u. J. C. Drummond, Biochemical J. **32**, 1953 [1938]. — (38) O. Isler, Helv. chim. Acta **21**, 1756 [1937]. — (39) F. P. Bowden u. T. Moore, Nature, London **181**, 512 [1933]; **182**, 204 [1933]; **184**, 214 [1934]. — (40) A. Emmerie u. Chr. Engel, Recueil Trav. chim. Pays-Bas **57**, 1351 [1938]; **58**, 283 [1939]. — (41) M. Furter u. R. Meyer, Helv. chim. Acta **22**, 240 [1939]. — (42) V. Demole, O. Isler, B. H. Ringier, H. Salomon u. P. Karrer, ebenda **22**, 65 [1939]. — (43) W. John, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **257**, 173 [1939]. — (44) O. H. Emerson, J. Amer. chem. Soc. **60**, 1741 [1938]. — (45) O. H. Emerson, G. A. Emerson, A. Mohamad u. H. M. Evans, Science, New York **83**, 421 [1936]; H. S. Olcott u. O. H. Emerson, J. Amer. chem. Soc. **59**, 1008 [1937]. — (46) F. Bergel, A. M. Copping, A. Jacob, A. R. Todd u. T. S. Work, Nature, London **142**, 36 [1938]; J. chem. Soc. London **1938**, 1382. — (47) L. J. Smith, H. E. Ugnade u. W. W. Pritchard, Science, New York **88**, 37 [1938]. — (48) P. Karrer u. H. Fritzsche, Helv. chim. Acta **21**, 1234, 1622 [1938]; **22**, 260, 654, 661 [1939]. — (49) F. Bergel, A. M. Copping, A. Jacob, A. R. Todd u. T. S. Work, J. chem. Soc. London **1939**, 542. — (50) W. John, Ph. Günther u. M. Schmeil, Ber. dtsh. chem. Ges. **71**, 2637 [1938]. — (51) F. v. Werder u. Th. Moll, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **254**, 39 [1938]; **257**, 129 [1939]. — (52) W. John u. Ph. Günther, ebenda **254**, 51 [1938].

[A. 43]