

viduen und ihrer Entwicklung als abgegrenzte Kleinkörper. Die Erscheinungen lassen sich hier in Anbetracht ihrer ausgesprochenen Reproduzierbarkeit schwerlich auf „triviale“ Zufälligkeiten zurückführen. Man wird ihnen aber kaum von anderer Seite beikommen können als in Verbindung mit dem Problem der Struktur des Kathodenfilms. Seine von vorneherein diskontinuierliche Beschaffenheit längs der Kathode ist vielleicht schon die primäre Grundlage für die Bildung somatoider Elemente auf der Kathodenfläche; auf jeden Fall ist deren Auftreten der morphologische Ausdruck für die Diskontinuität des Films während ihrer Entwicklung.

Es sei mir (*H. Eggenberger*) gestattet, in tiefer Dankbarkeit meines geschätzten und hochverehrten, leider viel zu früh dahingegangenen Lehrers *V. Kohlschütter* zu gedenken, dessen unermüdlicher Forschungsdrang und nie erlahmende Arbeitskraft mir immer ein leuchtendes Vorbild sein werden. Prof. Dr. *V. Kohlschütter* nahm regen und wohlwollenden Anteil an der vorliegenden Arbeit, die er tatkräftig unterstützte und förderte.

Für wertvolle Anregungen danke ich Herrn Prof. Dr. *H. W. Kohlschütter* (Darmstadt) und Herrn Dr. *K. Huber* (Bern) wärmstens.

Bern, Chemisches Institut der Universität,
Anorganische Abteilung.

40. Isolierung des Vitamins K in hochgereinigter Form¹⁾

von *H. Dam*, *A. Geiger*, *J. Glavind*, *P. Karrer*, *W. Karrer*, *E. Rothschild*
und *H. Salomon*.

(31. I. 39.)

Das antihaemorrhagische Vitamin K ist bisher insbesondere von *H. Dam* und Mitarbeitern sowie von *Almquist* und seinen Schülern studiert worden. Dabei konnten Präparate gewonnen werden, in denen nach dem Ausfall der biologischen Prüfung das aktive Prinzip erheblich angereichert war. Dagegen sind bisher keine charakteristischen chemischen oder physikalischen Eigenschaften des antihaemorrhagischen Faktors, wie Absorptionsspektrum, spez. Farbreaktionen usw. bekannt geworden. Die Angabe von *Doisy* und Mitarbeitern²⁾, sie hätten Vitamin K in kristallisierter Form isoliert, haben die Autoren selbst zurückgenommen.

Versuche zur Reindarstellung von Vitamin K wurden seinerzeit von einem von uns (*H. Dam*) begonnen. Jene Versuche fanden teils im Biochemischen Institut der Universität Kopenhagen und teils

¹⁾ Auszugsweise vorgetragen von dem einen von uns (*P. Karrer*) am 26. Januar 1939 in der Chem. Gesellschaft in Basel.

²⁾ Science **88**, 243 (1938).

— während einer Periode — auch im Chemischen Institut der Universität Zürich statt. Es wurde vereinbart, dass die Versuche mit dem Chemischen Institut der Universität Zürich gemeinsam aufgenommen werden sollten, sobald dieselben hinreichend fortgeschritten waren. In der letzten Zeit hat eine derartige Zusammenarbeit stattgefunden. Aus praktischen Gründen war es notwendig, die Arbeit so zu teilen, dass die chemischen Untersuchungen in Zürich stattfanden, während die biologischen Bestimmungen in Kopenhagen ausgeführt wurden. Diese Arbeiten haben nun in Zürich zur Isolierung des Vitamins K in reiner oder annähernd reiner Form geführt. Diese letztere Einschränkung ist deswegen zu machen, weil Vitamin K ein Öl ist, sodass die Kriterien für absolute Reinheit nicht so zuverlässig sind wie bei einem kristallisierten Körper.

Die Reinigung geschah durch ein Kombinationsverfahren von Molekulardestillationen und chromatographischen Trennungen, das später beschrieben werden soll. Wir wären wohl nicht zum Ziel gelangt, wenn wir nicht im Absorptionsspektrum der Fraktionen Maxima entdeckt hätten, deren Stärke der biologischen Aktivität der Präparate parallel ging und die uns nun dazu dienten, die weitere Reinigung des Vitamins zu kontrollieren. Nach sehr zahlreichen Reinigungsoperationen gewannen wir ein Präparat, das sich chromatographisch einheitlich verhielt und dessen Absorptionsspektrum in bezug auf die Höhe der Extinktionskoeffizienten bei weiteren chromatographischen Aufteilungen keine Änderung mehr erfuhr. Wir halten daher dieses Präparat für nahezu einheitlich.

Vitamin K ist ein sehr hellgelbes Öl. Das Absorptionsspektrum zeigt vier Maxima bei 248, 261, 270 und 328 $m\mu$ (vgl. Fig. 1). Der Extinktionskoeffizient $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ für die Wellenlänge 248 $m\mu$ betrug bei

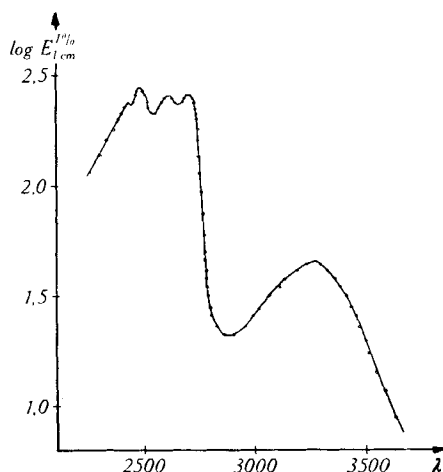


Fig. 1.

unserem besten Präparat 280. Das neue Vitamin ist durch eine charakteristische Farbenreaktion ausgezeichnet: fügt man zur alkoholischen Lösung des Vitamins eine solche von Natriumalkoholat, so bleibt die Flüssigkeit während einigen Sekunden hellgelblich, färbt sich aber hierauf tief violettblau. Diese Farbe schlägt nach einiger Zeit nach Rot um und geht dann allmählich in Braun über. Der Umstand, dass die Blaufärbung erst nach einigen Sekunden erscheint, beweist, dass sie nicht dem Vitamin K, sondern einem unter der Wirkung des Alkoholats entstandenen Derivat zuzuschreiben ist. Säuert man die unter der Wirkung des Alkoholats entstandene und bis zur braunen Phase ausgeblichene Lösung an, wobei Farbaufhellung erfolgt, und extrahiert mit Äther, so zeigt der Rückstand des Ätherextraktes im Spektrum die für Vitamin K charakteristischen Maxima nicht mehr, sondern Totalabsorption im Ultraviolett; diese Substanz besitzt auch keine Vitamin-K-Wirkung mehr.

Vitamin K besteht aus Kohlenstoff, Wasserstoff und Sauerstoff und ist stickstofffrei. Die Elementaranalyse unseres besten Präparates ergab

C 82,2 H 10,7%.

Nach dem Siedepunkt und der Molekulargewichtsbestimmung in Campher ist die aus der Analyse errechnete einfachste Verhältnisformel zu verdoppeln; die Verbindung enthält daher 2 Atome Sauerstoff in der Molekel. Die endgültige Formel muss aus der weiteren Untersuchung der Verbindung abgeleitet werden.

Bei der katalytischen Reduktion in Hexan wird Vitamin K zu einer Verbindung reduziert, deren Absorptionsspektrum die kurzwelligen Maxima 248, 261 und 270 $m\mu$ unverändert aufweist; dagegen ist die Bande 328 $m\mu$ verschwunden. Für das Absorptionsspektrum des Vitamins sind somit zwei Chromophore verantwortlich, von denen das eine durch Wasserstoff und Platin in Hexanlösung verändert wird.

Die Wirksamkeit unseres reinsten Vitamin K Präparates entspricht ca. 20 Millionen Einheiten pro Gramm, d. h. die Wirksamkeit ist rund 100 000 mal grösser als diejenige von getrockneter Alfalfa.

Die Arbeit wurde einerseits unterstützt von der *Josiah Macy Jr. Foundation*, andererseits von der *Jubiläumsspende für die Universität Zürich*. Beiden Donatoren sprechen wir unseren verbindlichsten Dank aus.

Als kristallisierte Nebenprodukte haben wir bisher aus den Alfalfaextrakten gewonnen:

- a) einen gesättigten Kohlenwasserstoff, Smp. 66—67°, wahrscheinlich Triakontan. (Die Analyse lässt zwischen $C_{30}H_{62}$ und den niedrigeren und höheren Homologen keine Entscheidung zu.)

$C_{30}H_{62}$	Ber. C 85,20	H 14,80%
	Gef. „ 85,04; 85,25	„ 14,82; 14,70%

b) Zwei isomere Sterine, die wir Medicagosterin I und Medicagosterin II nennen. Sie besitzen die Formel $C_{29}H_{48}O$ oder eine sehr ähnliche, wie sich aus der Analyse der Acetate und Dinitrobenzoate schliessen lässt. Die freien Sterine selbst enthalten $\frac{1}{2}$ Mol Krystallwasser, das beim Trocknen nicht entweicht.

Schmelzpunkte des	Medicagosterin I	Medicagosterin II
freien Sterins . . .	133°	164°
Acetats	120—121°	173°
3,5-Dinitrobenzoats	205°	195°

Analysen der Acetate:

$C_{31}H_{50}O_2$	Ber. C 81,87	H 11,09%
Medicagosterinacetat I	Gef. „ 81,74	„ 11,09%
Medicagosterinacetat II	Gef. „ 81,47	„ 11,27%

Analysen der Dinitrobenzoate:

$C_{36}H_{50}O_6N_2$	Ber. C 71,24	H 8,31	N 4,62%
Medicagosterin-			
dinitrobenzoat I	Gef. „ 71,34	„ 8,48	„ 4,66%
Medicagosterin-			
dinitrobenzoat II	Gef. „ 71,26	„ 8,28	„ 4,62%

Analysen der freien Sterine:

$C_{29}H_{48}O + \frac{1}{2} H_2O$	Ber. C 82,58	H 11,7%
Medicagosterin I	Gef. „ 82,68	„ 11,88%
Medicagosterin II	Gef. „ 82,83	„ 11,94%

Bestimmung der spez. Drehungen in Chloroform:

Medicagosterin I	$[\alpha]_D^{18} = \frac{-0,29 \times 16,53}{1 \times 1,52 \times 0,14} = -22,5^\circ$
Medicagosterin II	$[\alpha]_D^{18} = \frac{-0,035 \times 15,88}{1 \times 1,52 \times 0,151} = -2,4^\circ$

Zürich, Chemisches Institut der Universität und
Kopenhagen, Biochemisches Institut der Universität.