

Vitamine A, C und B₂

Konstitution und Konstitutionsspezifität der Wirkung¹

Von

PAUL KARRER

(Eingegangen am 21. 9. 1935. Vorgelegt in der Sitzung am 24. 10. 1935)

Im Jahre 1887 wies der Basler Physiologe BUNGE in seinem Lehrbuch der Physiologie und pathologischen Chemie eindrücklich auf Versuche von LUNIN aus dem Jahre 1881 hin, worin dieser Forscher gezeigt hatte, daß man Mäuse wohl mit Milch, nicht aber mit einer Mischung von gereinigtem Eiweiß, von Fetten, Kohlehydraten, Salzen und Wasser ernähren kann. BUNGE schreibt: „Dieses ist eine sehr beachtenswerte Tatsache. Mit Milch allein können die Tiere leben. Fügt man aber alle Bestandteile der Milch zusammen, welche nach der gegenwärtigen Lehre der Physiologie zur Erhaltung des Organismus erforderlich sind, so gehen die Tiere rasch zugrunde. Sollte der Milchzucker durch den Rohrzucker nicht vertretbar sein? Oder sind die anorganischen Bestandteile in der Milch an die organischen chemisch gebunden und nur in dieser Verbindung assimilierbar? Bei der Ausfällung des Käsestoffes durch Essigsäure war die kleine Albuminmenge der Milch in Lösung geblieben. Sollte dieses Albumin durch den Käsestoff nicht ersetzbar sein? Oder enthält die Milch außer Eiweiß, Fett und Kohlehydraten noch andere organische Stoffe, die gleichfalls für die Erhaltung des Lebens unentbehrlich sind? Es wäre lohnend, die Versuche fortzusetzen.“

Mit erstaunlichem Scharfsinn erscheint hier die Bedeutung des neuen Problems erkannt und mit größter Präzision die neue, der Physiologie gestellte Aufgabe umrissen. Es ist bekannt, wie die einige Jahre später einsetzenden experimentellen Untersuchungen solcher Mangelercheinungen durch ELJKMAN (1897) und durch HOPKINS (1906) und andere die Vitaminforschung zur Entfaltung brachten. Heute werden in der Literatur bereits zirka

¹ Diese Abhandlung wurde auf Wunsch der Redaktion der Monatshefte geschrieben.

12 Vitamine verzeichnet, von denen allerdings erst 5 in reinem oder nahezu reinem Zustand isoliert worden sind (A, B₁, B₂, C und D), während man die übrigen durch scharfsinnig ausgedachte Tierversuche glaubt nachgewiesen zu haben. Es kann wohl kein Zweifel bestehen, daß die Zahl dieser Ergänzungsfaktoren der Nahrung durch die zukünftige Forschung eine weitere Erhöhung erfahren und die Probleme des Stoffwechsels dadurch einer weiteren Komplizierung entgegengehen werden.

Im folgenden soll versucht werden, in einer kurzen Zusammenfassung die Konstitutionsaufklärung der Vitamine A, C und B₁, an der sich mein Laboratorium im Laufe der letzten Jahre beteiligt hat, zu schildern und die Frage der Konstitutionsspezifität dieser Faktoren zu diskutieren. Das Spezifitätsproblem physiologisch aktiver Substanzen gehört zum Reizvollsten, aber gleichzeitig Undurchsichtigsten, das dem Biochemiker begegnet. Aus der Fermentforschung ist die feine Abstimmung der Enzyme auf Konstitution und Konfiguration seit EMIL FISCHER genauer bekannt; in der Chemotherapie hat PAUL EHRlich die erstaunlich hohe Konstitutionsspezifität der antiparasitären Stoffe aufgedeckt. Daraus die Schlußfolgerung zu ziehen, daß die Wirkung aller physiologisch hochaktiven Verbindungen an eine ganz bestimmte Konstitution geknüpft ist, würde aber der Berechtigung entbehren. So haben die neueren Forschungen über das weibliche Sexualhormon (Follikulin etc.) ergeben, daß nicht nur eine ganze Reihe natürlich vorkommende, allerdings mehr oder weniger verwandte Substanzen (α -Follikelhormon, α -Follikelhormonhydrat, δ -Follikelhormon, Equilin, Hippulin, Equilenin) qualitativ ähnlich wirken, sondern auch viele synthetische Verbindungen, die jenen Follikulinen konstitutionell fern stehen, z. B. 1-Keto-1, 2, 3, 4-tetrahydrophenanthren, 9, 10-Dipropyl-1, 2, 5, 6-dibenzodihydroanthrachinol u. a. m.² Auch beim männlichen Sexualhormon scheint die Wirkung nicht an eine bestimmte Konstitution gebunden zu sein, indem sogar Substanzen mit anderem Kohlenstoffskelett aktiv befunden wurden³. Um so auffallender ist es, daß sich das Hormon des Corpus luteum (Progesteron) bisher durch keine verwandte Verbindung ersetzen ließ.

Die Frage der Konstitutions- und Konfigurationsspezifität der Vitamine stand daher von Beginn an offen und konnte nur

² COOK, DODDS, HEWETT u. LAWSON, Proc. Roy. Soc. London B. **114** (1934).

³ L. Ruzicka, GOLDBERG und J. MEYER, Helv. chim. Acta **18** (1935) 994.

durch das genaue Studium der betreffenden Verbindungsklassen eine Klärung erfahren.

Vitamin A.

Die Konstitutionserforschung des fettlöslichen Vitamins A nahm ihren Weg über die Aufklärung der Struktur des Carotins⁴. Und die Konstitutionserforschung des Carotins schloß sich unmittelbar an Untersuchungen über den Safranfarbstoff Crocetin⁵ an und nicht, wie dies bisweilen dargestellt wird⁶, an Arbeiten von R. KUHN und A. WINTERSTEIN über synthetische Diphenylpolyene⁷. Die letzteren Arbeiten fallen zeitlich mit der Erforschung des Crocetins zusammen und enthalten andererseits keinerlei Hinweise auf mögliche Beziehungen zu Carotinoiden. Ebenfalls unabhängig von den synthetischen Polyenarbeiten führten L. ZECHMEISTER, v. CHOLNOKY und VRABÉLY die katalytische Hydrierung des Carotins⁸ (und Xanthophylls) aus.

Für die Konstitutionsaufklärung des Carotins erwiesen sich insbesondere die Ergebnisse der Oxydation maßgebend⁴. Obwohl jene ersten Abbaureaktionen mit Carotinpräparaten ausgeführt worden sind, die man später als eine Mischung erkannte, führten sie zu keinen unrichtigen Schlußfolgerungen, da die eine Komponente (β -Carotin) in den Präparaten in überwiegender Menge enthalten war.

Durch gleichzeitige Untersuchungen von R. KUHN und LEDERER einerseits⁹ sowie P. KARRER, HELFENSTEIN, WEHRLI, PIEPER und MORF¹⁰ andererseits wurde festgestellt, daß die gewöhnlichen, kristallisierten Carotinpräparate aus den beiden Isomeren β -Carotin und α -Carotin bestehen, wobei das erstere stets stark überwiegt

⁴ P. KARRER, A. HELFENSTEIN, *Helv. chim. Acta* **12** (1929) 1142. — P. KARRER, HELFENSTEIN, WEHRLI, WETTSTEIN, *Helv. chim. Acta* **13** (1930) 1084. — P. KARRER, HELFENSTEIN, H. WEHRLI, PIEPER und MORF, *Helv. chim. Acta* **14** (1931) 614.

⁵ P. KARRER und H. SALOMON, *Helv. chim. Acta* **10** (1927) 397; **11** (1928) 513, 711, 1201.

⁶ Z. B. WILH. HALDEN, *Chem.-Ztg.* **59** (1935) 653.

⁷ *Helv. chim. Acta* **11** (1928) 87.

⁸ *Ber. dtsch. chem. Ges.* **61** (1928) 566.

⁹ *Naturwiss.* **19**, Nr. 14 (1931); *Ber. dtsch. chem. Ges.* **64** (1931) 1349.

¹⁰ *Helv. chim. Acta* **14** (1931) 614. — KARRER, v. EULER, HELLSTRÖM, *Ark. f. Kemi* Bd. **10** (1931) Nr. 15.

(60 bis gegen 100 %); ferner treten darin oft Spuren eines dritten Isomeren „ γ -Carotin“ auf.

Für die Trennung dieser nahe verwandten Verbindungen wurden verschiedene Methoden erprobt: fraktionierte Kristallisation¹¹, fraktioniertes Ausschütteln mit Methanol¹², fraktionierte Fällung mit Jod¹³, fraktionierte Adsorption (Fullererde)¹³ sowie die chromatographische Adsorptionsanalyse nach TSWETT^{12,14}. Nur das letztere Verfahren führt in befriedigender Weise zum Ziel. Und zwar erwies sich für präparative Zwecke die Wahl des richtigen Adsorbens als ausschlaggebend. Bei Verwendung von Kalziumhydroxyd als Adsorptionsmasse in der TSWETT-Säule gelingt es, β - und α -Carotin, die sich nur in der Lage einer Kohlenstoffdoppelbindung voneinander unterscheiden, in einer einzigen Operation zu trennen¹⁴. β -Carotin, als etwas stärker adsorbierbare Verbindung, findet sich im oberen Teil des Chromatogramms, dessen unteres, etwas heller gelb aussehendes Stück das α -Isomere enthält. Allfällig vorhandenes γ -Carotin wird in Form eines sehr schmalen Bandes in dem allerobersten Teil der Adsorptionssäule gefunden. Durch die Reinigung im Kalkchromatogramm konnte α -Carotin zum ersten Mal in ganz reinem Zustand isoliert werden¹⁴.

Die Konstitutionsformeln des α - und β -Carotins wurden aus den Produkten abgeleitet, die bei der Oxydation der Pigmente mit Kaliumpermanganat und mit Ozon auftreten¹⁵. Der Permanganatabbau des β -Carotins lieferte 1, 1-Dimethyl-glutarsäure, 1, 1-Dimethylbernsteinsäure, Dimethylmalonsäure sowie 4 Mol Essigsäure. Durch Ozon wurde Geronsäure gebildet, wodurch die Anwesenheit von β -Jononkohlenstoffringen sichergestellt war; da die aus 1 Mol β -Carotin erhaltene Geronsäuremenge doppelt so groß war als diejenige, die aus 1 Mol β -Jonon unter denselben Verhältnissen hervorgeht, so mußte β -Carotin 2 β -Jononringe enthalten. Aus diesen Abbauprodukten sowie der

¹¹ P. KARRER, HELFENSTEIN, WEHRLI, PIEPER, MORF, *Helv. chim. Acta* **14** (1931) 618.

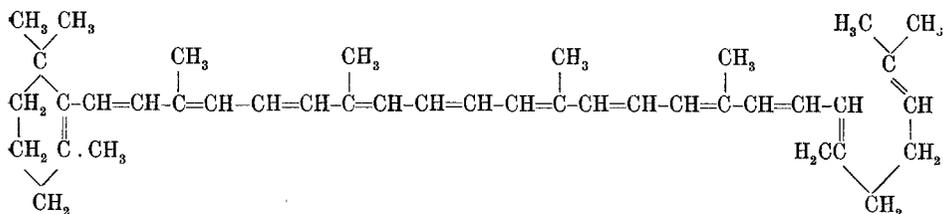
¹² R. KUHN und LEDERER, *Ber. dtsch. chem. Ges.* **64** (1931) 1349.

¹³ R. KUHN und BROCKMANN, *Hoppe-Seylers Z. physiol. Ch.* **200** (1931) 255.

¹⁴ P. KARRER und O. WALKER, *Helv. chim. Acta* **16** (1933) 641.

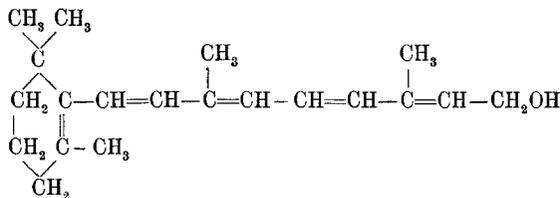
¹⁵ P. KARRER und Mitarbeiter, *Helv. chim. Acta* **13** (1930) 1084; **14** (1931) 614, 1033; **16** (1933) 975.

Für γ -Carotin wurde auf Grund der Hydrierungszahl (12 Doppelbindungen) sowie der Bildung von Azeton beim Ozonabbau Formel III aufgestellt¹⁹.

III γ -Carotin

Kurz nach der Konstitutionsaufklärung des β -Carotins ist es P. KARRER, R. MORF und K. SCHÖPP²⁰ gelungen, aus Vitamin-A-Präparaten, die aus dem Leberöl von *Hippoglossus hippoglossus* (Heilbutt) und *Scombrosox saurus* (Makrelenhecht) gewonnen und auf Analysenkonstanz gereinigt worden waren, durch Ozonabbau Geronsäure zu erhalten und damit das Vorkommen des unsubstituierten β -Jononkohlenstoffrings im A-Vitamin sicherzustellen. Durch die weitere Untersuchung des A-Vitamins und namentlich auch durch die Synthese seiner Perhydroverbindung²¹ wurde hierauf für dieses Vitamin Formel IV nachgewiesen,

IV A-Vitamin



die sich, wie ersichtlich, aufs engste an diejenigen des β -Carotins und α -Carotins anschließt.

¹⁹ KUHN und BROCKMANN, *Naturwiss.* **21** (1933) 44; *Ber. dtsch. chem. Ges.* **66** (1933) 407.

²⁰ *Helv. chim. Acta* **14** (1931) 1033, 1431.

²¹ P. KARRER, MORF und SCHÖPP, *Helv. chim. Acta* **16** (1933) 557. — KARRER und MORF, *Helv. chim. Acta* **16** (1933) 625.

Durch die Erkenntnis der nahen chemischen Verwandtschaft der Carotine und des A-Vitamins wurde der von H. v. EULER²² erbrachte Nachweis, daß Carotin Vitamin A im Tierversuch ersetzen kann, sowie die Feststellung von TH. MOORE²³ und H. v. EULER, daß Carotin im tierischen Organismus in Vitamin A übergeht, verständlich. In der Aufstellung der Konstitutionsformeln der beiden Carotine und des Vitamins A, der Erkenntnis ihrer nahen chemischen Verwandtschaft und in dem Nachweis der Provitaminatur des Carotins hat die Carotin- und Vitamin-A-Forschung ihre Grundlage. Die späteren Arbeiten auf diesem Gebiet, die sich mit der Entdeckung neuer Provitamine und Carotinoide befaßten, die sich, soweit sie 40 C-Atome enthalten, durchwegs als Substitutionsprodukte der Carotine erwiesen haben, können nur als ein *Ausbau* dieser Verbindungsklasse bezeichnet werden; allen diesen Forschungen diene die Kenntnis der α - und β -Carotin-formeln als Grundlage.

Vielleicht die unerwartetste und auffallendste Eigenschaft der Carotinstruktur ist der symmetrische Bau des Formelbildes, der durch eine Umstellung der Isoprenreste, aus denen Carotin besteht, in der Mitte der Molekel ausgelöst wird. In diesem „symmetrischen“ Bauprinzip unterscheiden sich Carotin und dessen Derivate von den früher bekannten Verbindungen der Terpenreihe. Im Squalen V, dessen synthetische Darstellung gelang²⁴, wurde aber ein analog konstituierter „symmetrisch“ gebauter Kohlenwasserstoff entdeckt

V



und auch für Crocetin VI und für Bixin VII konnten durch Totalsynthese ihrer Perhydroderivate die symmetrischen Formeln bewiesen werden²⁵

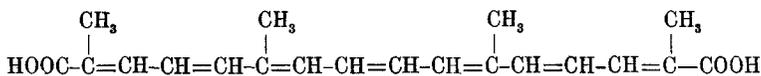
²² EULER, EULER und HELLSTRÖM, Sv. Kem. Tidskr. **40** (1928) 256; Biochem. Z. **203** (1928) 370. — EULER, KARRER und RYDBOM, Ber. dtsch. chem. Ges. **62** (1929) 2445.

²³ Lancet **217** (1929) 380; Biochem. J. **23** (1929) 803, 1267; **24** (1930) 692; **25** (1931) 275, 2131; **26** (1932) 1.

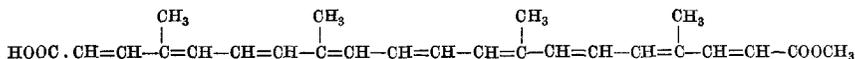
²⁴ P. KARRER und HELFENSTEIN, Helv. chim. Acta **14** (1931) 78.

²⁵ P. KARRER, BENZ, MORF, RAUDNITZ, STOLL und TAKAHASHI, Helv. chim. Acta **15** (1932) 1218, 1399. — P. KARRER, BENZ und STOLL, Helv. chim. Acta **16** (1933) 297.

VI

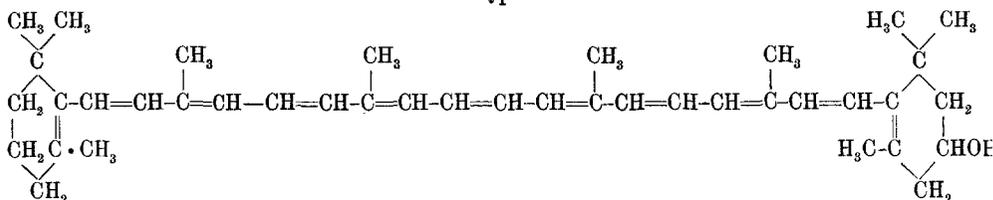


VII



Außer den 3 vorgenannten Carotinen (α , β , γ) hat man bisher in der Natur nur noch *ein* weiteres Provitamin des Vitamins A gefunden, das Kryptoxanthin VIII²⁶, ein Monohydroxyderivat des β -Carotins.

VIII Kryptoxanthin



Dagegen ist es gelungen, künstlich einige weitere Carotin-derivate herzustellen, die Vitamin A im Tierversuch ersetzen können, nämlich

β -Carotindijodid $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{J}_2$ ²⁷

Carotinoxid $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}$ ³¹

α -Carotindijodid $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{J}_2$ ²⁸

β -Oxycarotin $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}_2$ ³² (?)

Dihydro- β -carotin $\text{C}_{40}\text{H}_{58}$ ²⁹

β -Semicarotinon $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}_2$ ³³

Dihydro- α -carotin $\text{C}_{40}\text{H}_{58}$ ³⁰

Die 4 natürlichen Provitamine sowie die künstlich dargestellten haben alle gemeinsam, daß in ihnen die Atomgruppierung

²⁶ KUHN und GRUNDMANN, Ber. dtsch. chem. Ges. **66** (1933) 1746. — YAMAMOTO und TIN L. Sci. Pap. Inst. physic. chem. Res. **20** (1933) 411. — KARRER und SCHLIENTZ, Helv. chim. Acta **17** (1934) 55.

²⁷ EULER, KARRER und RYDBOM, Ber. dtsch. chem. Ges. **62** (1929) 2445.

²⁸ P. KARRER, SOLMSEN und WALKER, Helv. chim. Acta **17** (1934) 418.

²⁹ EULER, KARRER, HELLSTRÖM, RYDBOM, Helv. chim. Acta **14** (1931) 839.

³⁰ KARRER, EULER und HELLSTRÖM, Ark. Kem. Bd. **10** (1931) Nr. 15.

³¹ EULER, KARRER, WALKER, Helv. chim. Acta **15** (1932) 1507.

³² KUHN und BROCKMANN, Ber. dtsch. chem. Ges. **65** (1932) 894; **67** (1934) 1408.

³³ KUHN und BROCKMANN, Ber. dtsch. chem. Ges. **66** (1933) 1319.

Formeln erkennen lassen, ist die charakteristische Atomgruppierung, die dem Vitamin A und den natürlichen Provitaminen zugrunde liegt, nur im wirksamen β -Semicarotinon enthalten, im α -Semicarotinon nicht. Letzteres enthält einen α -Jononkohlenstoffring.

Mit diesen Ergebnissen befindet sich die Tatsache in Übereinstimmung, daß von den 4 natürlichen A-Provitaminen β -Carotin wirksamer ist³⁶ als α - und γ -Carotin und Kryptoxanthin; ersteres führt in seinem Molekül die Atomgruppierung, die in Vitamin A übergeht, zweimal, in den anderen 3 Carotinoiden kommt sie nur einmal vor. Man kann daraus die Schlußfolgerung ziehen, daß es kein „ α -Vitamin A“ geben kann.

Wir können heute nicht nur die Strukturformeln des Vitamins A und seiner Provitamine, sondern wir besitzen auch einen recht guten Einblick in die strukturellen Bedingungen, die erfüllt sein müssen, damit ein Carotinoide im Tierkörper zum A-Faktor abgebaut wird. Über welche Zwischenstufen der Abbau verläuft, ist noch unbekannt.

Vitamin C.

Um die Konzentrierung und Reinigung des antiskorbutischen Faktors hat sich vor dessen Isolierung durch SZENT-GYÖRGYI vor allem C. ZILVA mit seiner Schule große Verdienste erworben. Ihm gelang bereits der Nachweis, daß C-Vitamin stickstofffrei ist und nach den Ergebnissen der Dialysiersversuche ungefähr das Molekulargewicht einer Hexose besitzen muß. Seine Reinigungsverfahren des C-Faktors wurden hierauf insbesondere durch C. G. KING weiter verbessert. Durch die Arbeiten von ZILVA und BEZSSONOFF wurden auch die stark reduzierenden Eigenschaften antiskorbutischer Lösungen bekannt.

Vom Jahre 1930 ab verfolgte J. TILLMANS³⁷ in einer Reihe von Arbeiten die starken Reduktionswirkungen antiskorbutischer Präparate. Sie führten ihn zu der Auffassung, daß diese Reduktionswirkung, die sich z. B. gegenüber 2, 6-Dichlorphenolin-

³⁶ KARRER, H. v. EULER und HELLSTRÖM, Sv. Vet. Akad. Arkiv. Kemi Bd. 10 (1931) Nr. 15.— KUHN und BROCKMANN, Klin. Woch. 12 (1933) 972.— H. v. EULER, KARRER, ZUBRYS, Helv. chim. Acta 17 (1933) 24.

³⁷ Z. Unters. Lebensmitt. 60 (1930) 34; 63 (1932) 1, 21, 241, 267, 276; 64 (1932) 11; 65 (1933) 145.— Biochem. Z. 250 (1932) 312.

dophenol äußert, eine Eigenschaft des C-Vitamins selbst ist. 1932 teilte SZENT-GYÖRGYI mit³⁸, daß die sogenannte „Hexuronsäure“, die er vier Jahre früher schon in kristallisiertem Zustand aus Nebenierenrinde isoliert hatte³⁹, antiskorbutische Wirkung besitzt und mit C-Vitamin identisch ist. Dadurch fand eine kurz vorher⁴⁰ geäußerte Vermutung von TILLMANS über die Identität der beiden Substanzen ihre Bestätigung. Das kristallisierte C-Vitamin erhielt später die Bezeichnung Ascorbinsäure.

Die merkwürdigen Eigenschaften der Verbindung, die manche an anderen Substanzen vorher kaum beobachteten Reaktionen zeigt, führten bei der Untersuchung ihrer Konstitution vielfach zu Trugschlüssen und bewirkten, daß sich das richtige Konstitutionsbild erst allmählich herausarbeiten ließ. Zur Aufklärung der Struktur haben hauptsächlich die folgenden Beobachtungen beigetragen:

Ascorbinsäure besitzt die Bruttoformel $C_6H_8O_6$ ⁴¹. Sie ist eine einbasische Säure und liefert ein kristallisiertes Natriumsalz $C_6H_7O_6Na$, also ohne Öffnung eines Laktonringes⁴². Mit Tritylchlorid ließ sich aus ihr eine Monotrityl-Verbindung gewinnen⁴³, woraus die Anwesenheit einer primären Alkoholgruppe geschlossen wurde; diese Schlußfolgerung kann allerdings heute nicht mehr als zwingend angesehen werden, da auch nicht-primäre Hydroxyle gelegentlich mit Tritylchlorid in Umsatz treten. Oxydiert man Ascorbinsäure in saurer Lösung mit Jod oder Kupferazetat, so wird ein Dehydrierungsprodukt $C_6H_6O_6$ erhalten⁴², aus dem sich durch Reduktionsmittel Ascorbinsäure zurückgewinnen läßt. Die Verbindung ist neutral; durch die Dehydrierung wird somit die saure Natur der Ascorbinsäure aufgehoben⁴⁴. Diazomethan führt Ascorbinsäure in ein Dimethylderivat über, das nicht mehr sauer reagiert und kein Reduktionsvermögen besitzt^{42, 45}.

Das erste größere Spaltstück wurde aus der Verbindung

³⁸ Nature 16. April (1932) S. 576.

³⁹ Nature 28. Mai 1927. — Biochem. J. 22 (1928) 1387.

⁴⁰ Z. Unters. Lebensmitt. 63 (1932) 20, 275.

⁴¹ Nature 28. Mai 1927. — Biochem. J. 22 (1928) 1387.

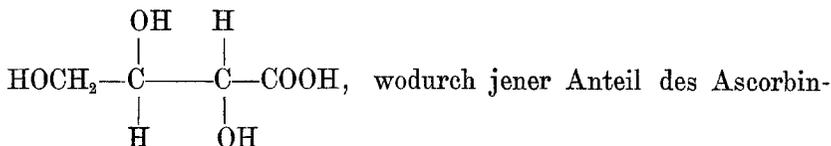
⁴² P. KARRER, H. SALOMON, R. MORF und K. SCHÖPP, Biochem. Z. 258 (1933) 5. — Vierteljahrsschr. Naturf. Ges. Zürich 78 (1932) 9.

⁴³ VARGHA, Biochem. Z. 258 (1933) 4.

⁴⁴ E. L. HIRST, Soc. Chem. Ind. 52 (1933) 221.

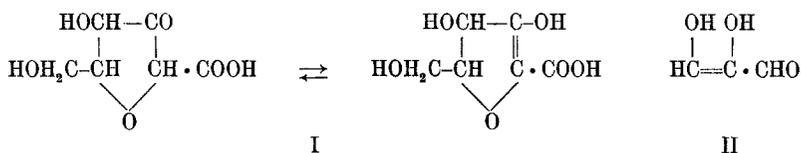
⁴⁵ MICHEEL und KRAFT, Hoppe-Seylers Z. physiol. Ch. 215 (1933) 215.

bei stärkerer Oxydation erhalten. Nach HIRST und Mitarbeitern bildeten sich dabei Oxalsäure und l-Threonsäure⁴⁶



säuremoleküls, welcher die primäre Hydroxylgruppe führt, festgelegt war.

Bis zu diesem Zeitpunkt wurden für C-Vitamin hauptsächlich offene Formulierungen diskutiert. MICHEEL und KRAFT⁴⁷ schlugen hierauf, gestützt auf die Ergebnisse des Ozonabbaus des Dimethylascorbinsäure-di-p-nitrobenzoeesters, die zyklische Formel I für C-Vitamin vor:



Gegen dieses Bild sprach aber u. a., daß in diesem Fall das primäre Dehydrierungsprodukt der Ascorbinsäure kein Neutralkörper sein könnte.

Die heute allgemein anerkannte Ascorbinsäureformel III wurde durch eine Arbeit von HIRST, PERCIVAL und SMITH⁴⁸ begründet und unabhängig davon fast zur gleichen Zeit auch von H. v. EULER und MARTIUS⁴⁹ auf Grund der analogen Eigenschaften, die sie an ihr und am „Redukton“ (Formel II) feststellten, vorgeschlagen. Der Konstitutionsbeweis von HIRST und Mitarbeitern wurde durch den oxydativen Abbau des vollständig methylierten C-Vitamins geführt. Dabei erhielten sie eine Dimethyl-l-threonsäure, deren freies Hydroxyl den Ort angibt, an dem der Anhydroring in der Ascorbinsäure ursprünglich angeschlossen war. Der isolierten Säure kommt Formel V zu, denn ihr Amid gab beim WEERMANN^{SCHEN} Abbau einen positiven Ausfall (Natriumcyanat), während die isomere Säure mit methylierter

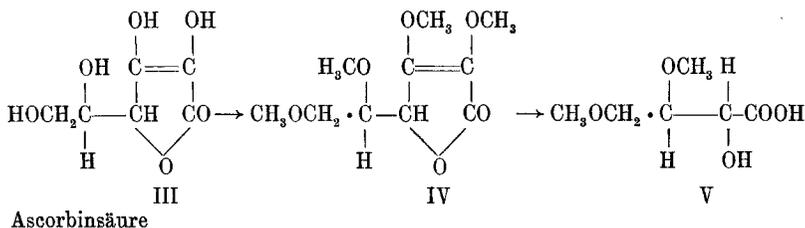
⁴⁶ HIRST, Nature **130** (1932) 888. — Soc. Chem. Ind. **52** (1933) 221.

⁴⁷ Hoppe-Seylers Z. physiol. Ch. **215** (1933) 215.

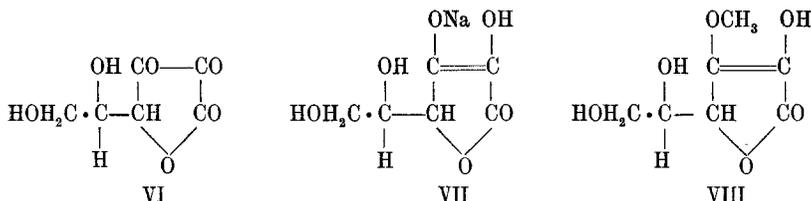
⁴⁸ Nature **131** (1933) 617. Vgl. auch Soc. Chem. Ind. **52** (1933) 221.

⁴⁹ Arkiv f. Kemi B **11** (1933) Nr. 14.

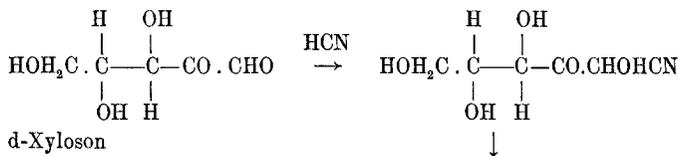
α-Stellung eine negative Reaktion hätte ergeben müssen. So erlaubte dieses Abbauprodukt, für Ascorbinsäure Formel III und für ihr Methylierungsprodukt IV aufzustellen:



Die sauren Eigenschaften der Ascorbinsäure werden durch deren Endiol-Gruppierung hervorgerufen (dasselbe ist der Fall beim Redukton [II]), ebenso ist diese für das starke Reduktionsvermögen der Verbindung verantwortlich. Das primäre, reversible Dehydrierungsprodukt C₆H₆O₆ (KARRER) hat die Struktur VI. Die Enolgruppe in Stellung 3 ist die saure; sie wird bei der Bildung des neutralen Natriumsalzes abgesättigt (VII) und bei kurzer Behandlung mit Diazomethan zuerst methyliert (VIII) ⁵⁰

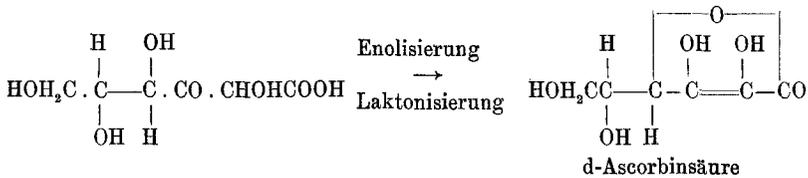


Die Richtigkeit der aufgestellten Ascorbinsäureformel (III) findet in den Synthesen der Verbindung eine Bestätigung. Zuerst gelang T. REICHSTEIN, A. GRÜSSNER und R. OPPENAUER ⁵¹ die künstliche Herstellung der d-Ascorbinsäure, d. h. des Antipoden der natürlichen Form. Auf d-Xylosen wurde Blausäure zur Einwirkung gebracht und hernach das Cyanhydrin mit verdünnter Mineralsäure verseift; die Reaktion läßt sich folgenderweise formulieren:



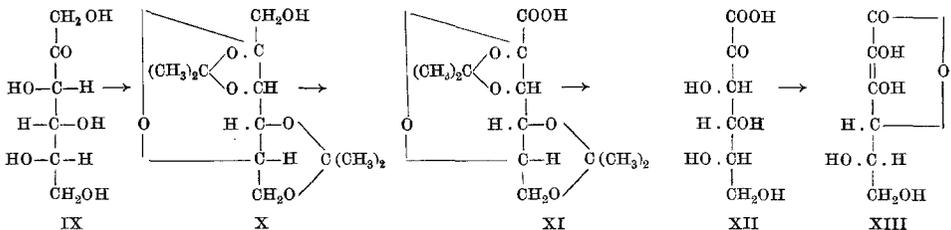
⁵⁰ T. REICHSTEIN, A. GRÜSSNER und R. OPPENAUER, *Helv. chim. Acta* **17** (1934) 510.

⁵¹ *Helv. chim. Acta* **16** (1933) 561.



In prinzipiell gleicher Weise stellten hierauf REICHSTEIN und Mitarbeiter⁵² sowie W. N. HAWORTH, E. L. HIRST und Mitarbeiter⁵³ aus l-Xyloson die l-Ascorbinsäure her, die sich mit dem Naturprodukt identisch erwies.

Später fanden REICHSTEIN und GRÜSSNER⁵⁴ eine neue Synthese auf, die mit der leicht zugänglichen l-Sorbose als Ausgangsmaterial arbeitet und gute Ausbeute an l-Ascorbinsäure liefert, so daß das Verfahren heute industriell zur Gewinnung dieses Vitamins angewandt wird. Durch Einwirkung von Azeton auf l-Sorbose (IX) gewinnt man die Diazetonsorbose (X); diese gibt bei der Oxydation die Karbonsäure XI, aus der sich die Azetonreste leicht hydrolytisch abspalten lassen. Die Ketosäure (XII) erfährt beim Erhitzen mit Mineralsäure gleichzeitig Enolisierung und Laktonisierung, so daß als Produkt dieser Reaktion die l-Ascorbinsäure (XIII) resultiert:



Schließlich ist MICHEEL⁵⁵ über l-Sorbose und 2 Keto-l-gulonsäure eine weitere ähnliche Synthese des C-Vitamins gelungen.

Nach Methoden, die den beiden ersten Ascorbinsäuresynthesen nachgebildet sind, konnten HAWORTH, HIRST und Mitarbeiter sowie REICHSTEIN und Mitarbeiter eine Reihe ascorbin-

⁵² Helv. chim. Acta **16** (1933) 1019. — Nature **131** (1933) 280.

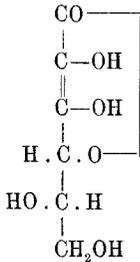
⁵³ Soc. Chem. Ind. **52** (1933) 645. — J. chem. Soc. London **1933**, 1419.

⁵⁴ Helv. chim. Acta **17** (1934) 311.

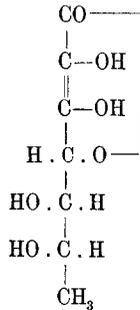
⁵⁵ Naturwiss. **22** (1934) 206. — Hoppe-Seylers Z. physiol. Ch. **225** (1934) 13.

säureähnlicher Verbindungen aufbauen, die mit dem C-Vitamin die charakteristische Endiol-Gruppe gemeinsam haben, sich von ihm aber in der Konfiguration oder Einzelheiten der Konstitution unterscheiden. Diese Substanzen haben sich teils als antiskorbutisch unwirksam erwiesen, teils als wirksam, wenn auch in geringerem Grade als L-Ascorbinsäure.

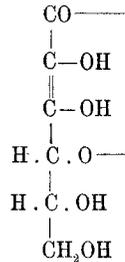
Als aktiv wurden befunden:



L-Ascorbinsäure

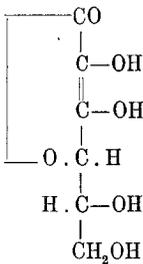


L-Rhamnoascorbinsäure
6-Methyl-l-arabo-
3-keto-hexonsäurelaktone⁵⁶

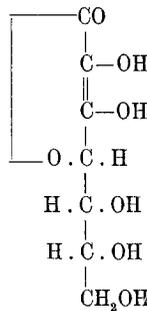


D-Arabo-ascorbinsäure⁵⁷
D-Erythro-3-keto-
hexonsäurelaktone

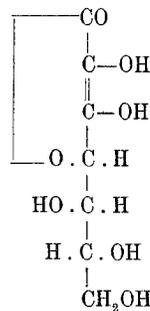
Antiskorbutisch unwirksam waren beispielsweise:



D-Ascorbinsäure



D-Gluko-ascorbinsäure,^{58, 59}
D-Arabo-3-keto-hepton-
säure-laktone



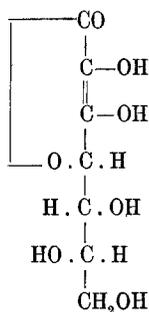
D-Galacto-ascorbinsäure,^{58, 59}
D-Lyxo-3-ketohepton-
säure-laktone

⁵⁶ REICHSTEIN, SCHWARZ, GRÜSSNER, *Helv. chim. Acta* **18** (1935) 353.

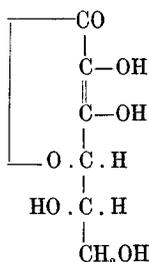
⁵⁷ OHLE, *Z. angew. Ch.* **46** (1933) 399. — *Ber. dtsch. chem. Ges.* **67** (1934) 324. — MAURER und SCHIEDT, *Ber. dtsch. chem. Ges.* **66** (1933) 1054. — REICHSTEIN, GRÜSSNER, OPPENAUER, *Helv. chim. Acta* **17** (1934) 510.

⁵⁸ HAWORTH, HERBERT, HIRST, SMITH, STACEY, *J. chem. Soc. London* **1934**, 62.

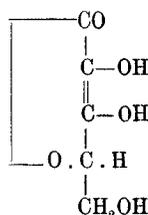
⁵⁹ REICHSTEIN, GRÜSSNER und OPPENAUER, *Helv. chim. Acta* **17** (1934) 510.



l-Gulo-ascorbinsäure⁵⁹
 l-Xylo-3-keto-hepton-
 säure-lakton



l-Arabo-ascorbins.^{58, 59}
 l-Erythro-3-keto-hexon-
 säure-lakton



l-Erythroascorbins.⁶⁰
 l-3-Keto-penton-
 säure-lakton

Ein Vergleich der Formelbilder der antiskorbutisch aktiven und inaktiven Ascorbinsäure-ähnlichen Verbindungen läßt erkennen, daß alle wirksamen Produkte am vierten C-Atom d-Konfiguration besitzen (Sauerstoffbrücke liegt rechts der Kohlenstoffkette); in den antiskorbutisch unwirksamen Substanzen hat das vierte C-Atom l-Konfiguration. Es scheint demnach, daß solche Endiol-karbonsäure-laktone nur dann Skorbut zu heilen vermögen, wenn das vierte C-Atom in der Kette in der d-Konfiguration vorliegt (REICHSTEIN). Dagegen besitzt die konstitutive und konfigurative Ausbildung der Molekel am fünften und allfällig folgenden C-Atomen auf die biologische Wirksamkeit der Substanz nur sekundären Einfluß, der sich noch in dem Sinn auswirkt, daß höhere oder geringere Dosen zur Erzielung von Heilwirkung notwendig sind.

Es liegt hier somit eine ausgesprochene Konfigurations-spezifität der Wirkung vor.

Wie erwähnt wurde, läßt sich Ascorbinsäure reversibel zur Dehydroascorbinsäure dehydrieren und es besteht heute die Meinung, daß ihre Wirkung im tierischen Organismus mit der Bildung eines solchen Redoxsystems zusammenhängt. Sicherlich könnte diese Annahme aber nur einen Teil der Erscheinungen deuten. Die als antiskorbutisch unwirksam erkannten Verwandten verhalten sich reduktiv durchaus analog, ohne aber die Heilwirkung zu besitzen. Ascorbinsäure wird sich daher zweifellos nicht nur als ein Regulator der Redoxpotentiale in der Zelle betätigen,

⁵⁸ HAWORTH, HERBERT, HIRST, SMITH, STACEY, J. chem. Soc. London **1934**, 62.

⁵⁹ REICHSTEIN, GRÜSSNER UND OPPENAUER, Helv. chim. Acta **17** (1934) 510.

⁶⁰ REICHSTEIN, Helv. chim. Acta **17** (1934) 1003.

sondern sie muß noch spezifisch in besondere chemische Reaktionen eingreifen, die wir bisher nicht kennen. In diesem Zusammenhang verdient noch die Beobachtung Erwähnung, daß die Wirksamkeit mancher Fermente (z. B. des Kathepsins, der Arginase, Phosphatase, Weizenamylase etc.) durch die Anwesenheit von Ascorbinsäure gesteigert oder in anderen Fällen gehemmt werden kann⁶¹. Aber dieser Einfluß der Ascorbinsäure ist kein spezifischer, da viele andere Verbindungen, die konstitutiv mit Ascorbinsäure nichts zu tun haben, ähnliche Einflüsse ausüben, z. B. Eisensalze, H₂S, Glutathion usw. Vermutlich beruht die Wirkung aller dieser Substanzen auf die Fermenttätigkeit darauf, daß sie ein Redoxsystem erzeugen, das die Enzymwirkung in einen Fall begünstigt, in anderen Fällen auch schwächen kann.

Die Rolle, welche die Ascorbinsäure im Stoffwechsel spielt, bleibt nach wie vor ein offenes Problem.

Vitamin B₂.

WARBURG und CHRISTIAN⁶² isolierten im Jahre 1932 aus Hefe eine gelbe, hochmolekulare Verbindung, das sogenannte gelbe Oxydationsferment, welches bei Gegenwart eines Co-Fermentes und eines Zwischenfermentes Dehydrierungen durch Luft-sauerstoff ermöglicht. Dieselben Forscher stellten gleichzeitig fest, daß dieses Ferment durch Belichtung in alkalischem Medium in ein anderes, in Chloroform lösliches und gut kristallisierendes Pigment verwandelt wird, welches in der Folgezeit die Bezeichnung Lumiflavin erhielt und sich als ein Abbauprodukt des gelben Fermentes erwies.

Im folgenden Jahr isolierten ELLINGER und KOSCHARA⁶³ sowie R. KUHN, GYÖRGY und WAGNER-JAUREGG⁶⁴ aus Milch bzw. Eiweiß gelbe, wasserlösliche Farbstoffe, die als Flavine und Lyochrome bezeichnet wurden. Während die Präparate von ELLINGER und KOSCHARA noch uneinheitlich waren, lag in der von KUHN und Mitarbeitern aus Eiweiß abgeschiedenen Verbindung ein kristallisierter, annähernd reiner Stoff vor, der zunächst den Namen Ovoflavin erhielt. Als sich später das aus Milch gewonnene

⁶¹ P. KARRER und F. ZEHENDER, *Helv. chim. Acta* **16** (1933) 701. — H. v. EULER, P. KARRER und ZEHENDER, *Helv. chim. Acta* **17** (1934) 157.

⁶² *Naturwiss.* **20** (1932) 688, 980. — *Biochem. Z.* **254** (1932) 438; **257** (1933) 492.

⁶³ *Ber. dtsch. chem. Ges.* **66** (1933) 315.

⁶⁴ *Ber. dtsch. chem. Ges.* **66** (1933) 317.

Flavin⁶⁵ mit Ovocflavin als identisch erwies, wurde der Name Laktocflavin für die Substanz gebräuchlich.

Diesem Laktocflavin kommt, wie KUHN, GYÖRGY und WAGNER-JAUREGG⁶⁶ erkannten, im Tierversuch die Fähigkeit zu, bei der durch Hefekochsafft ergänzten BOURQUIN-SHERMAN-Diät das Wachstum junger Ratten zu ermöglichen, d. h. es ist mit dem wasserlöslichen Zuwachsfaktor identisch, dem man schon früher die Bezeichnung Vitamin B₂ gegeben hatte.

Präparate, die mit Laktocflavin identisch zu sein scheinen, konnten hierauf aus verschiedenen anderen Ausgangsmaterialien isoliert werden, so aus Leber⁶⁷, Eigelb⁶⁸, Löwenzahnblüten⁶⁹, Malz⁷⁰, Gras⁷¹, der Retina von Schellfischaugen⁷², Niere⁷³ usw. Damit war die weite Verbreitung des Laktocflavins im Pflanzen- und Tierreich sichergestellt.

Für die Konstitutionsaufklärung des Laktocflavins erwiesen sich insbesondere die Produkte wichtig, die beim photochemischen Abbau der Verbindung entstehen. Während, wie erwähnt wurde, Laktocflavin in alkalischer Lösung dem WARBURG^{SCHEN} Lumiflavinabbau unterliegt, beobachteten KARRER und Mitarbeiter⁷⁴ in neutralem Medium eine andere Lichtspaltungsreaktion, bei welcher sich ein gut kristallisierter, nur sehr schwach gelblich gefärbter Körper bildet, das Lumichrom. Letzteres entsteht auch bei der alkalischen Laktocflavin-Photolyse als Nebenprodukt.

Lumichrom wurde von P. KARRER, H. SALOMON, K. SCHÖPP, E. SCHLITTLER und H. FRITZSCHE⁷⁴ als 6,7-Dimethyl-alloxazin erkannt und mit einem synthetischen Präparat identifiziert. Ungefähr gleichzeitig klärten KUHN, REINEMUND und WEYGAND⁷⁵ auch die Konstitution des Lumiflavins durch dessen Synthese auf; in diesem liegt das 6,7,9-Trimethylisoalloxazin vor.

⁶⁵ R. KUHN, P. GYÖRGY und TH. WAGNER-JAUREGG, Ber. dtsch. chem. Ges. **66** (1933) 1034. — R. KUHN, H. RUDY und TH. WAGNER-JAUREGG, Ber. dtsch. chem. Ges. **66** (1933) 1950.

⁶⁶ Naturwiss. **21** (1933) 560; Ber. dtsch. chem. Ges. **66** (1933) 1034.

⁶⁷ P. KARRER, SALOMON und SCHÖPP, Helv. chim. Acta **17** (1934) 419. — Vgl. auch K. G. STERN, Nature **132** (1933) 784.

⁶⁸ P. KARRER, K. SCHÖPP, Helv. chim. Acta **17** (1934) 735.

⁶⁹ P. KARRER, K. SCHÖPP, Helv. chim. Acta **17** (1934) 771.

⁷⁰ P. KARRER, K. SCHÖPP, Helv. chim. Acta **17** (1934) 1013.

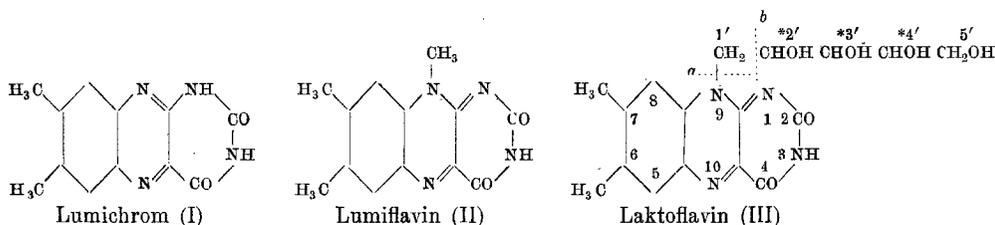
⁷¹ KUHN und KALTSCHMITT, Ber. dtsch. chem. Ges. **68** (1935) 128.

⁷² P. KARRER, H. v. EULER, K. SCHÖPP, Ark. f. Kemi Bd. **11** (1935) B. Nr. 54.

⁷³ GUHA und BISWAS, Current Science **2** (1934) 474.

⁷⁴ Helv. chim. Acta **17** (1934) 1010.

⁷⁵ Ber. dtsch. chem. Ges. **67** (1934) 1460.



Wir⁷⁶⁾ schlugen daher für Laktoflavin die Konstitutionsformel eines 6,7-Dimethyl-tetraoxy-pentyl-isoalloxazins (III) vor, in dem die von R. KUHN durch Azetylierung im Laktoflavin nachgewiesenen vier Hydroxylgruppen enthalten sind. Aus diesem kann durch Photolyse bei *a* Lumichrom, durch Lichtspaltung bei *b* Lumiflavin entstehen⁷⁷.

Der Mechanismus der Lumichromspaltung wurde an einer größeren Zahl zu diesem Zweck hergestellter Flavine untersucht^{76, 78}, doch konnte er vorläufig nicht eindeutig geklärt werden. Lumichromabbau tritt nur ein, wenn die in 9-Stellung befindliche Seitenkette des Flavins freie Hydroxyle enthält; Tetrazetyl-laktoflavin, Lumiflavin und ähnliche Verbindungen erwiesen sich in neutraler Lösung in nützlicher Zeit gegen Licht beständig. Besonders leicht findet die Photolyse statt, wenn die Seitenkette ein primäres oder sekundäres Hydroxyl in Stellung 2' enthält; Flavine, deren Seitenketten erst in 3'-Stellung durch eine Alkoholgruppe substituiert sind, können zwar ebenfalls allmählich zu Lumichrom resp. analogen Alloxazinen durch Licht abgebaut werden, aber die Reaktion erfordert längere Zeit. Vermutlich wird die Photolyse durch einen Dehydrierungsvorgang eingeleitet⁷⁹, der an den Hydroxylgruppen einsetzt und zu unbeständigen Zwischenprodukten führt, die sekundär dem Zerfall unter Bildung von Alloxazinen unterliegen.

Die Laktoflavinformel enthält in der Seitenkette drei asymmetrische C-Atome, welche die Existenz von acht Stereoisomeren voraussehen lassen. Es ist bisher durch Abbaureaktionen des Flavins nicht möglich gewesen, die aliphatische Seitenkette in Form eines größeren, charakteristischen Spaltstückes abzutrennen

⁷⁶ Helv. chim. Acta 17 (1934) 1010.

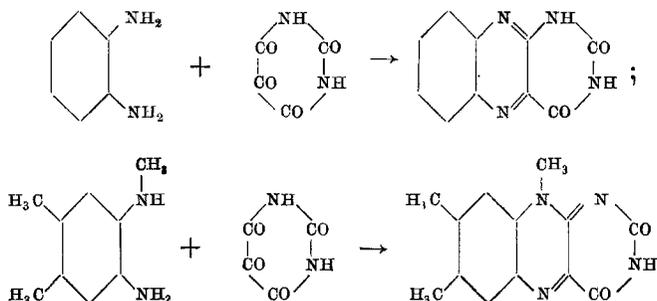
⁷⁷ Helv. chim. Acta 17 (1934) 1010, 1165.

⁷⁸ Helv. chim. Acta 18 (1935) 266, 1126.

⁷⁹ Vgl. dazu auch W. KOSCHARA, Hoppe-Seylers Z. physiol. Ch. 229 (1934) 103.

und damit auf diesem Weg ihre Konfiguration aufzuklären. Infolgedessen mußte versucht werden, ihre Natur durch die Synthese des Laktoflavins zu erschließen.

Für die Synthese von Alloxazinen ist seit langem das Verfahren von KÜHLING bekannt⁸⁰, welches in der Kondensation aromatischer Ortho-Diamine mit Alloxan besteht. Zwecks Synthese des Lumiflavins wurde diese Methode von R. KUHN, REINEMUND und WEYGAND⁸¹ auf N-Methyl-o-xylylendiamin übertragen, welches sich ganz analog dem o-Phenylendiamin mit Alloxan in saurer Lösung kondensieren läßt. Das Reaktionsprodukt ist in diesem Fall das 6, 7, 9-Trimethyl-isoalloxazin



N-Alkyl-o-phenylendiamine lassen sich unschwer aus o-Nitrochlorbenzol und ähnlichen Ausgangsmaterialien durch Umsatz mit Aminen bereiten. Auch Amino-äthanol und Amino-propandiol $H_2NCH_2CHOHCH_2OH$ konnten in dieser Weise noch leicht in den Benzolkern eingeführt werden⁸², so daß sich die Ausgangsmaterialien für die Synthese des 9-Oxyäthyl-isoalloxazins⁸³ und 9-Dioxypropyl-isoalloxazins⁸² leicht beschaffen ließen.

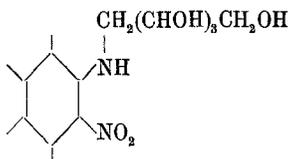
Schwierigkeiten traten aber auf, als man versuchte, Amino-zucker, z. B. Arabamin $H_2N \cdot CH_2(CHOH)_3CH_2OH$, die selbst zum Teil recht schwierig zugänglich sind, mit o-Nitro-halogenbenzol und dessen Derivaten umzusetzen, um zu Flavinen mit längerer Seitenkette und mehr Hydroxylgruppen zu gelangen. Die Ausbeuten an den gesuchten Verbindungen

⁸⁰ Ber. dtsh. chem. Ges. **24** (1891) 2363, **27** (1894) 2116, **28** (1895) 1968.

⁸¹ Ber. dtsh. chem. Ges. **67** (1934) 1460.

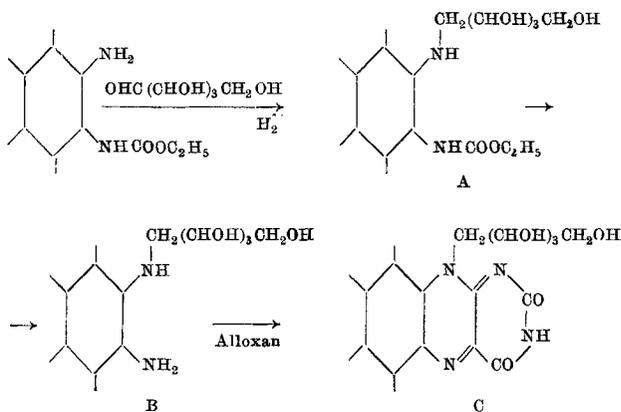
⁸² P. KARRER, SALOMON, SCHRÖPF und SCHLITTLER, Helv. chim. Acta **17** (1934)

⁸³ P. KARRER, SCHLITTLER, PFAEHLER und BENZ, Helv. chim. Acta **17** (1934) 1565.



waren so schlecht, daß R. KUHN, der sich anfangs dieser Methode bediente, längere Zeit benötigte, bis er so viel eines Flavins (Araboflavins) in Händen hatte, daß die Substanz als Azetat für eine Analyse reichte⁸⁴. Er konnte für die Darstellung des Araboflavins das Verfahren später dadurch verbessern, daß er an Stelle der *o*-Nitro-chlorbenzolderivate *o*-Dinitro-benzolderivate für den Umsatz mit Arabamin wählte⁸⁵.

In der Erkenntnis, daß der vorerwähnte Weg wenig geeignet schien, Flavine mit Zuckerresten herzustellen, haben wir ein anderes Verfahren zur Gewinnung der Ausgangsmaterialien ausgearbeitet⁸⁶. Es beruht darauf, daß man aromatische Diamine, deren eine Aminogruppe azyliert ist, mit Zuckern reduzierend kondensiert, wobei man Nickel⁸⁶ oder Palladium⁸⁷ als Katalysator verwenden kann. Dabei bilden sich Zwischenprodukte A, die verseift und nachher mit Alloxan zum Flavinfarbstoff C gekuppelt werden.



⁸⁴ Ber. deutsch. chem. Ges. **68** (1935) 166 vom 24. Dez. 1934. — Erste Versuche zur Synthese. Ber. deutsch. chem. Ges. **67** 1939 vom 23. Okt. 1934 und Ber. deutsch. chem. Ges. **67** 2084 vom 16. Nov. 1934.

⁸⁵ Ber. deutsch. chem. Ges. **68** (1935) 1001.

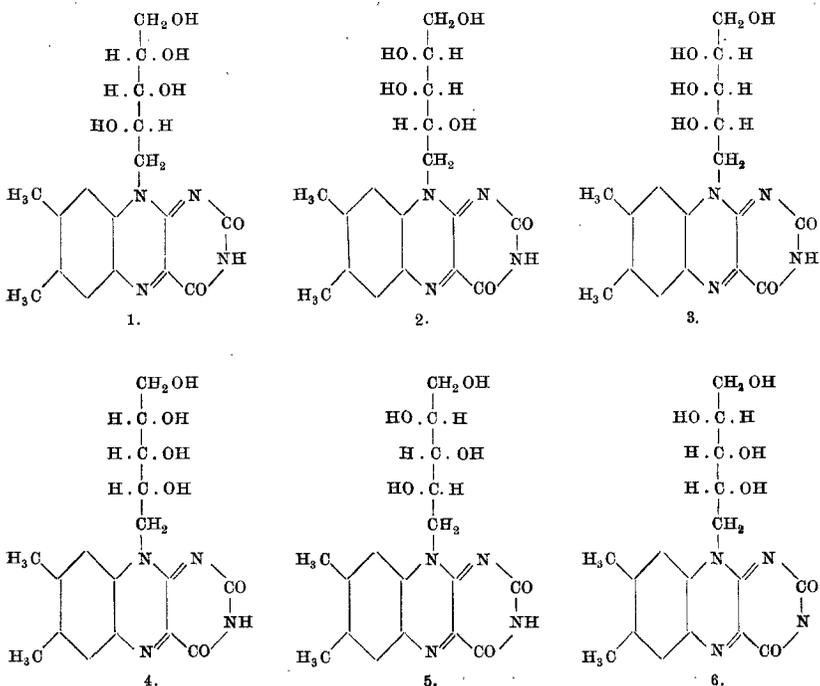
⁸⁶ P. KARRER, SCHÖPP, BENZ, PFAEHLER, Ber. deutsch. chem. Ges. **68** (1935) 216; Helv. chim. Acta **18** (1935) 69.

⁸⁷ V. EULER, KARRER, MALMBERG, SCHÖPP, BENZ, BECKER, FREI, Helv. chim. Acta **18** (1935) 528.

Solche unter Reduktion entstandene Kondensationsprodukte aus Zuckern und Aminen waren vordem unbekannt.

Nach dieser Methode konnten wir in schneller Folge eine große Zahl verschiedener Flavine (etwa 20) synthetisieren, darunter das Laktoflavin selbst⁸⁸. R. KUHN hat später⁸⁹ die gleiche Laktoflavinsynthese auch ausgeführt, wobei er sich zur Darstellung der Zwischenprodukte des von uns beschriebenen Verfahrens der reduzierenden Kondensation von o-Diamin und Zucker bediente⁹⁰. Nach kürzlich publizierten Versuchen von R. KUHN und F. WEYGAND⁹¹ kann die Flavinausbeute durch Zusatz von Borsäure bei der Kondensation des o-Diaminderivats und Alloxan verbessert werden.

In den folgenden Tabellen sind die hauptsächlichsten synthetischen Flavine aufgeführt, die nach dem vorerwähnten Verfahren im Zürcher Institut bisher hergestellt worden sind.



⁸⁸ Helv. chim. Acta 18 (1935) 426, eingesandt am 15. Februar 1935.

⁸⁹ Naturwiss. 23 (1935) 260, eingesandt am 13. März 1935.

⁹⁰ Vgl. Bull. Soc. Biolog. 17 (1935) 905.

⁹¹ Ber. dtsh. chem. Ges. 68 (1935) 1282.

Art des synthetischen Flavins	Kristallform	Smp.	α in 0,05 % NaOH (Konz. ca. 0,12—0,15°/g)	Smp. der Tetra- bzw. Pentazetate
A. Flavine mit Pentoseresten				
1. 6, 7-Dimethyl-9-[1, 1'-arabityl]-isalloxazin	Nadelbüschel	298°	[α] _D = -78° ($\pm 10^\circ$)	215°
2. 6, 7-Dimethyl-9-[d, 1'-arabityl]-isalloxazin	Nadelbüschel	299°	[α] _D = +75·6° ($\pm 10^\circ$)	288—239°
3. 6, 7-Dimethyl-9-[d, 1'-ribityl]-isalloxazin	Nadelbüschel	282°	[α] _D = -92·6° ($\pm 7^\circ$)	216°
4. 6, 7-Dimethyl-9-[l, 1'-ribityl]-isalloxazin	Nadelbüschel	280°	[α] _D = +98° ($\pm 5^\circ$)	225—226°
5. 6, 7-Dimethyl-9-[d, 1'-xylyl]-isalloxazin	Nadelbüschel	278—280°	[α] _D = -82·2° ($\pm 7^\circ$)	215°
6. 6, 7-Dimethyl-9-[d, 1'-lyxityl]-isalloxazin	Nadeln	280—282°	[α] _D = +59·8° ($\pm 5^\circ$)	237°
7. 7-Methyl-9-[l, 1'-arabityl]-isalloxazin	Breite Nadeln	284—285°	[α] ₆₄₄ = -46·3° ($\pm 6^\circ$)	215°
8. 7-Methyl-9-[d, 1'-xylyl]-isalloxazin	Dünne Nadeln	270°	[α] _D = -61·0° ($\pm 6^\circ$)	215°
9. 7-Methyl-9-[d, 1'-ribityl]-isalloxazin	Nadeln	285—286°	[α] _D = -108° ($\pm 10^\circ$)	237°
10. 9-[l, 1'-Arabityl]-isalloxazin	Drusenförmige Kristalle	292°		
11. 9-[d, 1'-Ribityl]-isalloxazin	Kristalldrusen	283°		
B. Flavine mit Methylpentose- und Desoxypentoseresten				
12. 6, 7-Dimethyl-9-[l, 1'-rhamnityl]-isalloxazin	Spindelförmige Kristalle	269—270°	[α] _D = -51·9° ($\pm 6^\circ$)	224°
13. 6, 7-Dimethyl-9-[d, 1'-desoxyribityl]-isalloxazin	Nadeln	283°	[α] _D = -78° ($\pm 8^\circ$)	
C. Flavine mit Hexoseresten				
14. 7-Methyl-9-[d, 1'-sorbityl]-isalloxazin	Drusen	—	[α] _D = -58·4° ($\pm 6^\circ$)	222°
15. 7-Methyl-9-[d, 1'-dulcetyl]-isalloxazin	Kristalldrusen	239°	[α] ₆₄₄ = -30·6° ($\pm 6^\circ$)	199°
16. 7-Methyl-9-[d, 1'-mannityl]-isalloxazin	Nadeln	272°	Drehung nicht meßbar	237°
17. 6, 7-Dimethyl-9-[d, 1'-sorbityl]-isalloxazin	Nadeln	272°	[α] _D = -47·7° ($\pm 4^\circ$)	237°

Aus der Gruppe der synthetisierten Verbindungen⁹² hat sich das 6, 7-Dimethyl-9-[d, 1'-ribityl]-isoalloxazin mit Laktoflavin identisch erwiesen⁹³, also das Flavin, das in 9-Stellung des 6, 7-Dimethyl-isoalloxazins den d-Riboserest trägt, denselben Zucker, der auch in den Hefenukleinsäuren vorkommt. Die synthetische Verbindung stimmt im Schmelzpunkt, der optischen Drehung, Schmelzpunkt des Tetrazetats und nach Versuchen von H. v. EULER und MALMBERG namentlich auch in der biologischen Wirkung mit Laktoflavin überein. Wie natürliches Laktoflavin, besitzt es in Tagesdosen von 3—5 γ bei Ratten gute Zuwachswirkung (0.9 bzw 1.2—1.4 g Tageszuwachs). Dagegen haben sich die meisten anderen Flavine, die an Stelle der d-Ribose andere Zuckerreste enthalten, als unwirksam oder wenig wirksam erwiesen. Eine Ausnahme macht immerhin das 6, 7-Dimethyl-9-[d-arabityl]-isoalloxazin, das von EULER ebenfalls als wachstumsfördernd erkannt wurde. Die Verbindung unterscheidet sich konfiguratv vom Laktoflavin nur durch die räumliche Umstellung einer Hydroxylgruppe im Zuckerrest.

Es besteht demnach auch beim B₂-Vitamin eine durch die Konfiguration des Zuckerrestes bedingte Konfigurationspezifität.

Der benzoide Teil des Flavinmoleküls darf gewisse Änderungen erfahren, ohne daß die Wirksamkeit als B₂-Faktor wesentlich beeinträchtigt wird. Dies geht daraus hervor, daß 7-Methyl-9-[d, 1'-ribityl]-isoalloxazin, also das Flavin, welches sich vom Laktoflavin durch den Mindergehalt einer Methylgruppe (in 6-Stellung) unterscheidet, dem Laktoflavin an Wirksamkeit kaum nachsteht⁹⁴. Der unveränderte 6, 7-Dimethyl-isoalloxazin-Kern ist somit für die B₂-Wirkung nicht unbedingte Voraussetzung; immerhin darf die Veränderung nicht beliebig und nicht zu tiefgreifend sein. Schon das 9-[d, 1'-Ribityl]-isoalloxazin, dem *beide* Methylene fehlen, wirkt als B₂-Faktor ungenügend.

⁹² P. KARRER, SCHÖPP, BENZ, PFAEHLER, *Helv. chim. Acta* **18** (1935) 69. — P. KARRER, SCHÖPP, BENZ, *Helv. chim. Acta* **18** (1935) 426. — H. v. EULER, P. KARRER, M. MALMBERG, K. SCHÖPP, F. BENZ, B. BECKER, P. FREI, *Helv. chim. Acta* **18** (1935) 522. — P. KARRER, H. SALOMON, SCHÖPP, BENZ, BECKER, *Helv. chim. Acta* **18** (1935) 905. — P. KARRER, SALOMON, SCHÖPP, BENZ, *Helv. chim. Acta* **18** (1935) 1143.

⁹³ *Helv. chim. Acta* **18** (1935) 426, 522.

⁹⁴ P. KARRER, H. v. EULER, M. MALMBERG, K. SCHÖPP, *Svensk. Kem. Tidskr.* **XLVII** (1935) 153. — P. KARRER, SALOMON, SCHÖPP, BENZ, BECKER, *Helv. chim. Acta* **18** (1935) 908.

Die d-Ribose der Hefenukleinsäuren ist in den Nukleinsäuren aus Thymus durch die d-Desoxyribose ersetzt. Da im Bau der Nukleoside und der Flavine offensichtliche Analogien bestehen, schien auch das 6, 7-Dimethyl-9-[d, 1'-desoxyribityl]-isoalloxazin biologisch von Interesse. Nach den Untersuchungen des v. EULER^{SCHEN} Laboratoriums kommt diesem Desoxyriboseflavin jedoch keine starke B₂-Wirkung zu. Es wird noch in anderer Richtung geprüft.

Unsere Kenntnisse über die biologische Bedeutung des Laktoflavin haben durch Arbeiten von THEORELL⁹⁵ eine wesentliche Vertiefung erfahren. Durch dessen Nachweis, daß das WARBURG^{SCHLE} gelbe Oxydationsferment aus Laktoflavinphosphorsäure als Wirkungsgruppe und Eiweiß als Trägersubstanz besteht, ist nicht nur Einblick in den Bau eines Fermentes gewonnen worden, sondern gleichzeitig auch ein solcher in Funktionen, die dem B₂-Vitamin im tierischen Körper zufallen. Dieses Vitamin wird offenbar in Form des gelben Fermentes zur Steuerung von Oxydationsprozessen in den Zellen benutzt. Flavin-Leukoflavin stellt nach K. G. STERN⁹⁶ ein echtes, reversibles Redoxsystem dar. Ob damit seine Aufgabe vollständig umschrieben wird, ist aber nicht sicher. Nach H. v. EULER kommt z. B. dem in der Retina des Auges lokalisierten Laktoflavin möglicherweise beim Sehakt eine Rolle zu⁹⁷ (Überführung kurzweiliger Strahlen in grünelbes Fluoreszenzlicht).

Wenn wir heute auch noch recht geringe Kenntnisse von den Stoffwechselforgängen besitzen, in welche die Vitamine eingreifen, und die Aufgaben der Vitamine im Organismus nicht genau kennen, so hat sich aus den Forschungen der letzten Jahre immerhin die Erkenntnis entwickelt, daß zwischen Vitaminen und Fermenten nahe Beziehungen bestehen. Es scheint daher möglich, daß die Vitaminchemie einmal die Grundlage einer zukünftigen Fermentforschung werden wird.

⁹⁵ Naturwiss. **22** (1934) 289. — Biochem. Z. **272** (1934) 155; **275** (1935) 37, 344; **278** (1935) 263.

⁹⁶ Naturwiss. **21** (1933) 720.

⁹⁷ H. v. EULER, HELLSTRÖM, ADLER, Hoppe-Seylers Z. vgl. Physiol. **21** (1935) 739. — v. EULER und ADLER, Hoppe-Seylers Z. physiol. Ch. **223**, 105; **228** (1934) 1.