

Progresos recientes en la química de las vitaminas

La demostración experimental de la existencia de ciertas sustancias, que en cantidades muy pequeñas, son indispensables para que el crecimiento se efectúe y la vida se mantenga, fué realizada por EJKMANN y HOPKINS. Estas sustancias, que FUNK llamó vitaminas, son por lo menos seis: Vitamina A (anti-xeroftálmica); Vitamina B₁ (antineurítica); Vitamina B₂ (antipelágrica), que es posiblemente un complejo; Vitamina C (antiescorbútica); Vitamina D (antirraquítica) y Vitamina E (que permite la reproducción). La naturaleza química de las vitaminas ha sido estudiada desde hace tiempo, pero recién en los últimos años las investigaciones acumuladas han permitido llegar a conclusiones satisfactorias.

En este artículo se resumen los conocimientos químicos acerca de las vitaminas, señalándose especialmente los progresos recientemente realizados.

Vitamina A. Las primeras observaciones sobre una posible relación en-

tre los carotinoides y la vitamina A se deben a STEENBOCK y sus colaboradores (1919-1921).

Los "carotinoides" son pigmentos amarillos solubles en las grasas y muy difundidos en los dos reinos, especialmente en el vegetal. Comprenden un número reducido de sustancias, entre las que el carotene, de fórmula $C_{40}H_{56}$ es el más común de todos. Este se encuentra en la zanahoria, las espinacas, etc., y en el suero sanguíneo, en el cuerpo amarillo del ovario, en la yema de huevo, en la miel, etc. Entre los otros carotinoides que son de una importancia menor, se encuentra la licopina o colorante del tomate, isómero del carotene, y luego los clasificados como del grupo de la xantófila $C_{40}H_{56}O_2$, que poseen oxígeno y que incluyen a la luteína del huevo de gallina y a la zeaxantina o colorante del maíz. Existen, además, carotinoides ácidos, cuyo tipo principal es el α -crocetina de fórmula $C_{17}H_{20}(COOH)_2$, que se encuentra en el azafrán.

La hipótesis de STEENBOCK se originó en la observación que la mayor parte de las sustancias que contenían carotene eran activas como vitamina A, mientras otras incoloras eran inactivas. Una confirmación de esta hipótesis fué la circunstancia de que ratas sometidas a dietas carentes de vitamina A, volvían a crecer normalmente, cuando se añadía a la misma pequeñas cantidades de carotene.

En contradicción con estos hechos se observó que no había paralelismo entre la intensidad de coloración y el contenido en vitamina y que los concentrados de aceite de hígado de bacalao altamente activos, no presentaban la fuerte coloración que se podía esperar si la vitamina A y el carotene fueran una misma sustancia. Además, las experiencias de DRUMMOND y sus colaboradores (1919-1925) tendían a demostrar que no había relación entre los carotinoides y las vitaminas. Estos autores encontraron que el carotene muy purificado por varias recrystalizaciones, no provocaba crecimiento en los animales alimentados con dietas carentes de vitamina A.

La hipótesis de STEENBOCK cobra nuevamente interés en 1928, cuando EULER y sus discípulos afirmaron haber encontrado actividad vitamínica en el carotene usando altas dosis, sosteniendo que el fracaso de los demás investigadores se debía a haber trabajado con dietas que al mismo tiempo eran pobres en vitamina antirraquítica (vitamina D). En trabajos posteriores (EULER, KARRER, 1929), consiguieron mantener el crecimiento de las ratas con dosis diarias de 30-100 y de carotene. Sin embargo, estos mismos autores admitían que debía haber ciertas diferencias entre el carotene y la vitamina, y que podían existir sustancias diversas que estuvieran dotadas de actividad vitamínica.

Estos resultados fueron confirmados por MOORE (1929), quien pudo obtener el crecimiento de las ratas con dosis de 10 y diarios de carotene purificado. Al mismo tiempo se tuvo la certeza de que la vitamina y el carotene eran dos cosas diferentes.

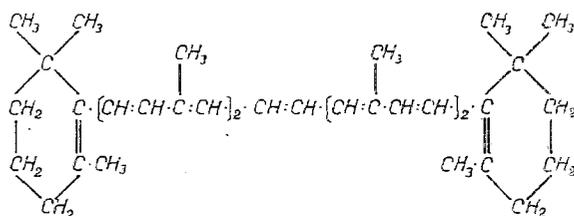
El carotene y la vitamina A se pueden diferenciar colorimétrica y espectroscópicamente (DRUMMOND, 1929). La segunda tiene un espectro ultravioleta con una banda de absorción en 320-330 $m\mu$ que no posee el carotene. Además, aunque ambos dan con cloruro de antimonio una coloración azul (reacción de ROSENHEIM-DRUMMOND), el color producido por el carotene presenta una banda de absorción en 590 $m\mu$ mientras la vitamina A la presenta en 608-612 $m\mu$.

El problema fué aclarado al demostrarse que el carotene se transforma en el organismo en vitamina A (MOORE, CAPPER, 1930). Estos investigadores probaron que los aceites de hígados de ratas mantenidas en avitaminosis A no daban coloración con el triclorigenol de antimonio, que esta coloración aparecía después de la ingestión de carotene y que el espectro de absorción era idéntico al que se obtiene por acción del triclorigenol de antimonio sobre aceites de hígado, ricos en vitamina A.

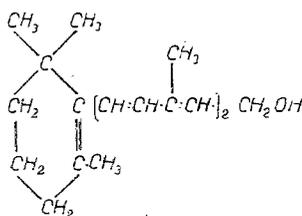
Estas experiencias han sido confirmadas por el aislamiento (KARRER, 1931; DRUMMOND y HEILBRON, 1932), de una substancia extraída del aceite de hígado de pescado, que responde a la fórmula $C_{20}H_{30}O$ y cuyos caracteres coinciden con los de la vitamina A. Por oxidación de esta vitamina se obtienen las mismas substancias que por oxidación del carotene.

Ni la vitamina, que tiene una función alcohólica, ni sus ésteres se han podido obtener al estado cristalino, sino bajo forma de aceites. Posiblemente no son homogéneos. La vitamina es un aceite espeso, amarillento, que se puede destilar al vacío, y del cual bastan 0.5 y diarias para mantener a las ratas en crecimiento.

Si se acepta la fórmula de KARRER (I) para el carotene, corresponde a la vitamina A la fórmula (II). El organismo oxidando al carotene engendra vitamina A.



(I)



(II)

Cabe aquí señalar que existen en la naturaleza dos tipos de carotene isómeros y llamados α y β (KUHNS 1931) que se diferencian por sus propiedades físicas.

SUBSTANCIAS	PUNTO DE FUSIÓN	PODER ROTATORIO $[\alpha]_{20}^{20}$ Cd.
Carotene α	181-182°	+ 380°
Carotene β	174-175°	$\pm 0^\circ$

El poder rotatorio del carotene α revela que la fórmula propuesta no permite explicar dicha propiedad. Es necesario, para lograrlo, desplazar la doble ligadura presente en el ciclo a otra posición.

Ambos tipos de carotene son capaces de dar lugar a la formación de vitamina A, si bien el β parece ser ligeramente más efectivo.

La transformación del carotene, que se lleva a cabo tan fácilmente en el organismo, se ha intentado realizar *in vitro*, pero las afirmaciones de OLCOTT y MAC CANN (1931), que sostuvieron haber encontrado en el hígado una enzima capaz de producir su oxidación dando vitamina A no se han podido confirmar (AHMAND, 1931; EULER, 1932).

Finalmente, cabe mencionar que los ensayos realizados con otros carotínoides han conducido a conclusiones contradictorias sobre la posibilidad que los animales los empleen para la formación de vitamina A.

Vitamina B₁. La vitamina B₁, o antineurítica, que tiene una cierta importancia histórica, pues, fué la primera encontrada (EJKMAN, 1897), pudo ser obtenida en forma relativamente pura y en verdad al estado cristalino por JANSEN y DONATH (1926), partiendo del afrecho de arroz. Bastan 9 g diarios de dichos preparados para mantener en perfecto estado a palomas alimentadas con dietas carentes de Vitamina B. La repetición de estas experiencias (VAN VEEN, 1930; ODAKE, 1931), condujo a una confirmación en lo que se refiere a la obtención de una substancia cristalina, pero la actividad vitamínica de dichos cristales era variable, lo que hacía dudar de su pureza.

La aplicación del método de JANSEN y DONATH a la levadura, que contiene grandes cantidades de vitamina B₁ no dió en sus comienzos resultados apreciables (KINNERSLEY, PETERS, 1927; WILLIAMS, WATERMAN, 1930; SEIDELL, 1931), hasta que WINDAUS y sus colaboradores consiguieron en 1932 obtenerla cristalizada.

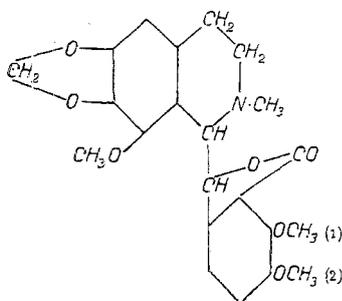
El método de estos autores consiste en absorber la parte activa de la levadura con tierra de infusorio y diluirla con hidrato de bario, eliminando otras substancias extrañas con sulfato de mercurio, nitrato de plata, etc. Se obtiene así una solución relativamente pura, de la que se puede precipitar al estado cristalino el cloroaurato de vitamina B. Esta posee la fórmula C₁₂ H₁₇ OS y su clorhidrato funde a 245°.

Este clorhidrato es muy soluble en agua, alcohol metílico y etílico, insoluble en éter y en acetona. Dosis entre 1, 4 y 3, 3 g diarias bastan para evitar la polineuritis en las palomas. La enorme y constante actividad de varios preparados de este producto cristalino hace pensar que realmente se trate de vitamina pura.

El estudio del problema de la identidad de la vitamina B₁ de la levadura con la vitamina B₁ del afrecho de arroz, está en sus comienzos.

Muy poco conocemos sobre la química de las otras vitaminas del grupo B, existiendo numerosos trabajos sin resultados definitivos.

Vitamina C. La vitamina antiescorbútica fué estudiada desde el punto de vista químico, especialmente por ZILVA (1924-28), BEZSSONOF (1925), GRETTI y KING (1929), autores todos que estaban de acuerdo en afirmar que los



(III)

concentrados de mayor actividad que se podían obtener contenían sustancias nitrogenadas, reducían el licor de FEHLING y daban algunas de las reacciones de los fenoles. Se sabía, además, que era fácilmente oxidable, siéndolo mucho más en medio alcalino que ácido. En nuevos ensayos de concentración de la vitamina C, partiendo del jugo de frutas, limones y naranjas, O. RYGH, A. RYGH y LALAND (1932), aislaron una pequeña cantidad de narcotina, un alcaloide ya conocido que se encuentra en el opio y que posee una fórmula química bien determinada (III). La cantidad de narcotina disminuye con la maduración de las frutas y aumenta por el contrario el contenido en vitamina C.

Esto hizo pensar que podía haber alguna relación entre las dos sustancias. La narcotina es completamente inactiva para proteger del escorbuto a los animales con dietas carentes de vitamina C, pero en cambio, irradiada con rayos ultravioleta se producen sustancias que en dosis de 1 mg. protegen a las cavias contra dicha enfermedad.

Las cavias alimentadas con dietas conteniendo narcotina irradiada no presentan hemorragias pero mueren en cambio en igual plazo que los testigos. Al ensayarse diversos productos químicos perfectamente definidos y derivados de la narcotina se encontró una mayor actividad en la metil-nor-narcotina, o sea en el compuesto que se produce cuando se eliminan de la narcotina los dos grupos metilos numerados (1) y (2) y se los substituye por átomos de hidrógeno.

El comportamiento de esta sustancia es sin embargo muy curioso. En dosis grandes de 1000 a 500 y los animales presentan en forma atenuada hemorragias y hasta un cierto punto el cuadro del escorbuto. En dosis entre 30 y 10 y la protección contra el escorbuto parece ser total, para desaparecer con dosis menores.

Llama también la atención en todas estas experiencias que los animales tratados con metil-nor-narcotina mueren al mismo tiempo que aquellos carentes de vitamina C, pero no presentan en la *autopsia signos de escorbuto*.

Estos resultados tan singulares parecen no haber podido ser repetidos (ZILVA, 1932) y por lo tanto sólo nuevas investigaciones han de decidir la cuestión.

Vitamina D. Los trabajos modernos sobre constitución de la vitamina D, se inician con una serie de observaciones realizadas en los años 1924 y 1925 que establecieron en forma terminante, que la irradiación con luz ultravioleta de dietas carentes de vitaminas D restituía a éstas el poder antirraquítico que les faltaba (GOLDBLATT, 1924; STEENBOCK, 1924; HESS, 1925).

Estos estudios condujeron erróneamente a la creencia que la fracción activada estaba constituida por colesterol, el cual se transformaría por acción de los rayos ultravioletas en una sustancia capaz de evitar el raquitismo. Esta suposición fué abandonada cuando se comprobó que el colesterol muy purificado, obtenido por regeneración de su dibromuro, no se activaba (ROSENHEIN; WEBSTER, 1926) lo que está también de acuerdo con la circunstancia que el colesterol del comercio tenía un espectro diferente al purificado en la forma indicada (HEILBRON, 1926). No se trataba por lo tanto del colesterol sino de una impureza que lo acompaña en todos sus preparados comerciales, la cual es muy difícil de separar.

En una forma casi simultánea, ROSENHEIN y WEBSTER en Inglaterra y WINDAUS y HESS en Alemania encontraron que dicha impureza era el ergosterol. Una sustancia de composición $C_{27}H_{42}O$ encontrada ya en 1890 por TANRET en el cornezuelo de centeno y presente en gran abundancia en la levadura.

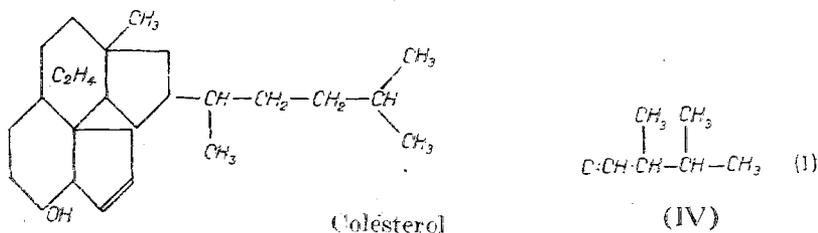
El ergosterol sometido a la acción de los rayos ultravioletas se transforma parcialmente en una sustancia fuertemente antirraquítica y fué pues considerado como un antecesor de la vitamina D. Está íntimamente relacionado al colesterol, poseyendo posiblemente su mismo esqueleto (WINDAUS, 1932; DIELS, 1930). Posee un grupo alcohólico y tres ligaduras etilénicas siendo fácilmente

oxidable aun por el oxígeno del aire. Su cadena lateral parece ser distinta de la del colesterol (IV) (REINDEL, 1932).

Conocida perfectamente la substancia que sería ya provitamina, los diversos investigadores se concentraron en la tarea de obtener químicamente pura la vitamina D. BOURDILLON, WEBSTER y sus colaboradores pudieron ya anunciar en el año 1930 el aislamiento de una substancia altamente antirraquítica obtenida por destilación del ergosterol irradiado. A pesar de haberse aislado en forma cristalina, el producto era algo impuro. Pero en 1931 en tres laboratorios diferentes, se aisló un producto de constitución $C_{27}H_{42}O$ y de punto de fusión $122-125^\circ$ que se pensó era la vitamina D pura. Esta substancia fué obtenida en Inglaterra por los autores nombrados, en Holanda por REERINK y VAN WIJK y en Alemania por WINDAUS. 1 mg. de la misma encierra entre 20 y 25.000 unidades antirraquíticas internacionales.

Los productos variaban sin embargo por su poder rotatorio y parecían poco homogéneos. Poco después (1931) los autores ingleses anunciaban el desdoblamiento del primer producto en dos diferentes, por esterificación con ácido dinitro-benzoico y separación de los ésteres, uno llamado calciferol, de alto poder antirraquítico, y el otro completamente inactivo.

WINDAUS y LINSERT (1932) empleando luz ultravioleta de longitud 278-280 $m\mu$ pudieron obtener directamente del ergosterol una substancia con las mismas propiedades que el calciferol de los autores ingleses que sería vitamina D pura.



La vitamina D obtenida en esas condiciones se presenta bajo forma de prismas alargados de punto de fusión $115-116^\circ$ de fórmula $C_{27}H_{42}O$, es decir se trata de un isómero del ergosterol, de poder rotatorio $+124^\circ$ muy soluble en los disolventes orgánicos e insoluble en agua que tiene un espectro de absorción característico en el ultravioleta con un máximo de 265 $m\mu$.

Es completamente estable a la temperatura ambiente y a alto vacío destila sin descomposición. Si se somete la vitamina D a la acción prolongada de los rayos ultravioletas pierde su actividad antirraquítica y se transforma en otros esteroleos. Dosis diarias de 0.020-0.015 γ de vitamina pura, permiten mantener sin raquitismo ratas alimentadas con dietas de carencia adecuadas; 1 mg. de la misma representa 42.000 unidades internacionales.

Es interesante señalar que la toxicidad que poseía el ergosterol irradiado y que se atribuyó algunas veces a una impureza es una propiedad de la vitamina D, pues dosis de 0.05-0.075 mg. son tóxicas para las ratas. La relación entre dosis tóxica y dosis curativa es pues de 4000/1.

La presencia de un grupo alcohólico en la vitamina D parece ser una de las condiciones de su actividad antirraquítica pues la pierde si dicho grupo se anula por ejemplo por la acción del isocianato de fenilo. Si lo regenera aparece nuevamente la actividad biológica.

Al concluir esta reseña merece mencionarse que BILL y MAC DONALD han anunciado recientemente (1932) haber conseguido obtener vitamina D al tratar el ergosterol con óxido de nitrógeno, es decir empleando un método completamente químico.

Vitamina E. Con el nombre de vitamina E, SURE (1924) designó una sustancia que EVANS y BISCHOP habían demostrado indispensable (1922-23) para asegurar la reproducción de los animales, y que al parecer se encuentra bastante repartida en la naturaleza y en especial en las semillas vegetales.

Por extracción etérea se han obtenido concentrados de vitamina E bajo forma de un aceite. Pertenece al tipo de las vitaminas liposolubles y es por lo tanto insoluble en agua. Es bastante resistente al calor y a los reactivos químicos, pudiendo destilarse a alto vacío a 233° sin descomposición. Los preparados más puros que se conocen no contienen azufre, nitrógeno o fósforo.

Para algunos se encuentra relacionada a las hormonas sexuales, especialmente a la hormona ovárica.