

SOCIETAT CATALANA DE CIÈNCIES
FÍSiques, QUÍMIQUES I MATEMÀTIQUES
(FILIAL DE L'INSTITUT D'ESTUDIS CATALANS)

MEMÒRIES. — Vol. I

Fasc. 3

EL COMPLEXE VITAMÍNIC B

PEL

DR. CÈSAR PI-SUÑER BAYO

BARCELONA
INSTITUT D'ESTUDIS CATALANS
PALAU DE LA GENERALITAT
MCMXXXIII

GENERALITATS

Ha estat tot just en aquests darrers anys que l'estudi de les vitamines ha deixat d'ésser la cosa més o menys abstracta i confusa dels començaments per a esdevenir un vertader cos de doctrina científica amb la seva estructura i els seus mètodes específics de treball. Són de dues classes els fets que han contribuït especialment a aquesta millora: d'un costat, la delimitació cada cop més concreta de la simptomatologia dels diversos estats de carència, i de l'altre, i encara amb major intensitat, la descoberta definitiva de la natura i composició química de gairebé tots els factors vitamínics principals.

Així, si avui dia veiem sota una llum molt més clara tot el que es refereix al factor D, és degut als estudis de Windaus, Hess i llur escola sobre l'ergosterol irradiat i els esterols en general; i el mateix ens passa amb el factor A, mercès a haver estat identificat per Euler i Karrer amb un derivat oxigenat de la carotina. Encara, en aquest darrer any, el matrimoni Rygh sosté que el factor C s'origina per doble demetilació de la molècula de narcotina — hipòtesi que per ara i tant no sembla haver estat gaire ben acollida — i Windaus, Laqueur i col·laboradors creuen haver aïllat la vitamina B absolutament pura, tot atribuint-li una fórmula provisional $C_{12}H_{17}N_3OS$.

Tot amb tot encara hi ha molt a fer en aquest terreny, i ha d'ésser treballant-hi que la bioquímica haurà de conèixer segurament els seus majors èxits en els pròxims deu anys.

Per això precisament la nostra idea, en començar a redactar aquesta memòria, ha consistit a ocupar-nos sumàriament d'una de les qüestions de la teoria de les vitamines, encara més confuses i mal delimitades: la del complex vitamínic B. En efecte, n'hi ha prou amb pensar que, en el moment d'escriure aquestes ratlles, *són més de vint les distintes avitaminosis B característiques*, descrites per diferents autors, cadascun dels quals pretén l'absoluta novetat i independència de la seva troballa per a fer-nos càrrec de com ha d'ésser interessant intentar un assaig d'ordenació i compilació d'aquest problema. I ens hi creiem més inclinats pel fet d'haver portat a terme junt amb Collazo de Montevideo, diverses sèries d'experiments sobre aquesta qüestió—algunes encara inèdites avui dia—i per haver batejat amb ell un d'aquests suposats factors amb el nom de «factor glucofixador».

Ara bé: dintre de l'obligada brevetat d'aquest treball, no es pot pretendre que analitzem un per un cadascun dels diversos factors donats a conèixer pels nombrosíssims investigadors que s'han dedicat a aquestes qüestions, i, per tant, ens limitarem a l'estudi dels més essencials d'aquells factors, l'existència dels quals sembla més ben comprovada. Aquests podríem enumerar-los de la manera següent:

Vitamina B = tot el complex junt,

Vitamina B₁ = factor antineurític de Eijkmann,

Vitamina B₂ = factor antipel·lagra de Goldberger,

Vitamina B₃ = factor hidrosoluble de creixement de Williams i Wattermann,

Vitamina B₄ = factor hidrosoluble de creixement de Reader,

Factor d'utilització nutritiva de Randoin i Lecoq,

Factor glucofixador de Collazo i Pi-Suñer Bayo,

Factor «bios» de Wildiers,

Substàncies de respiració (Atmungsstoffe) d'Abderhalden,

Factors Z i B. P. d'Euler, etc., etc.

Comencem, doncs, l'estudi d'aquests diversos factors intentant fer ressaltar, sobretot, allò que els diferencia els uns dels altres, i, encara, amb major interès, allò que els uneix i fa potser possible la identificació d'alguns d'ells.

1. Avitaminosi B típica: beriberi i polineuritis experimental

El beriberi és una malaltia molt antiga, de la qual ja es troben descripcions molt exactes en els més vells tractats xinesos. La seva zona s'estén per tota l'Àsia Oriental. Ataca d'una manera especial al Japó, on Bözl i Miura creuen que arriben a 50000 els malalts anuals. Pel que pertoca al Brasil, país on també es troba molt estès, Lovelace observà en quatre anys 934 casos, dels quals 250 eren mortals. A Europa s'ha vist algunes vegades en manicomis (Dublín, Angers, etc.), i durant la guerra entre els xinesos i indo-xinesos del front francès (Sicard, Roger, Rimbaud, Legate, etc.), en la flota anglesa del Mediterrani (Willcox), en el front italià (Massalongo), etc. Finalment, a la Península foren vistos uns casos per F. Martínez (1919).

Del beriberi poden distingir-se quatre formes clíniques: Una en què predominen els trastorns sensitius i motors, una altra forma atrofica seca, una forma atrofica edematosa, i una de perniciosa aguda o cardíoc-vascular. La primera, la més coneguda, es caracteritza per la debilitat de les cames, la gran sensibilitat dels músculs a la pressió, i la temperatura normal. La segona, generalment acompanyada de paràlisi i atrofia muscular, comença per les cames i pot arribar fins

a l'esquena i àdhuc produir la mort per asfíxia. La tercera dóna lloc a trastorns circulatoris, palpitations, disnea, oligúria, paràlisi en els casos greus, i més rarament trastorns dels nervis cefàlics (òptic, facial, hipoglòs, etc.). Generalment es considera com a causa de la mort la paràlisi del vagus. Finalment, la quarta pot ésser primària o bé secundària, després de les descrites, d'una operació, etc., sense causes aparents. Gairebé de cop es presenten dolors precordials, disnea, taquicàrdia, vòmits, diarrea, mareig, etc., mentre la temperatura roman normal i el cap clar. El pols és accelerat i la respiració forta. La quantitat d'orina disminueix a 100-200 c. c. diaris i encara menys donant una forta reacció positiva d'indican i a vegades la diazo d'Ehrlich. La mort té lloc amb un pols poc freqüent, cianosi i edema dels pulmons, i es presenta al cap de poques setmanes o bé dies, i fins a vegades és qüestió d'hores, de cop. La mortalitat varia molt amb les distintes formes, i és especialment elevada en la forma perniciosa aguda i en l'atròfica humida. Si bé en altre temps s'havia arribat a Sumatra, Java, Manila, etc., a estadístiques amb 60-70 % de mortalitat, avui, gràcies a un millor diagnòstic i terapèutica, s'ha reduït moltíssim. Finalment, queda el beriberi infantil, descrit per primera vegada per Hirota, i que es presenta en els infants nodrits per mares beribèriques; els seus símptomes són molt similars als dels adults. S'ha vist que la llet d'aquestes mares és pobra de greixos (2 %, en comptes de 4 %), mentre eren augmentats els continguts en calci i fòsfor. Administrada aquesta llet a gossos joves, els produïa el beriberi.

Respecte a la seva etiologia, hi havia hagut ja diverses controvèrsies, quan Ejkmann, metge holandès de l'Hospital de Java, observà l'any 1890 que les gallines del seu corral, alimentades amb arròs sense escorça, presentaven accidents

paralítics que s'assemblaven extraordinàriament als dels seus malalts, i veié en llur autòpsia una intensa degeneració dels nervis perifèrics. Seguint aquest camí, nombrosos deixebles seus (Grins, Hulhof, Braddon, de Haan, Herzog, Fraser, Chamberlain, etc.) observen que aquesta polineuritis experimental no sols és produïda per l'arròs espellofat, sinó per molts altres grans sense escorça, i tots els aliments escalfats a una temperatura suficient. D'altra banda, donant als mateixos animals (gallines, coloms, ànecs) el gra complet, aconseguen guarir totalment la malaltia.

Ara bé, hi ha hagut diversos investigadors que han volgut establir diferències, segons ells essencials, entre el beriberi humà i la polineuritis experimental aviar, de tal manera que han intentat estudiar-les com dues malalties completament diferents. Així veiem que Ogata, Kawakita, Kagoshima, Suzuki i Oka confeccionen un quadre de les diferències a observar entre ambdues, i sostenen que els símptomes diferencials més importants són les alteracions circulatòries, tan intenses en el beriberi humà i gairebé inexistents en la polineuritis aviar. Són nombrosos els investigadors que creuen que aquesta diferència es deu principalment al fet d'ésser la darrera aguda, mentre la primera presenta un desenvolupament crònic, que permet l'aparició d'alteracions circulatòries, per a les quals no hi ha temps en l'altra, degut a la gran rapidesa del seu procés. En aquest sentit informen també les experiències d'Osaki demostrant que, quan els aliments no es troben en absolut lliures de vitamina B, sinó solament disminuïda la seva concentració, el desenvolupament de la malaltia animal és molt semblant a la humana. Seguint aquesta orientació, Sinhoda aconseguí l'aparició del beriberi pur en les gallines i Murata en els conills. Resumint, podríem dir amb Ragnar Berg, que el *beriberi no és una avitaminosi pura*,

ans una hipovitaminosi; mentre la polineuritis aviar és una avitaminosi típica.

Tot amb tot, fins després d'aquestes experiències d'Ejkmann i la seva escola demostrant l'existència d'un factor hidrosoluble en l'escorça d'arròs (a la manca del qual era deguda l'aparició del beriberi), foren diversos els experimentadors que no es volgueren rendir de seguida a l'evidència i sostingueren la versemblança d'altres etiologies. La seva principal raó era el fet que el beriberi era inicialment desconegut a la illa, i s'havia anat estenent pel seu interior a mesura que progressaven els ferrocarrils en construcció, tot i que l'alimentació per l'arròs era estesa per igual a tota ella. Per tant, si, com deien els europeus, aquest era l'origen de la malaltia, solament podria ésser-ho d'una manera indirecta, servint com a mitjà de cultiu d'algun microbi desconegut. L'acceptació inicial d'aquesta teoria augmentà encara en veure's durant la guerra ruso-japonesa que la substitució de l'arròs pels cereals trinxats no originava la desaparició del beriberi.

Només els estudis posteriors en demostrar sense lloc a dubtes que el factor curatiu es trobava tant en l'escorça de l'arròs com dels cereals, i que n'hi havia prou que l'escorcat fos solament parcial perquè no aparegués el beriberi, o bé per a curar-lo si ja s'havia presentat, acabaren paulatinament (encara hi ha avui dia qui sosté l'etiologia microbiana del beriberi, sobretot a les colònies franceses) amb aquestes teories. I aleshores començaren els estudis dels investigadors sobre la composició química de l'escorça d'arròs, i, amb ells, diverses explicacions intentant atribuir la malaltia a manca de proteïnes, greixos, hidrats de carbó, etc. (Ejkmann, Segawa, Weill, Arloing, i Dufourt, etc.). Però també aquestes hipòtesis foren destruïdes successivament per les experiències

d'Aron i Hocson, i de Breadant, demostrant l'absoluta ineficàcia de l'addició de carn a la dieta del malalt; les de Tasawa, qui observà un quadre especialment clar de polineuritis ajuntant a l'arròs polit clara d'ou o carn bullida, les de Lovelace, qui veié diversos casos de beriberi en què l'aportació de vitamines era ben intensa, etc. Segurament, l'única experiència que parlaria a favor d'un efecte secundari de les proteïnes seria la de Barr, qui veié que una alimentació proteínica mancada d'algun determinat aminoàcid—per exemple, triptòfan—originava una malaltia semblant, en certs aspectes, al beriberi.

Pel que es refereix als greixos, Breadant observà una anàloga ineficàcia. Respecte als hidrats de carbó veurem més endavant que són moltes les experiències que demostren que la seva aportació empitjora encara l'estat del malalt; tantes, que arribaren a fer pensar que en el complex vitamínic B no existís un factor d'acció específica sobre el metabolisme dels glúcids, factor que segurament mancava en l'avitaminosi B característica. Però de tot això ja hem dit que ens en ocupàrem més detingudament després.

Finalment, una altra teoria respecte a l'origen del beriberi que tingué també la seva època d'esplendor, aquella en què era atribuït a l'existència on l'arròs espellofat d'una substància tòxica, basada principalment en el fet que el beriberi presentava un quadre anatomo-patològic molt semblant al d'altres intoxicacions. Així, mentre Maurer el creia degut a una intoxicació intestinal per l'àcid oxàlic; Ekelöf, Clair, Marchoux, Samelson, etc., s'inclinaven a favor d'una intoxicació originada per l'acció de la flora microbiana intestinal sobre l'arròs.

Simultàniament a aquests estudis, comencen a Anglaterra i a Amèrica els de Hopkins, Osborne i Mendel, Mac Collum i

Davis, etc., utilitzant per primera vegada mamífers (rates) com a animals testimonis, estudis en què observaren que per a la creixença de les rates, a més d'un factor liposoluble (vitamina A) calia un altre factor soluble en l'aigua i l'alcohol, que abunda en la llet i el llevat de cervesa i que anomenaren *vitamina hidrosoluble B*. Així, doncs, observi's que ja aleshores s'havia vist l'efecte distint dels dos factors avui totalment diferenciats: un factor hidrosoluble antineurític, i un altre factor hidrosoluble de creixement. Però, com que les crisis d'avitaminosi B dels coloms i les rates s'assemblen bastant, els autors començaren a identificar ambdós factors, de tal manera que Mac Collum i Kennedy l'any 1916 sostenen que la vitamina hidrosoluble de Funk, d'efectes antineurítics, i el factor hidrosoluble de creixement de Mac Collum, és el mateix; anàlogament opina Drummond, i després ja molts d'altres autors. Solament al cap d'uns deu anys, amb noves experiències més acurades, comencen de nou a diferenciar-se aquests factors, i es cau segurament aquesta vegada — com passa gairebé sempre en biologia — en l'exageració contrària: voler descriure un factor específic per a cada símptoma una mica inesperat o sorprenent.

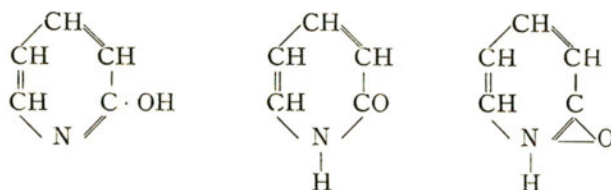
2. Primers intents d'aïllament de la vitamina B-1

És també aproximadament en aquesta època que comencen els assaigs de Funk per a aïllar la vitamina B i poder aclarir el problema de la seva composició química, assaigs que, portats endavant amb una perseverança exemplar durant el transcurs de vint anys, li havien de valer d'una manera indiscutible el títol de *pioneer* en l'estudi químic de les vitamines, i li havien de proporcionar el goig de veure univer-

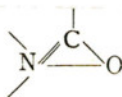
salment acceptada aquesta denominació, creada per ell, de «vitamines», tot i que després s'ha vist la seva falta de base en descobrir-se que en la seva composició química ben poca cosa tenen a veure amb les amines.

Aquests estudis el portaren, l'any 1912, a obtenir cristal·litzada per primera vegada una base orgànica bastant activa, a la qual atribuï una fórmula $C_{17}H_{18}O_4N(H \cdot NO_3)$ i que ell cregué que era la vitamina pura.

Schaumann, per la seva banda, cregué que contindria fòsfor en el seu nucli, hipòtesi desestimada per Seidell en demostrar evidentment que les fraccions actives no contienien aquest element. Williams li atribuï una composició semblant a la de la piridina, degut a la presència constant d'àcid nicotínic en la cutícula d'arròs, i per demostrar-ho emprengué una sèrie d'estudis, administrant al colom compostos químics semblants, i arribà a la conclusió que la α -hidroxipiridina i la 2-3-4-trihidroxipiridina, recentment preparades, presenten un cert poder contra el beriberi, poder que desapareix al cap de quatre o cinc dies. De les tres fórmules isòmeres de la hidroxipiridina



la última seria l'activa, el grup funcional característic de la qual és el



semblant al de les betaïnes, ço que estaria d'acord amb el fet que l'oridina, aïllada per Hofmeister, és un isòmer de la betaïna.

Finalment, com veurem dintre de poc, Windaus i els seus col·laboradors sembla que aquest any l'han obtinguda completament pura, i l'anàlisi elemental dels cristalls obtinguts els dona una fórmula $C_{12}H_{17}N_3OS$ que encara no poden assegurar definitivament, ni tampoc les seves diverses funcions químiques.

3. Propietats físiques i químiques de la vitamina B-1

Acció de la calor.—Sembla que en aquest respecte hi ha una gran diferència segons el contingut d'aigua del producte vitamínic, car mentre la calor humida la destrueix ja a 120° , escalfada durant una hora aquesta mateixa temperatura, en sec, la deixa totalment ininfluenciada. Portier i Randoin sostenen que a 130° , escalfant durant una hora la vitamina B, es destrueix totalment.

En canvi, el fred, així com la dessecació i l'envelliment, sembla que no tenen cap acció destructora. Grans de trenta-vuit anys, arròs de cent anys, etc., contenen encara tot llur valor en vitamina B.

Acció dels àcids i dels àlcalis.—L'àcid sulfúric a 20° , actuant durant 24 hores sobre el llevat fresc, no solament no destrueix el seu poder vitamínic, sinó que sembla augmentar-lo. El clorhídric i l'àcid nítric tampoc no són nocius. En conjunt, sembla que els àcids són inofensius.

En canvi, els àlcalis actuant a una temperatura i a una concentració elevades i durant una llarga estona, la destrueixen del tot (Drumond, Mac Collum, Vedder i Williams, etc.).

A la temperatura ordinària i suficientment diluïts, no l'ataquen; àdhuc l'autolitzat de llevat sotmès durant cinc hores a l'acció de la sosa al 10 %, a la temperatura ordinària, conserva la seva acció.

Adsorció.—El factor B-1 s'adsorbeix molt bé en el negre animal i vegetal; en el silicat col·loïdal d'alúmina, etc. En canvi, tenen poca acció el caolí, la barita i la terra d'infusoris.

Precipitació.—El factor B-1 precipita molt bé amb l'acetat bàsic de plom; amb l'acetat bàric; amb els sulfurs de plom i d'argent; amb l'àcid pícric, amb els àcids fosfotúngstic i fosfomolíbdic, etc.

Solubilitat.—El factor B-1, com ja demostrà Ejkmann, és soluble en aigua. També ho és en alcohol diluït, qualsevol que sigui la seva reacció (Abderhalden). La solubilitat màxima és en l'alcohol de 70° (Funk). També és soluble en els alcohols metílic i propílic i insoluble en el butílic i isobutílic, cloroform i acetona absoluta. Respecte a l'èter i al benzè, divergeixen extraordinàriament les opinions dels diversos investigadors.

Diàlisi.—També fou ja Ejkmann qui demostrà la seva capacitat de dialitzar a través del paper pergamí, i usà àdhuc aquest mètode per a la seva purificació.

Espectre d'absorció.—Són diversos els experimentadors que han sostingut que la vitamina B-1 presenta bandes d'absorció característiques. Així, Damianowich veu en un llevat de cervesa una extensa banda d'absorció entre 248-260 $\mu\mu$, cosa que sembla indicar la presència d'un compost de pirimidina. En cristalls obtinguts de l'escorça d'arròs, segons el mètode de Jansen i Donath, Mukherji observa una marcada banda d'absorció entre 330-390 $\mu\mu$. Guha veu també una banda d'absorció a 260 $\mu\mu$, banda que presenta també un precipitat proteínic, obtingut per Dixon i Keilin en tractar d'aïllar

el citocrom del llevat del pa, i que presentava acció vitamínica a dosis de 10 mgr. De tota manera, totes aquestes experiències no demostren, ni de bon tros, que aquestes bandes d'absorció siguin específiques de la vitamina B-1, cosa que hauran d'intentar de demostrar noves investigacions.

Oxidació, reducció, etc.—L'oxigen, en presència de l'esponja de platí durant tres hores, és totalment inofensiu (Funk i Dubin), el mateix que l'ozon després d'un contacte de 16 hores (Zilva).

Tampoc no és sensible la vitamina B-1 a la reducció, per exemple per l'hidrogen en presència de pal·ladi (Funk i Dubin). També són inactius els raigs X, les radiacions ultra-violades i el radi.

4. Procés de purificació de la vitamina B-1

Generalment el primer pas de la preparació consisteix en una extracció alcohòlica o aquosa, preferentment en medi lleugerament àcid i a la calor.

Quan es tracta del llevat de cervesa, s'obtenen també molt bons resultats per l'autolisi, com per exemple en el mètode de Bickel i Nigmann, seguit per nosaltres repetidament.

Operi's com es vulgui, s'obtenen extractes en els quals abunden extraordinàriament substàncies estranyes que cal eliminar. Es recorre generalment a l'absorció per terra d'infusoris, negre animal, hidrat de ferro col·loidal, etc., descrita especialment en els mètodes de Seidell i d'Osborne i Wakeman.

Finalment, per a concentrar a partir d'aquests productes les vitamines, s'han proposat nombroses maneres d'operar, les més interessants de les quals són les següents:

a) *Precipitació per l'àcid fosfotúngstic*.—Tant aquest àcid com el fosfomolibdic, precipiten gairebé quantitativament la substància activa. És usat generalment com a mètode preliminar per al tractament amb altres compostos. Suzuki i els seus col·laboradors l'han usat amb gran èxit per a obtenir l'orizamina en brut, curativa a la dosi de 3 a 10 cgr.

b) *Precipitació per les sals de mercuri i argent*.—Les primeres precipiten molt incompletament la vitamina B-1. La més adequada és el sulfat mercurí, després el sublimat (clorur mercurí), i, finalment, el nitrat. Les segones, en canvi, ho fan més intensament, sobretot el nitrat d'argent amoniacal (Tsukiye). Precisament en el mètode de Seidell s'usa diverses vegades aquest reactiu, de la manera següent:

Es tracta el producte inicial amb nitrat d'argent, i s'obté un precipitat molt abundant, inactiu. Es filtra i es tracta el líquid filtrat amb nitrat d'argent amoniacal, i es forma altra vegada un precipitat, aquesta vegada actiu. Aquest precipitat, un cop eliminat l'argent, dona una substància inactiva, fàcil de cristal·litzar (la histidina) i una fracció de difícil cristal·lització, en la qual el nitrat d'argent amoniacal origina un nou precipitat, actiu a la dosi de 2 mgr. per dia.

c) *Precipitació per l'àcid pícric*.—Aquest mètode s'usa generalment com a complement dels anteriors, ajuntant a la solució alcohòlica de l'extracte actiu el seu pes en àcid pícric dissolt en alcohol metílic. Eliminant progressivament l'alcohol, s'obtenen una sèrie de precipitats, els primers dels quals són els més actius. Bertrand i Seidell, amb aquest reactiu, han pogut obtenir un extracte preventiu a la dosi diària de 4 mgr.

Encara hi ha tota una sèrie de mètodes per precipitació menys importants, tals com el taní, el iodur de bismut, el ferro col·loidal, etc., que es troben en tots els tractats de vitamines.

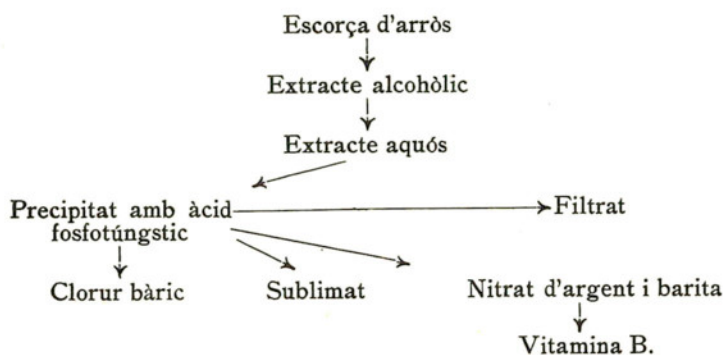
5. Mètodes de Funk

Per llur interès històric, escollim a continuació dos dels mètodes d'aïllament proposats per Funk: l'un a partir de l'escorça d'arròs, i l'altre del llevat de cervesa.

a) *Escorça d'arròs*.—Primerament extreu la cutícula amb alcohol clorhídric, evapora al buit i tracta el residu amb aigua calenta. La porció aquosa obtinguda, a la qual s'ajunta àcid sulfúric, es precipita amb àcid fosfotúngstic al 5 %. El precipitat es descompon amb barita i el filtrat, un cop eliminat l'excés d'aquesta, és molt actiu i no conté fòsfor, pròtids ni glúcids. Aleshores es neutralitza amb àcid clorhídric i es concentra al buit fins a consistència de xarop. El residu tractat amb alcohol dona un precipitat de clorur potàssic que es filtra, i la solució restant es precipita de bell nou amb sublimat, per a eliminar la colina, tòxica per als coloms. La solució restant és lliurada del clor pel sulfat d'argent, i, un cop eliminat l'excés d'argent i àcid sulfúric, s'acidifica la solució amb àcid nítric i es tracta amb nitrat d'argent, fins a donar un precipitat fosc amb la barita. D'aquesta manera es va incorporant solució saturada de barita mentre i tant que la solució clara obtinguda doni un lleuger precipitat fosc, per addició de solució amoniacal de nitrat d'argent. El precipitat, deslliurat per rentats de l'àcid nítric, es descompon per l'àcid sulfhídric, eliminant les darreres restes de barita amb àcid sulfúric molt diluït. Concentrant de seguida al buit, s'obté una solució molt activa. Evaporant la solució en el dessecador i tractant-la amb alcohol, pot obtenir-se una substància cristal·lina, igualment activa, que es presenta en forma d'agulles molt poc solubles en l'aigua i l'alcohol fresc i que es fonen a 233°. Aquest mètode té l'inconvenient d'ésser d'un peti-

tfssim rendiment, per tal com, a partir de 50 gr. d'escorça, s'obtenen només 0,4 gr. de substància activa.

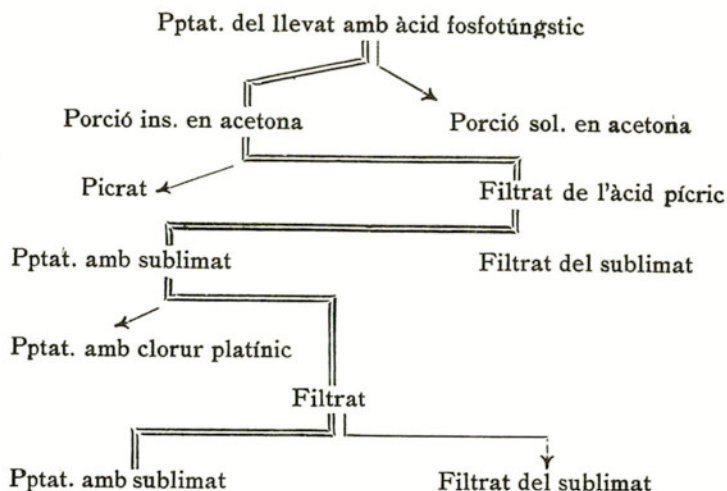
Funk el resumeix de la següent manera:



b) *Llevat de cervesa*. — Aquest mètode, descrit l'any 1916, es basa en la separació dels diferents fosfotungstats, segons llur distinta solubilitat en acetona.

El residu de l'extracció alcohòlica del llevat sec s'obté amb àcid sulfúric al 10 %, es dilueix l'extracte amb aigua, i es precipita amb àcid fosfotúngstic. El precipitat resultant es tritura diverses vegades amb acetona seca. La part insoluble, representant aproximadament el 5,1 % del precipitat total, conté totes les vitamines. El precipitat es descompon amb acetat neutre de plom, i la solució resultant es precipita amb àcid pícric, i s'obté un voluminós precipitat de picrat d'adenina, que es filtra. Com que la vitamina no cristal·litza a partir de les aigües mares, és necessari continuar el fraccionament amb sublimat, clorur platínic, àcid picrolònic, etc.

A continuació donem un diagrama del fraccionament successiu, en el qual la línia doble indica la porció que conté la vitamina.



6. Mètodes de Jansen i Donath i de Windaus i deixebles

a) *Procediment de Jansen i Donath*.—Els holandesos Jansen i Donath, l'any 1927, aconseguiren obtenir una vitamina B-1 impura, cristal·litzada, extraient la cutícula d'arròs amb aigua contenint 0,25 % d'alcohol etílic i 0,25 % d'àcid sulfúric, precipitant amb àcid fosfotúngstic, descomponent el precipitat amb barita, i precipitant les bases amb clorur de platí. Per descomposició amb corrent de sulfhídric i tractament amb or i picronolat, obtingueren una base que es presentava en cristalls i l'anàlisi elemental de la qual donava la fórmula empírica $C_6H_{10}ON_2$. Bastaven 4 mgr. d'aquest preparat, per kilògram d'arròs, per a preservar els ocells de la polineuritis.

Usant aquest mètode, diversos investigadors (Van Veen, Odake, etc.) aconseguiren obtenir, a partir de l'arròs, bonics cristalls de la suposada vitamina B-1; però la seva activitat en

els animals era molt diversa, i la puresa dels cristalls obtinguts, molt dubtosa. En canvi, a partir del llevat, els resultats foren negatius (Seidell i Smith, Kinnersley i Peters, Williams, Watermann i Gurin, etc.).

b) *Mètode de Windaus i els seus deixebles.*—Finalment, en el transcurs d'aquest darrer any ha estat possible a Windaus (el mateix savi alemany que obtingué fa uns quants anys el premi Nobel per la seva preparació de la vitamina D per irradiació de l'ergosterina), i als seus deixebles Tschesche, Ruhkopf, Laqueur i Schultz, donar cim victoriosament a unes experiències començades l'any 1929, arribant a aïllar la vitamina B, cristal·litzada, del llevat de cervesa.

El mètode següent és el següent:

Extracció del llevat amb alcohol, adsorció en terra d'infusoris segons Jansen i Donath, eliminació de les purines i altres substàncies per tractament amb sulfat mercuric i nitrat d'argent, i precipitació de les amines primàries i secundàries pel clorur de benzoil i carbonat sòdic, segons el mètode de Seidell, o sia per la seva transformació en amides àcides. El producte impur obtingut així es neutralitza i dilueix amb aigua fins que 100 c. c. de la solució corresponen a 50 gr. de llevat. Aleshores es precipiten 100 c. c. d'aquesta solució amb 50 c. c. de solució aquosa de clorur amònic al 4 %, i se separa un precipitat amorf, que es filtra de seguida. Al cap de poca estona comença a separar-se la sal àurica de la vitamina B-1 en cristalls grocs, que es poden recristal·litzar per curosa calefacció en aigua.

També es pot dissoldre la sal àurica en aigua, descompondre-la amb àcid sulfhídric, filtrant el sulfur d'or format i evaporant al buit el líquid filtrat. El residu es redissol en aigua i es torna a precipitar amb solució aquosa d'àcid picrolònic, en excés. Al cap de poc temps comencen a separar-se

cristalls en forma d'agulles, que es recristal·litzen en aigua. El picronolat de vitamina mostra dues formes de cristalls, transformables l'una en l'altra. A la temperatura de l'habitació es formen generalment agulles; a una temperatura més elevada, prismes. Escalfant-les amb poca aigua, les agulles es transformen en prismes que es fonen a 229°.

L'anàlisi elemental de les sals obtingudes, demostra que la vitamina B-1, a més de nitrogen, conté sofre, i la seva fórmula és $C_{12}H_{17}N_3OS$, si bé ja hem dit que encara no es podia assegurar d'una manera definitiva. Després d'obtenir aquestes sals obtingueren també el clorhidrat de vitamina, que cristal·litza, i els cristalls de la qual prenen a 220° una coloració groga i es fonen a 245°, tot descomponent-se. El clorhidrat és fàcilment soluble en aigua i alcohols etílic i metílic, i insoluble en acetona; no desvia el pla de la llum polaritzada, i el seu espectre d'absorció mostra un màxim entre 250-260 $\mu\mu$, coincidint amb els resultats, que ja hem exposat, de Guha.

Administrada als coloms una solució del preparat en solució fisiològica de clorur sòdic per injecció hipodèrmica, mostra ja activitat a dosis de 1,4 fins a 3,4 γ ; o sia unes tres vegades més petites que les de tots els preparats de vitamina B-1 obtinguts fins avui dia, a partir d'escorça d'arròs i de llevat de cervesa.

7. Riquesa de diversos vegetals en vitamina B-1

La vitamina B-1 es troba en gran proporció en les parts verdes de les plantes, els fruits i les escorces de les llavors, i és poc abundant, en canvi, en l'interior de les llavors i les arrels. També abunda en la llet, en la carn fresca, i en tots

els òrgans parenquimatosos. No es troba, en canvi, en el suc de llimona, on tant abunda el factor C. La concentració relativa en vitamina B-1 ha estat descrita en la forma següent:

Gra d'arròs amb escorça	250
Blat.	100
Fetge de vaca	50
Múscul de vaca	11
Patates	4

Nosaltres l'hem trobada en gran quantitat en el llevat de cervesa, el seu autolitzat, els seus extractes acetònics i alcohòlics, el suc de taronja, un preparat farmacèutic a base de diverses parts verdes de plantes, etc.

L'any 1927, Plimmer, 'Rosedale i llurs col·laboradors, resumien llurs estudis sobre concentració de la vitamina B-1, en la taula següent:

Llevat sec.	100
Llevat de pa	33-40
«Marmite» (Extr. comercial)	40-50
Llavor de blat	66
Blat total	8-10
Sègol	9
Ordi	7-8
Civada	4-5
Farina de civada	4
Serrahi	5-6
Segó	12-13
Segonet	12-13
Moresc	7-8
Mill	8
«Dari» (cereal de S. Africa)	8

En un altre treball dels mateixos investigadors de l'any 1931, es dona ja una llista més completa. Cal advertir

que totes les experiències han estat fetes en coloms i rates amb avitaminosi característica.

Substància	Contingut d'aigua	Contingut relatiu en vitamina B-1
Llevat sec.	0	100
Cereals.	—	10
Lleguminoses	—	13

Fruïtes:

Poma	85,3	—
Plàtan	70,8	—
Groselles roges . . .	85,7	—
Groselles negres . . .	80,8	—
Arlet	89,3	—
Raïms	84,7	—
Suc de taronja	87,0	20
Pell de taronja	78,9	13
Prunes	85,7	—
Maduixes	90,1	—
Tomàtecs	93,5	20

Verdures i fulles:

Faves	93,2	—
Cols	88,0	13
Col-i-flor	90,2	—
Api	93,7	—
Bretó (col).	83,3	—
Lletuga.	95,4	—
Espinacs	92,8	—
Col de cabdell	88,3	—
Créixens	93,9	20
Carxofes	79,7	9
Remolatxa	90,2	—
Pastanagues	87,0	—
Ceballots	85,3	—
Cebes	94,2	10

El complexe vitamínic B

23

Substància	Contingut d'aigua	Contingut relatiu en vitamina B-1
Xirivies.	72,6	—
Patates	80,5	12,7
Naps suecs.	88,8	—
Naps.	93,0	—

Com veiem, en general, els fruits i les verdures tenen un contingut en vitamina B-1 inferior al dels cereals i les lleguminoses. És sobretot interessant de remarcar, una vegada més, l'elevat contingut de les taronges, com ja havíem fet notar nosaltres, sobretot tenint en compte llur elevada producció a tot el llarg de la costa lleuantina.

Des d'un punt de vista agrícola, tenen també un gran interès les experiències portades a terme per Rowlands i Wilkinson, que, treballant amb distints adobs dues zones de terreny tractades igualment i amb la mateixa orientació, observen que l'herba que n'obtenen presenta grans diferències quant a llur activitat com a preventiva i curativa en les rates amb avitaminosi B. Si això es confirmava, restaria demostrat d'una manera concloent que la síntesi de les vitamines per les plantes depèn en alt grau de la composició química del sòl, i ens explicaria al mateix temps les notables diferències d'activitat vitamínica observades pels diferents autors en la mateixa planta conreada en distints llocs.

8. «Standard» internacional de vitamina B-1

Finalment, abans de passar a ocupar-nos dels altres factors constituents del complex vitamínic B, volem esmentar que en la darrera conferència, a Londres, de la Secció d'Hygiene de la Societat de Nacions, s'acordà la instauració d'una

preparació *standard* de vitamina B-1, com a única manera de posar fi a les molèsties i inconvenients produïts pel fet de la irregularitat dels distints productes vitamínics. Com a tal *standard* internacional de vitamina B-1 es designà un preparat de l'Institut Mèdic de Java, obtingut, a partir de l'escorça d'arròs, seguint els mètodes de Seidell i Jansen-Donath. Segons aquest acord, una unitat de la vitamina antineurítica B-1 es defineix com l'activitat antineurítica de 10 mgr. del producte.

Per a mantenir les rates joves en creixement normal calen de 10 a 20 mgrs. diaris d'aquest *standard*; i la seva dosi curativa diària, per al colom, és de 20 a 30 mgr. Aquest preparat *standard* es conserva bé durant anys a la temperatura de l'habitació si es manté en un lloc ben sec. El National Institute for Medical Research de Hampstead (Londres), on és conservat, n'envia mostres a les institucions de solvència científica que les demanen; i d'aquesta manera s'espera poder unificar, en un termini relativament curt, el desori que impera avui dia arreu del món respecte a la concentració dels preparats de vitamina B-1.

9. Factor B-2, o vitamina antipel·lagrosa de Goldberger

La pel·lagra és una malaltia descoberta per Casal al nord d'Espanya (Catalunya?), l'any 1735, i coneguda també a Itàlia, part de França, als Balcans (especialment Romania) i Egipte. A partir de l'any 1908 començaren a observar-se'n casos a Nord-Amèrica, on s'estengué ràpidament; de tal manera que el 1917 pogueren comptar-s'hi fins a 170000 atacats, sobretot en els Estats del sud.

Els seus símptomes principals són: mal de cap, mareig,

parestèsia i neuràlgia, convulsions, i a voltes alteracions psíquiques, que poden variar des de la malenconia fins a les manies. Al mateix temps que aquests fenòmens nerviosos, s'observen alteracions en el tractus gastro-intestinal i, finalment, modificacions cutànies, dins el quadre de dermatitis, èczemes, etc.; de manera que la pell intensament pigmentada de negre té l'aparença d'un pergami, d'on pren origen el nom de la malaltia.

Respecte a la seva etiologia, hi ha hagut i hi ha encara opinions per a tots els gustos, però s'ha atribuït principalment a una alimentació unilateral amb *moresc*, a voltes fet malbé. Segons reporta Urbeanu, el nombre anyal de víctimes a Romania, on la gent del camp s'alimenta especialment d'aquest gra, és esgarriós. Però, d'altra banda, a Nord-Amèrica s'han observat casos característics de pel·lagra en regions on mai no s'ha consumit *moresc*. Rondoni, per la seva part, volgué veure l'origen de la malaltia en una toxina fluorescent, groga, extreta del *moresc*; i Volpino en la pel·lagrogenina existent en aquest quan es troba fet malbé. A favor de la teoria atribuint la pel·lagra a una carència alimentícia, parla el fet d'haver-se estès aquesta malaltia a Nord-Amèrica, a darreries del segle XIX, a conseqüència d'una millora en la tècnica de moldre, segons la qual hom menyspreava les cutícules del gra.

Però és a les continuades experiències de Goldberger i els seus col·laboradors que es deu gairebé tot el que avui dia se sap clarament respecte a l'etiologia de la pel·lagra. Com sigui que una de les principals bases en què fonamentaven llur opinió els que creien en un origen infecciós de la pel·lagra era el fet que, en hospitals i manicomis on es creia que l'alimentació era igual per a tothom, els malalts presentaven la malaltia, mentre que llurs curadors i llurs metges no la

patien, segons ells per llurs majors precaucions contra la infecció; se li acudí, molt abans dels estudis de Mac Collum sobre dietes diferencials, observar si realment el fet de l'alimentació igual era cert. I pogué veure, enmig de l'astorament dels seus detractors, que en totes aquelles institucions el menjar dels internats era molt inferior al de llurs curadors i, sobretot, al de llurs metges! I també que, com més verdures i cereals consumien els pacients, més freqüents eren els casos de pel lagra. Seguint aquesta sèrie d'experiències, portà després Goldberger a terme uns altres estudis en una colònia de presos, a cadascun dels quals, si se sotmetia a la investigació, s'amnistiava. Onze d'aquells presos, en les millors condicions de salut i desenvolupament, foren sotmesos durant set mesos a una alimentació i un règim de vida semblant al dels teixidors de cotó dels Estats del sud, on amb major freqüència es presentava la malaltia. L'alimentació consistia en farina de blat, farina de morenc, arròs polit, midó, sucre, melassa, greix de porc, patates dolces, cols i cafè. D'aquells onze homes, cinc començaren a presentar, al cap de cinc mesos i mig, lesions cutànies que diferents dermatòlegs diagnosticaren com a pel·lagra; l'èxit de l'experiència no podia ésser més definitiu! Per acabar, però, de combatre la hipòtesi d'una possible infecció, Goldberger i quinze dels seus col·laboradors intentaren transmetre's la pel·lagra per mitjà de transfusions de sang, cultius d'excrements, orina, etc., sense que cap d'ells mostrés el més lleu símptoma de malaltia.

Aleshores començà a estendre's la teoria atribuint la pel·lagra a manca de proteïnes i especialment de determinats aminoàcids, com és ara cistina, lisina i triptòfan, defensada, entre altres, per Wilson, Sullivan, Stanton, Dawson i el mateix Goldberger. En canvi, Hinhede sosté que la malaltia no pot ésser deguda a una manca d'aminoàcids, per tal

com el seu assistent Madsen va poder viure tot un any solament de patates i margarina, i dos anys de pa, patates, sopa de cols i sopa de fruites sense greix. Sigui com sigui — el problema de l'etiologia de la pel·lagra avui encara és lluny d'ésser resolt — és interessant de recordar que la zeïna del moresc, aliment gairebé exclusiu dels atacats, és considerada de temps com una proteïna incompleta, degut a la seva manca de triptòfan i lisina; i d'altra banda, que Chick i Roscoe, i Chick i Hume han vist que l'alimentació dels simis amb les albúmines del moresc origina aviat una pèrdua de pes i una dermatitis, que són guarides gairebé totalment per l'addició de triptòfan als aliments.

Finalment, l'any 1925, estudiant Goldberger i Tanner la malaltia dels gossos denominada *llengua negra* (*black-tongue*), observaren que la seva zona de difusió era aproximadament la mateixa de la pel·lagra, i que es produïa per la manca d'un factor vitamínic específic que denominaren P. P. (pel·lagra preventive) i després, els americans, G. Aquest factor que aconseguiren aïllar del llevat i del múscul de bou, seria, segons ells, una substància termostable, resistint magníficament la temperatura de 120° durant dues hores a l'autoclau; més fàcilment soluble en l'aigua acidulada que en l'alcohol de 80° i destruïble solament per la carbonització del llevat. Posteriorment, Chick i Roscoe, Hassan i Drummond, i molts d'altres observen també que per a la creixença de la rata, ultra els productes rics en vitamina antineurítica (per exemple, extracte de blat) cal incorporar als aliments un altre factor existent en el llevat, *termostable i alcalinoestable* (diferència amb el factor B-1, que ja hem dit que era termolàbil i alcalinolàbil). Com veurem, aquestes propietats són molt semblants a les dels factors «bios» de Wildiers, d'utilització nutritiva de Randoin i Lecoq, i glucofixador de Collazo

i Pi-Suñer Bayo, cosa que sembla que dóna dret, si més no, a intentar comparar-los.

Intentem, a continuació, estudiar una mica la composició i el comportament químics d'aquest factor B-2.

10. Propietats químiques del factor B-2, o antipel·lagraós

La vitamina B-2 no és precipitada ni per l'àcid túngstic, ni el flaviànic, ni el pícric, ni el clorur de benzoïl, reaccions totes usades per a identificar el factor B-1. L'àcid nítrós ni la precipita ni la inactiva. L'acetat de plom i el nitrat d'argent, la precipiten parcialment. L'esterificació deixa un 40 % de vitamina en la porció no esterificada, i és inactiva l'esterificada. No és atacada per la tripsina. El carbó animal l'adsorbeix a un pH normal (4,6) sense que després es pugui eluir amb alcohol aquós, alcohol propílic al 30 % o saponina diluïda.

De tot això sembla deduir-se provisionalment que la vitamina B-2 no és una base, un àcid o un pèptid, sinó una substància neutra. D'altra banda, és totalment estable davant d'anhidrid sulfurós, aigua oxigenada i ozon, i bastant insoluble en alcohol de concentració major al 70 %, en volum (Narayanan i Drummond).

11. Maneres de separar factors B-1 i B-2

Com sigui que els mètodes per a separar ambdós factors són molt nombrosos, ens limitarem a mencionar-ne alguns dels més importants:

a) Hogan i Hunter les separen per irradiació. Sotmetent preparats de llevat durant deu hores a la làmpara de quars, a una distància de 25 cm., observen que aquells conserven totes llurs propietats antineurítiques, però perden en absolut les de la vitamina B-2 o de creixement.

b) Salmon tracta l'extracte alcohòlic contenint el complex vitamínic amb terra d'infusoris, amb la qual cosa en determinades condicions s'adsorbeix el factor antineurític, i en altres el de creixement. Randoïn i Lecoq usen també la terra d'infusoris, i nosaltres, últimament, seguint el seu mètode, hem obtingut excel·lents extractes de vitamina B-2 lliure de B-1, a partir del llevat de cervesa corrent. Insistent Salmon en el seu mètode, observa que la terra d'infusoris adsorbeix principalment el factor antineurític en un medi de pH entre 3,0 a 5,5; mentre que la de creixement ho fa a un pH de 0,08.

c) Levene tracta l'extracte alcohòlic vitamínic per sis vegades consecutives amb gel silícic, de manera que el factor B-2 o termostable no s'adsorbeix, mentre ho fa molt bé el B-1 o termolàbil.

d) Hunt separa ambdós factors escalfant en l'autoclau a 121°, destruint-se la B-1 i restant la B-2.

e) Williams i Wattermann dialitzen l'extracte vitamínic per una membrana de col·lodió, en presència de terra d'infusoris.

f) Hassan i Drummond tracten l'extracte vitamínic amb alcalis concentrats, de manera que es destrueix el factor antineurític tot i subsistint el de creixement.

g) Chick i Roscoe tracten el complex vitamínic amb alcohol de 80°, en el qual és soluble el factor B-1 i insoluble el B-2.

h) Rosedale tracta l'extracte acètic vitamínic amb acetat

de plom. Es precipita la vitamina B-2 totalment, mentre la B-1 continua en solució.

i) Collazo i Pi-Suñer Bayo escalfen l'extracte vitamínic a 100-200°, d'una a tres hores, en recipient obert. La vitamina B-2 es conserva, i la B-1 es destrueix.

j) Birch i Guha obtenen per electròlisi vitamina B-1 completament lliure de la B-2, sense que puguin aïllar, viceversa, la segona de la primera, segurament per descompondre's aquella durant l'electròlisi.

12. Distribució en la natura del factor B-2

Guha ha vist que l'extracte fresc de fetge de bou és més ric de vitamina B-2 que els extractes aquosos de llevat de cervesa, de múscul de bou i de concentrat de fetge Elly Lilly, ja que aquell extracte arriba a actuar en dosis de 40-60 mgr. diaris.

Nosaltres, amb Collazo, hem observat l'elevat contingut de vitamina B-2 de la taronja valenciana, sobretot de la varietat Washington Navel, dels preparats a base de llevat de cervesa, etc.

Roscoe, qui ha treballat durant quatre anys en la valoració del complex vitamínic B en la majoria dels aliments, resumeix últimament els seus resultats en la següent taula:

Potència	Vitamina B-1	Vitamina B-2
Més de 100	Llavor de blat	Fetge de bou
100	Llevat de cervesa	Llevat de cervesa
100-20	Fetge de bou	Llavor de blat
	Rovell d'ou	Rovell d'ou

El complexe vitamínic B

31

Potència	Vitamina B-1	Vitamina B-2
10-20	—	Múscul de bou
	—	Clara d'ou
	—	Créixens
	—	Pèsols (secs)
	—	Blat (sencer)
	—	Espinacs
	—	Moresc (sencer)
	—	Cols verds
10-5	Múscul de bou	Llet
	Créixens	Lletuga
	Taronja	Cols etiolades
	Lletuga	Pastanaga
	Espinacs	Bananes
	Cols etiolades	—
	Pastanagues	—
	Bananes	—
5-2,5	Patates	Patates
	Cols verds	Pomes
	Tomàtecs	Taronges
	Naps	Tomàtecs
	Pomes	Naps
	Cebes	Cebes

Aquests nombres són calculats a base de la quantitat necessària de material fresc per a obtenir en les rates un creixement de 50-60 gr. durant cinc setmanes, comparada amb la quantitat de llevat equivalent.

En plena concordança amb aquests resultats, es troben els de Weatherly i Watermann, Shermann, House, Nelson i Haber, etc. Finalment pel que fa referència a l'efecte del temps sobre el contingut de vitamina B-2, Roscoe ha vist que pastanagues guardades durant tot l'hivern, presenten igual activitat que en la primavera última, i Osborne i Mendel observaren que la riquesa de complex

hidrosoluble B era igual en les patates noves que en les velles.

13. Factor «bios» de Wildiers

Pasteur, l'any 1858, demostrà que el llevat era capaç de desenvolupar-se en un medi sintètic que contingués sucre, cendres de llevat, tartrat amònic i *una mica de llevat fresc de cervesa, de la grandària d'un cap d'agulla*. Liebig, en canvi, menyspreant la presència del llevat i tenint solament en compte la part inorgànica del medi, sostingué que no hi obtenia creixement ni fermentació, i s'entaulà de bell nou una de les nombroses controvèrsies científiques entre ambdós savis, que tan profitoses havien d'ésser per a la Ciència. Fou sols al cap de trenta anys que Wildiers aconseguí explicar aquestes diferències observant que només amb el medi nutritiu, o amb aquest i quantitats insignificants de llevat, era impossible d'obtenir el cultiu, i que Pasteur l'havia obtingut mercès a la petita quantitat de llevat de cervesa que hi afegia. Aquest factor existent en el llevat, necessari per al seu creixement, l'anomenà Wildiers factor «bios».

Les sèves propietats físiques i químiques més interessants eren: solubilitat en aigua, alcohol metílic i alcohol etílic de 80°; insolubilitat en l'alcohol absolut i l'èter; precipitació per l'àcid fosfotúngstic; resistència més gran a la calor en medi àcid que en medi alcalí; presència en l'extracte de carn de Liebig, en la peptona, etc. Continuant aquestes experiències, Wildiers, Funk, Williams, etc., han vist que aquest factor presentaria grans analogies amb la vitamina B. Williams fou el primer a sostenir la identitat dels dos factors, en una sèrie d'experiències en les quals compara

l'acció de diverses substàncies naturals sobre la creixença de les rates i dels seus extractes aquosos sobre la dels llevats, i observà un relatiu paral·lelisme. Entre les substàncies assajades es trobaven: llevat, espinacs, tomàtecs, patates, naps, etc.

En canvi Funk, Harrow i Paton, en una altra sèrie semblant, obtenen resultats ben poc satisfactoris. Finalment Eddy, Heft, Stevenson i Johnson, estudiant sistemàticament extractes aquosos de diverses substàncies, troben entre els resultats en rates i llevat, una concordança molt relativa i tant més marcada com més diluït era l'extracte usat. En allò que es refereix a la sensibilitat comparada dels factors «bios» i B-1 als agents físics i químics veiem que, mentre en medi alcalí la vitamina es destrueix més o menys totalment, el factor «bios» resisteix (com el factor B-2) (Eddy, Heft i Stevenson). D'altra banda, de Souza i Mac Collum veieren que en el gra de blat sotmès a la calor en presència de bicarbonat, es destrueix totalment el factor B-1 (proves en rates), mentre presenta encara una acció estimulante sobre la creixença del llevat.

Aquestes diferències existeixen igualment en allò que fa referència a les seves solubilitats, car, mentre el factor «bios» és insoluble en l'alcohol metílic i en l'etílic a 96°, la vitamina B-1 és soluble en tots dos alcohols (Williams i Olsen). Finalment, es diferencien també en llur possibilitat d'ésser adsorbides, de tal manera que els mateixos autors veuen que l'alum col·loïdal adsorbeix més fàcilment la vitamina B-1 que el «bios», i que, en canvi, amb la terra d'infusoris, passa tot el contrari. En resum, podem dir que les propietats del factor «bios» són, si no idèntiques, almenys extraordinàriament semblants a les de la vitamina B-2.

14. Intentos de descobrir la natura química del factor «bios»

Ja Wildiers, en descriure per primera vegada el factor «bios», sostingué que era una substància orgànica soluble en aigua i alcohol de 80 % i no precipitable per l'acetat neutre o bàsic de plom, ni nitrat d'argent amoniacal.

Més endavant, Devloo cregué que la substància activa tindria un cert parentiu amb la colina, i quelcom de semblant sostingueren Fränkel i Schwarz, Suzuki i d'altres; però posteriors experiències de Fränkel i Scharff han demostrat que la colina no sols no ajuda al creixement del llevat, sinó que el n'inhibeix.

Aquest problema s'ha complicat en aquests darrers temps per la controvèrsia entre Eddy, Kerr i Williams, els quals sostenen que han aïllat una substància unitària amb les propietats característiques del «bios» i que estimula la creixença del llevat, i Fulmer, Duecker i Nelson que en canvi, diuen que el «bios» consta de diversos components, un dels quals sembla ésser l'inositol. Amb aquest parer coincideixen també Miller i Eastcott. Tots aquests autors creuen que el «bios» és una substància cristal·lina que fon a 223°, presenta caràcter bàsic nitrogenat, i no dóna cap de les reaccions de les amines primàries, però origina una bencenosulfoamida cristal·lina.

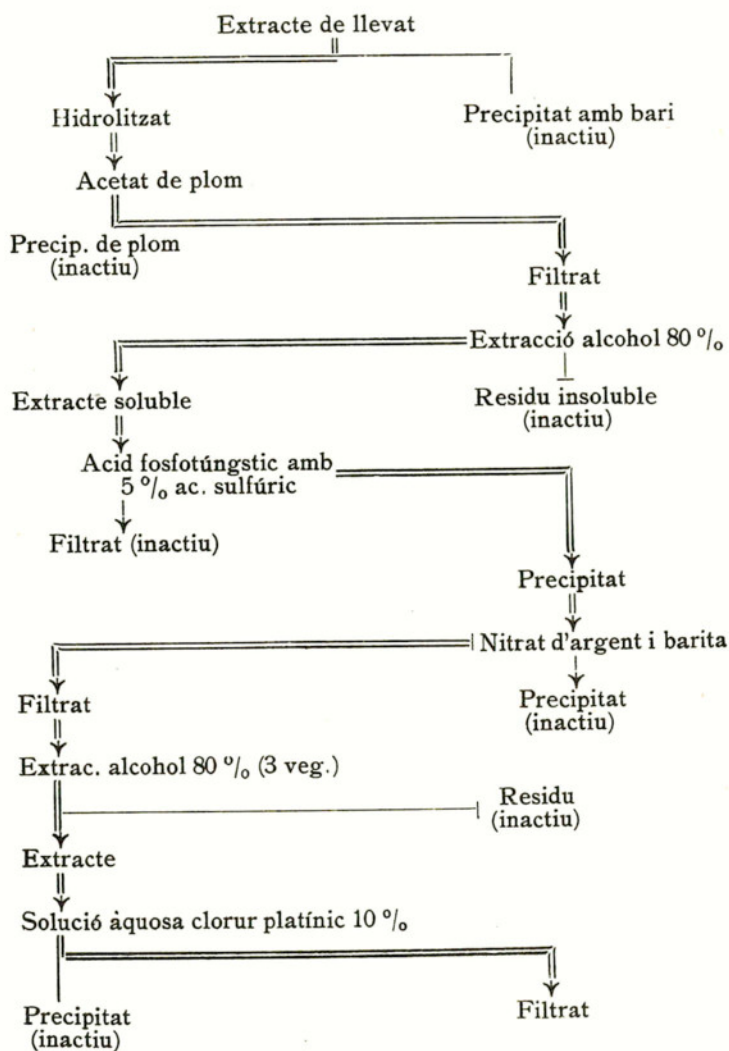
Kerr, d'altra banda, sosté haver aïllat un nou «bios», denominat β , base nitrogenada molt higroscòpica i capaç per ella sola d'activar el creixement del llevat. Últimament, Narayanan ha assajat una sèrie de substàncies que s'havien volgut identificar abans amb el «bios» per diversos investigadors (àcid nucleic, clorhidrat de guanina, sulfat d'adenina,

uracil, àcid nicotínic, betaïna, colina, cefalina, lecitina, cada-verina, espermina, exosadifosfat de fermentació, etc.), i amb totes ha obtingut resultats negatius. Aquest mateix autor, després d'obtenir el «bios» per un mètode que descrivim a continuació, ha estudiat la seva composició, i ha vist que conté un 15,6 % de nitrogen i que està lliure de fòsfor. Dóna reacció negativa amb els reactius de Millon, Folin-Denis, Deniges, ninhidrina, etc., i no precipita amb àcid pícric, sulfat mercuric i clorur mercuric. El tractament amb àcid nítrós i àcid nítric diluït disminueix bastant el seu poder, però l'aigua oxigenada en calent el destrueix totalment en trenta minuts.

Finalment, i continuant la moda, Buston i Pramanik creuen haver descobert un nou factor activant el creixement del bolet «*Nematospora Gossypii*», que diuen que es troba en relació estreta amb el «bios», però no és idèntic. No cal dir amb quina prevenció hom ha d'acollir aquestes noves aportacions, que, lluny de facilitar la visió clara del problema, contribueixen encara més i més, mercès a un extremat desig de diferenciació, a enterbolir-lo.

15. Mètode per a obtenir el factor «bios» partint del llevat

Narayanan descriu la següent marxa extractiva per a arribar a obtenir el factor «bios» pur, partint d'un extracte de llevat:



El filtrat obtingut d'aquesta manera és ja actiu sobre el creixement del llevat, en dosis de 0,01 mgr. o sia les menors trobades fins avui.

16. ¿Existeixen realment els factors B-3 de Williams i Wattermann, i B-4 de Reader?

El primer, assenyalat per primera vegada per Williams i Wattermann l'any 1928, seria, segons ells, un factor termolàbil necessari per al creixement dels coloms, però no per al de les rates, i completament diferenciat dels factors B-1 i B-2. Igualment opinen Hunt i Wilder, els quals sostenen que el factor B-1 és termolàbil en medi àcid i alcalí; el B-2 és termostable en totes condicions, i el B-3 sembla ésser termolàbil escalfat durant cinc hores a l'autoclau, en medi alcalí ($\text{pH}=9$). Halliday i Williams i Lewis, diuen que també es caracteritza per la seva insolubilitat en l'aigua.

Finalment, Lecoq, tenint en compte les grans similituds que presenten aquest factor i el d'utilització nutritiva de Randoin i ell, es pregunta si en el fons no serien el mateix, i les petites diferències observades no serien degudes als diferents règims existents a França i a Amèrica, i al fet que la malta francesa no té amilasa, ço que explicaria la major conservació del seu factor enfront del de Williams.

En allò que es refereix al factor B-4 de Reader, descrit per primer cop l'any 1930, aquest autor sosté que es troba en el llevat de cervesa, actua indiferentment sobre el creixement de les rates i els coloms (diferència amb B-3) i es distingeix de B-1 i B-2 pel seu comportament davant de la calor i altres agents. De tota manera, la seva vertadera independència és molt discutible, mentre i tant no s'obtinguin millors coneixements de la seva natura química i paper biològic.

D'altra banda, cal tenir en compte un altre fet que contribueix en gran manera a aquesta excessiva diferenciació, i és l'ús de diferents animals com a testimonis de les distintes

vitamines. Així veiem que per als estudis sobre el factor B-1, antineurític, s'usa generalment el colom; per al B-2, la rata; per a l'antipel·lagraós, el gos; per al factor «bios», l'augment de pes dels llevats, etc., etc.

17. Factor d'utilització nutritiva de Randoin i Lecoq

Ja en nombroses experiències que dugueren a terme Randoin i Simonnet en el bienni 1923-24, alimentant els coloms per força amb sonda, per evitar la causa d'error deguda a l'anorèxia dels animals en polineuritis, veieren que la quantitat de vitamina B que aquells necessiten no depèn pas de l'animal en ell mateix, sinó que es troba en relació amb la quantitat de sucres consumits diàriament. Randoin i Simonnet resumiren provisionalment aquests estudis en les conclusions següents:

1.^a La crisi polineurítica i la mort dels animals avitaminosos és tant més precoç, com més gran és la quantitat de glúcids ingerits.

2.^a Com més glúcids digeribles contingui la ració, més quantitat de vitamina B ha de contenir per a ésser suficient, o sia que hi ha una relació molt neta entre l'aprofitament per l'organisme dels glúcids digerits i la quantitat de vitamina B present en les racions.

3.^a Si l'energia es subministra únicament sota la forma de lípids i pròtids, els animals poden viure durant un temps relativament llarg i àdhuc presentar-se un començament de creixement, amb una ració privada totalment de vitamina B.

Al mateix temps, els autors exposaren la hipòtesi que l'energia potencial continguda en els glúcids absorbits, sols pot ésser degudament utilitzada per les cèl·lules si el règim conté al mateix temps una suficient quantitat de vitamina B;

si aquesta falta, comença un estat d'inanició parcial que s'agreuja per l'acumulació de productes tòxics derivats dels glúcids o produïts per llur no utilització, causa inicial dels accidents nerviosos o crisis de polineuritis. Aquesta hipòtesi s'adiu molt bé amb el fet demostrat per Abderhalden i la seva escola — del qual ens ocuparem succintament més endavant — de la disminució dels processos oxidatius en els estats avitaminosos B, i amb les experiències de Randoin i Fabre sobre el contingut en glutathion — un dels reguladors dels processos òxido-reductors més fàcils de determinar — dels músculs avitaminosos, observant la seva disminució en aquests casos, i com augmenta de nou en administrar als animals, vitamina B. Nosaltres, amb Collazo, hem constatat també aquesta disminució en el contingut de glutathion dels coloms en avitaminosi B, en relació amb els controls. J. Pi-Suñer Bayo i M. Farran demostraren, també, l'augment de l'oxigen urinari absent en els animals avitaminosos, i aquest fet ha estat observat també per Alpern, Kauffmann-Cosla, Bickel, Eggleston i Ross, etc.

Aquesta teoria de Randoin i Lecoq, atribuïnt a la vitamina B un paper definitiu en el procés d'aprofitament dels sucres, es basa igualment en les ja clàssiques experiències d'Ejkmann, Funk, Collazo, Tasawa, Tcherkes, etc., demostrant que la mort per beriberi és més ràpida si s'augmenta la quantitat d'hidrats de carbó en la ració, i en les de Collazo i Ghese, Kauffmann, Rosenwald, Alpern i Collazo i Collazo i nosaltres, ensenyant que en l'avitaminosi les hormones que regulen normalment el metabolisme dels glúcids, com insulina, adrenalina, hipofisina, tiroïdina, etc., tenen una acció molt reduïda, i la insulina és l'única que aconsegueix de millorar alguns símptomes, sense guarir la malaltia poli-neurítica.

Contra aquest fet — del qual ens ocuparem més extensament en estudiar els nostres assaigs sobre el «factor glucificador» — hi ha les experiències de Kon i Dummond, els quals creuen que la vitamina B té una acció específica sobre el metabolisme dels pròtids i no el dels glúcids, teoria sustentada també per Hartwell, però combatuda amb èxit per Shermann i Gloy, els quals demostraren que, qualsevol que sigui la proporció de caseïna que forma part de la ració, no augmenta la necessitat de vitamina B dels animals. Si realment algun paper tinguessin els pròtids, sembla que seria més aviat en el sentit de les experiències de Randoin i Lecoq, o sia afavorint la reabsorció de determinats glúcids, tals com la lactosa i la galactosa. Finalment, Randoin i Evans i Lepkovski han vist que els lípids en l'avitaminosi B tenen un indubtable paper protector.

Continuant l'any 1926 Randoin i Lecoq aquests estudis, veieren, però, que uns extractes de llevat pràcticament desproveïts del factor antineurític pròpiament dit no impedièn la mort dels coloms després de fortes crisis nervioses, però en canvi permetien de mantenir regulars llur pes i llur temperatura fins el darrer dia d'experiència. Aquestes experiències, comprovades posteriorment per Hauge i Carrick, Salmon, Rosedale, etc., portaren finalment Randoin i Lecoq, l'any 1927, a sostenir l'existència d'un factor d'utilització dels glúcids, al qual donaren el nom — per al nostre gust més fàcil a originar confusions i menys exacte — de «factor d'utilització nutritiva». Les seves principals característiques serien: resistir la calor seca, l'oxidació i l'hidrogenació; ésser poc alterat per la calor humida actuant durant dues hores a 120°, i ésser destruït per la irradiació ultraviolada i la hidròlisi alcalina.

Finalment, recordem que Randoin i Lecoq sostenen

també l'existència d'un altre factor, que anomenen *d'utilització cel·lular*, termostable i alcalinoestable que caldria sempre per al creixement dels coloms. Avui dia, però sense cap mena de por, podem identificar-lo en absolut amb el factor «bios» o de creixement del llevat.

18. Factor glucofixador de Collazo i Pi-Suñer Bayo

Com ja hem dit altres vegades, aquest factor és segurament el mateix de Randoín i Lecoq, però amb un nom que creiem més apropiat a la seva funció específica.

Efectivament, havent demostrat en una sèrie d'experiències que els animals avitaminosos B (de tot el complex) presentaven un evident quadre d'alteració de llur metabolisme hidrocarbonat, exterioritzat especialment en hiperglucèmia, hipoglucogènia, hiperlactacidèmia, i hipoglutationèmia, i que l'administració d'autolitzat de llevat regularitza ràpidament aquest metabolisme patològic, en forma que presenta de nou valors normals i guariment de la malaltia, creguérem molt interessant d'investigar l'acció dels preparats termostables — lliures de vitamina antineurítica B-1 — sobre el metabolisme dels glúcids.

Per a obtenir aquests preparats contenint solament les vitamines hidrosolubles termostables, recorreguérem a l'escalfament de les substàncies mares — autolitzat de llevat de cervesa, suc de taronja, i preparat farmacèutic ric de vitamines — en recipient obert i en la seva acidesa, d'una a tres hores a 100-120°. D'aquesta manera obtinguérem extractes completament lliures de vitamina B-1 o antineurítica.

Aplicant a animals amb avitaminosi B característica (coloms) aquests tres preparats frescos (llevat, suc de taronja i

especialitat fàrmacèutica) o sia contenint tot el complex, guariren ràpidament, com és natural. Donant-los els preparats escalfats (presència de vitamines termostables, amb absència de la B-1) no guarien dels atacs de polineuritis, però desapareixien els símptomes de la glucopatia: hiperglucèmia, hipoglucogènia, hiporlactacidèmia i hipoglutatiònèmia, ço que demostra clarament que el factor termostable del complex vitamínic B és el que posseeix d'una manera específica el poder regulador sobre el metabolisme dels hidrats de carbó, motiu pel qual l'anomenarem «factor glucifixador». L'únic punt que resta quelcom dubtós és el referent a la lactacidèmia, sobre la qual no sols actua la vitamina B-2, sinó que sembla també la B-1. És a dir, que la hiperlactacidèmia observada en els animals avitaminosos B no tindria una relació única amb les altres alteracions del metabolisme dels glúcids degudes al factor termostable, sinó que s'originaria potser també per la manca de B-1, factor antineurític.

Experiències recents, encara no publicades, realitzades simultàniament en rates i coloms, semblen demostrar-ho una vegada més. En aquestes experiències hem fet dos lots d'animals: els uns amb avitaminosis B-1 i els altres amb B-2, mitjançant dietes adequades, i els anàlisis de llurs òrgans, un cop sacrificats tots els animals quan els avitaminosos B-1 començaren a presentar símptomes evidents de crisis polineurítics, coincideixen amb els de les experiències anteriors.

D'altra banda, això està d'acord amb el que ha estat observat per Findlay sobre la disminució en el contingut de glioxalasa en els animals polineurítics — o sia disminució en les possibilitats de transformació de l'àcid làctic — i no tant amb l'afirmació de Vogt-Moeller, segons la qual l'avitaminosi B-1 seria una intoxicació amb metilglioxal, teoria recent-

ment combatuda per Abderhalden, en veure que l'administració als animals polineurítics de dosis elevades de metilglioxinal no influeix en res ni accelera l'aparició dels atacs nerviosos. Recordem també que Kinnersley i Peters han constatat una acumulació d'àcid làctic en el cervell dels animals amb beriberi típic; que Gavrilesco i Peters han vist que el cervell dels coloms polineurítics presenta una menor capacitat d'oxidació que el dels controls, mesurades amb els mètodes de Warburg i Meyerhof; que Fischer observa que l'àcid làctic produït per l'activitat muscular és fàcilment oxidat i re-sintetitzat pels teixits en els animals normals, mentre que s'acumula en els avitaminosos, fets que concorden en absolut amb el que havem observat nosaltres en les nostres últimes experiències, encara no publicades.

19. «Atmungsstoffe» d'Abderhalden

Havent observat Abderhalden, l'any 1920, que en els animals amb beriberi la temperatura descendia sempre, ja fos lentament, ja fos de cop, se li acudí d'investigar a què es deuria aquesta caiguda del potencial calòric de l'organisme, i arribà a demostrar amb els seus estudis sobre el recanvi respiratori total i el dels teixits especialment (Abderhalden i nombrosos col·laboradors, 1920-32), que la seva causa era una disminució general en els processos d'oxido-reducció. D'això en deduí que en el complex vitamínic B hi havia un factor de gran importància per als processos redoxidatius, el qual anomenà factor o substància de respiració (Atmungsstoff).

Efectivament, n'hi havia prou que administrés als animals amb atacs de polineuritis, amb consegüent temperatura baixa,

una mica de llevat o d'un altre producte qualsevol ric en el complex vitamínic B, perquè, al mateix temps que eren guarits els atacs, augmentessin la temperatura i els processos d'òxido-reducció.

Com veiem, aquests fets estan en plena concordança amb les experiències que ja hem descrit de Randoín i Fabre, Eggleton Collazo i nosaltres, Pugliese i Negri, etc., que observaren una acumulació de glutatión en els teixits dels animals avitaminosos, en ésser tractats amb substàncies contenant vitamina B, i es lliga també amb el fet, igualment descrit, de l'acumulació de l'àcid làctic en els òrgans dels animals avitaminosos, per dificultats en la oxidació.

Contra aquests fets hi ha, però, sempre encara, qui com Galvao i Cardoso, Burack i Cogwill, etc., opina que només són manifestacions de l'estat de decandiment i anorèxia dels animals avitaminosos B, i mai fenòmens específics produïts per la manca d'aquest complex vitamínic. Per a acabar de respondre a aquestes objeccions n'hi haurà prou amb recordar les últimes experiències d'Abderhalden i Wertheimer, els quals demostren d'una manera indubtable que en els animals amb avitaminosi B-1 l'aportació de llevat augmenta notablement els fenòmens òxido-reductius, mentre que en els animals simplement en inanició o no ho fa gens o, en tot cas, en una proporció insignificant.

20. Vitamina B i cozimasa d'Euler

Contra el que suposen alguns autors, Kinnersley i Peters, i el mateix Euler i Mirbäck opinen que la cozimasa de la fermentació, termotable i dialitzable, factor indispensable per a la fosforilització de la molècula d'exosa i per a la dismutació

posterior del metilglixal, no seria el mateix que les diverses vitamines B. Reforçant aquest punt de vista, Guha reporta que diverses preparacions de vitamina per ell observades no presenten ni la reacció de Molisch, característica per a la cozimasa, ni mostren la presència de sofre en la seva molècula, com aquella. D'altra banda, sembla que la cozimasa, sota determinades condicions, és més sensible a la calor i susceptible a l'acció de les nucleosidases, davant les quals resta indiferent la vitamina.

Finalment, recordarem que, segons l'escola d'Euler, en el llevat hi ha dues classes d'activadors; el que anomenen el *grup Z*, que augmenta la velocitat de la fermentació deixant del tot invariable el nombre de cèl·lules, i el *grup B. P.*, que augmenta el nombre de cèl·lules originades per unitat de temps. Sembla que és en aquest darrer grup que caldria comptar el factor «bios» de Wildiers, l'activador de Boysen-Jensen, la substància de creixement de Went, la rizopina de Nielsen, l'auxina de Kögl i Haagen i tots aquests activadors del desenvolupament del llevat descrits els últims anys, i que en el fons deuen ésser tots una mateixa cosa o, si no, molt semblants.

21. Vitamines B i creixença dels tumors

Són diversos els autors que han volgut suposar també una relació entre el complex vitamínic B i el creixement dels tumors: així Burrow, Caspari, Ottensoover, Sweet, Corson-White i Saxon creuen observar que la deficiència de vitamines B dificulta el creixement dels tumors experimentals de la rata; pero això no ha estat ben comprovat. En canvi, també abunden els investigadors que no creuen que existeixi

cap lligam entre ambdós fenòmens: Drummond, Benedict, Thies, Jackson i Krantz, etc., etc. Finalment, Gilvoy creu que, tot el més, el creixement dels tumors en presència d'abundants vitamines B és degut al gran contingut d'arginina dels aliments rics d'aquelles vitamines.

22. Vitamines B i factor de l'anèmia perniciosa

També el fet que el fetge dels mamífers contingui tanta quantitat de vitamina B-2 posà sobre la taula la qüestió de si aquesta no seria el mateix que el factor específic contra l'anèmia perniciosa, pregunta basada també en la disminució del nombre de glòbuls roigs en l'avitaminosi B-2, descrita per Sure, Kik i Smith.

Les seves propietats químiques, ja descrites, estan, però, en contradicció amb les d'aquest factor que Dakin, West i Howe veieren que era un compost d'àcid β -hidroxiglutàmic i 1- γ -hidroxiprolina.

D'altra banda, l'hemina i l'hemoglobina no milloren gens l'animal amb avitaminosi B-2, i darrerament Guha i Mapson han vist que, amb aigua bullent, és possible d'extreure del fetge de bou una substància que, sotmesa en medi alcalí a l'autoclau, pot ésser completament alliberada del factor B-2, però continua posseint una intensa acció específica sobre la formació dels glòbuls roigs.

23. Resum del complex vitamínic B

Resumint tot això que hem exposat ràpidament sobre els diversos factors principals constitutius del complex vitamínic B

descrits fins avui, creiem que seria un gran bé intentar-ne la unificació al més possible, sobretot tenint en compte que les diferències que separen alguns d'ells són tan ínfimes, que poden molt bé ésser degudes a divergències en la manera de treballar els diversos investigadors, diferències en la capacitat de reacció d'animals distints davant del mateix agent, variacions en el contingut vitamínic de les mateixes substàncies a latituds distintes, etc., etc. Per tot això opinem que, tot al més, s'haurien d'admetre en el complex vitamínic B tres classes de factors, ço és, a saber:

1.^r Factor antineurític, termolàbil i alcalinolàbil, d'acció específica sobre la polineuritis aviar.

2.ⁿ Factor antipel·lgrós, termostable i alcalinoestable, d'acció específica sobre la pel·lagra. Un apartat d'aquest estaria constituït pels factors B-3 de Williams i Watterman; B-4 de Reader; d'utilització nutritiva de Randoïn i Lecoq, glucofixador de Collazo i Pi-Suñer Bayo; ferment respiratori (Atmungsstoffe) d'Abderhalden, etc., etc., en el fons tots el mateix o amb tan petites variants, que ni valdria la pena de tenir-les en compte en una classificació; i

3.^r Factor «bios», termostable i alcalinoestable, d'acció específica sobre el creixement del llevat. Al mateix grup pertanyerien el factor d'utilització cel·lular de Randoïn i Lecoq, el grup B. P. d'Euler, i totes les substàncies, descrites per nombrosos autors, d'acció sobre el creixement i reproducció de diverses bactèries i del llevat.

Solament amb una classificació així, reduïda al mínimum, seria possible al qui intenti orientar-se per primera vegada en els treballs publicats sobre aquest problema tan interessant, d'adquirir una visió de conjunt i no sucumbir ràpidament, descoratjat i abatut, sota el deversall d'índex, sub-índex, exponents i denominacions més o menys gracioses i gratuïtes

que inunden avui dia la literatura internacional. A intentar d'aclarir-ho una mica és destinada aquesta modesta memòria, que no creiem que tingui altres mèrits que el fet de basar-se en treballs personals d'investigació i el d'anar nodrida del nostre major entusiasme per aquests temes.

*Institut de Fisiologia
de la
Generalitat de Catalunya.*

Barcelona, agost de 1932.

RÉSUMÉ

Vu le grand nombre de prétendus facteurs B, ou de facteurs plus ou moins étroitement en rapport avec eux, décrits par les investigateurs pendant ces dernières années, nous avons cru intéressant de tenter la compilation et la classification des plus importants, en tenant compte principalement de leurs propriétés physiques et chimiques, de leur constitution et de leur action pharmacologique.

Les facteurs dont nous traitons sont:

- B₁ ou anti-névritique de Ejkmann,
- B₂ ou anti-pélagreux de Goldberger,
- B₃ ou de croissance de Williams et Wattermann,
- B₄ ou de croissance de Reader,
- d'utilisation nutritive de Randoin et Lecoq,
- glyco-fixateur de Collazo et Pi-Suñer Bayo,
- «Bios» de Wildiers,
- «Atmungsstoff» d'Abderhalden, etc.

Après une rapide étude de chacun d'eux, et après avoir spécialement considéré ce qui les rapproche et ce qui les différencie, nous concluons que tous ces facteurs peuvent, à notre point de vue, se diviser en trois grands groupes:

Premier: Facteur anti-névritique primitif de Ejkmann, *termolabile et alcali-labile*, à action spécifique sur la poli-névrite aviaire et le beri-beri humain.

Deuxième: Facteur anti-pélagreux de Goldberger, *thermostable et alcali-stable*, à action spécifique sur la pélagre. On pourrait y rattacher les facteurs hidro-solubles de la croissance de Williams et Wattermann et de Reader, encore insuffisamment étudiés, surtout ce dernier; celui d'utilisation nutritive de Randoin et Lecoq; le glyco-fixateur de Collazo et Pi-Suñer Bayo, probablement identique au précédent, mais dont nous nous occupons assez longuement puisque nous avons participé et participons encore à son étude; les ferments respiratoires d'Abderhalden, etc.

Troisième: Facteur Bios de Wildiers, également *thermostable et alcali-stable*, à action spécifique sur la croissance de la levure. Il faudrait placer auprès de lui le facteur d'utilisation cellulaire de Randoin et Lecoq, le groupe B. P. d'Euler, etc.

Sans nul doute, cette classification est défectueuse, comme toutes celles qui tentent de classer en petits groupes un grand nombre de facteurs; mais nous la croyons intéressante pour ceux qui commencent l'étude de ces questions: elle les guidera à travers la confusion causée par les innombrables index, exposants et qualificatifs qui, par malheur, sont actuellement employés.

REFERÈNCIES

Per a la redacció d'aquesta Memòria han estat consultats especialment els següents llibres:

- E. WEILL i G. MOURIQUAND. Traitement préventif et curatif des Maladies par carence. Congrès Francès de Medicina, 1922.
- V. G. PLIMMER i R. H. A. PLIMMER. Vitamines and the choice of food. Londres, 1922.
- C. FUNK. The Vitamines. Traduït de la 2.^a edició alemanya per H. E. DUBIN. Baltimore, 1922.
- MEDICAL RESEARCH COUNCIL. Report of the present state of Knowledge of Accessory Food Factors (Vitamins). Londres, 1924.
- C. FUNK. Histoire et conséquences pratiques de la découverte des vitamines. París, 1924.
- E. CENTANI, A. PUGLIESE, P. RONDONI, A. ASCOLI. Vitamine e Avitaminose. Monografie di Chimica Biologica. Bologna-Trieste, 1925.
- L. RANDOIN i P. SIMONNET. Les données et les inconnues du problème alimentaire II. La question des vitamines. Les Presses Universitaires de France. París, 1927.
- RAGNAR BERG. Die Vitamine. 2.^a edició. Leipzig, 1927.
- E. V. MC. COLLUM i N. SIMMONDS. Neue Ernährungslehre. Traducció alemanya de la 3.^a edició anglesa, per L. ASHER. Berlín, 1928.
- L. RANDOIN i R. LECOQ. Les vitamines hydrosolubles du Groupe B. Opuscle extret del Bull. de la Soc. de Chimie Biologique. París, 1929.

- F. HAUROWITZ. Fortschritte der Biochemie. II part. Dresde, 1932, i tots els treballs publicats sobre aquest tema els darrers anys a les revistes «Biochemical Journal», «Journal Biological Chemistry», «Biochemische Zeitschrift», «Zeitschrift f. physiologische Chemie», «Bulletin de la Société de Chimie Biologique», «Pflüger's Archiv für die Gesamte Physiologie», etc. D'aquests creiem que els més interessants per a l'orientació bàsica del lector són els següents:
- A. WINDAUS, F. LAQUEUR, i col·laboradors. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* **204**, 123 (1932).
- B. C. GUHA. *Biochem. Journ.* **25**, 1367 (1931).
- KINNERSLEY i PETERS. *Biochem. Journ.* **24**, 711 (1930).
- GAVRILESCU i PETERS. *Biochem. Journ.* **25**, 1397 (1931).
- FISCHER. *Biochem. Journ.* **25**, 1410 (1931).
- SURE i SMITH. *Journ. biol. Chem.* **82**, 307 (1929).
- BURACK i COGWILL. *Journ. biol. Chem.* **96**, 685 (1932).
- HOGAN i HUNTER. *Journ. biol. Chem.* **78**, 433 (1928).
- SALMON. *Journ. biol. Chem.* **73**, 483 (1927).
- LEVENE. *Journ. biol. Chem.* **79**, 465 (1928).
- HUNT. *Journ. biol. Chem.* **78**, 83 (1928).
- WILLIAMS i WATTERMANN. *Journ. biol. Chem.* **78**, 311 (1928).
- HASSAND i DRUMMOND. *Biochem. Journ.* **21**, 653 (1927).
- CHICK i ROSCOE. *Biochem. Journ.* **21**, 703 (1927).
- ROSEDALE. *Biochem. Journ.* **21**, 1266 (1927).
- BIRCH i GUHA. *Biochem. Journ.* **25**, 1391 (1931).
- GILROY. *Biochem. Journ.* **24**, 1384 (1930).
- BUSTON i PRAMANIK. *Biochem. Journ.* **25**, 1671 (1931).
- DAVIS i GOLDING. *Biochem. Journ.* **24**, 1503 (1930).
- HUNT i WILDER. *Journ. biol. Chem.* **90**, 279 (1929).
- WILLIAMS i LEWIS. *Journ. biol. Chem.* **89**, 275 (1929).
- HOLLIDAY. *Journ. biol. Chem.* **96**, 479 (1932).
- LECOQ. *Journ. biol. Chem.* **91**, 671 (1931).
- EDDY, KERR i WILLIAMS. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **23**, 416 (1926).
- EASCOTT. *Journ. Physiol. Chem.* **38**, 1094 (1928).
- KERR. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **25**, 344 (1928).
- NARAYANAN. *Biochem. Journ.* **24**, 6 (1930).
- READER. *Biochem. Journ.* **24**, 77 (1930).
- GUHA. *Biochem. Journ.* **25**, 931 (1931).
- EULER i MIRBÄCK. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* **190**, 93 (1930).
- GUHA. *Biochem. Journ.* **25**, 945 (1931).

- CHICK i ROSCOE. *Biochem. Journ.* **24**, 105 (1930).
NARAYANAN i DRUMMOND. *Biochem. Journ.* **24**, 19 (1930).
SURE, KIK i SMITH. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **28**, 498 (1931).
DAKIN, WEST i HOWE. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **28**, 2 (1931).
GUHA i MAPSON. *Biochem. Journ.* **25**, 1674 (1931).
PLIMMER, ROSEDALE, RAYMOND i LOWNDES. *Biochem. Journ.* **21**, 1141 (1927).
PLIMMER, RAYMOND i LOWNDES. *Biochem. Journ.* **25**, 691 (1931).
ROSCOE. *Biochem. Journ.* **25**, 1205 (1931).
OSBORNE i MENDEL. *Journ. Biol. Chem.* **41**, 451 (1920).
AYKROYD. *Biochem. Journ.* **24**, 1479 (1930).
ROSCOE. *Biochem. Journ.* **25**, 2050 (1931).
ROWLANDS i WILKINSON. *Biochem. Journ.* **24**, 199 (1930).
KON. *Biochem. Journ.* **25**, 483 (1931).
ROCHE. *Bull. Soc. Chim. Biol.* **12**, 342 (1930).
SEIDELL. *Journ. Biol. Chem.* **82**, 633 (1929).
VOGT-MOELLER. *Biochem. Journ.* **25**, 418 (1931).
ABDERHALDEN i WERTHEIMER. *Pflüger's Arch.* **230**, 155 (1932).
GALVAO i CARDOSO. *Pflüger's Arch.* **229**, 422 (1932).
COLLAZO i PI-SUÑER BAYO. *Biochem. Zeitschr.* **238**, 335 (1931).
COLLAZO, PI-SUÑER BAYO i LISS. *Biochem. Zeitschr.* **227**, 326, (1930).
COLLAZO i PI-SUÑER BAYO. *Rev. Med. Barcelona* **92**, 99 (1931);
Biochem. Zeitschr. **250**, 89 (1932).
PI-SUÑER BAYO. *Memòria Doctoral*. Barcelona, 1932.
J. PI-SUÑER BAYO i M. FERRAN. *Rev. Med. Barcelona* **11**, 493, (1929), etc., etc.

ÍNDIX

	<u>Pàg.</u>
Generalitats	3
1. Avitaminosi B típica: beriberi i polineuritis experi- mental	5
2. Primers intents d'aïllament de la vitamina B-1	10
3. Propietats físiques i químiques de la vitamina B-1 . .	12
4. Procés de purificació de la vitamina B-1.	14
5. Mètodes de Funk.	16
6. Mètodes de Jansen i Donath i de Windaus i deixebles. .	18
7. Riquesa de diversos vegetals en vitamina B-1.	20
8. «Standard» internacional de vitamina B-1	23
9. Factor B-2, o vitamina antipel·lagrosa de Goldberger. .	24
10. Propietats químiques del factor B-2, o antipel·lagros .	28
11. Maneres de separar factors B-1 i B-2.	28
12. Distribució en la natura del factor B-2	30
13. Factor «bios» de Wildiers.	32
14. Intents de descobrir la natura química del factor «bios»	34
15. Mètode per a obtenir el factor «bios» partint del llevat	35
16. ¿Existeixen realment els factors B-3 de Williams i Wattermann, i B-4 de Reader?	37
17. Factor d'utilització nutritiva de Randoïn i Lecoq . . .	38
18. Factor glucofixador de Collazo i Pi-Suñer Bayo. . . .	41
19. «Atmungsstoffe» d'Abderhalden	43
20. Vitamina B i cozimasa d'Euler	44
21. Vitamines B i creixença del tumors	45
22. Vitamines B i factor de l'anèmia perniciosa	46
23. Resum del complex vitamínic B	46
Résumé.	49
Referències	51