

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/233882320>

# Droga pod słońce. Wczesna historia witaminy D

Article · January 2012

---

CITATIONS

0

READS

518

1 author:



[Jerzy Wicha](#)

Polish Academy of Sciences

325 PUBLICATIONS 1,944 CITATIONS

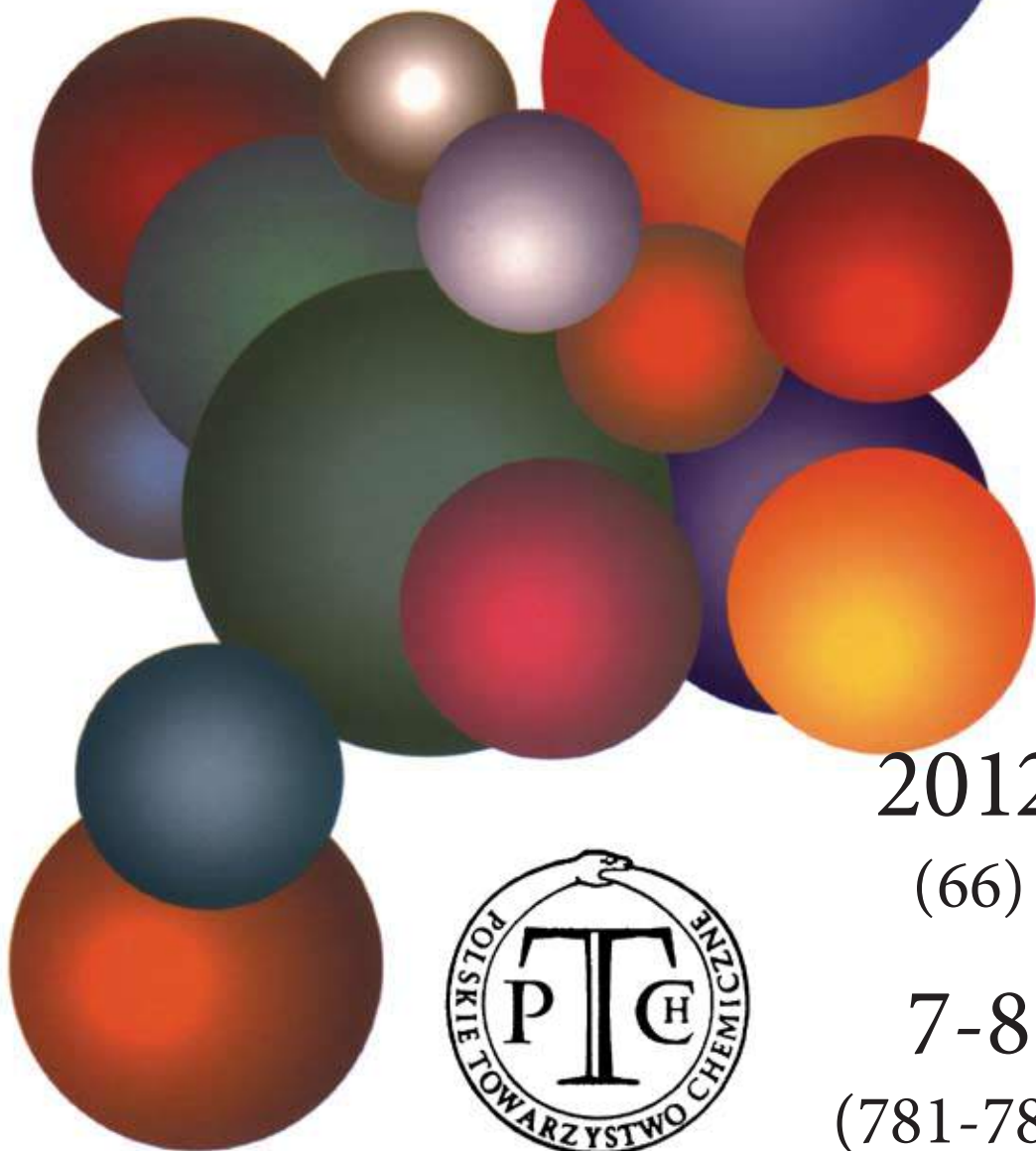
[SEE PROFILE](#)

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



scientific purposes [View project](#)

# WIADOMOŚCI *chemiczne*



2012

(66)

7-8

(781-782)

**DROGA POD SŁOŃCE.  
WCZESNA HISTORIA WITAMINY D**

THE ROUTE AGAINST THE SUN.  
EARLY HISTORY OF VITAMIN D

**Jerzy Wicha**

*Instytut Chemii Organicznej Polskiej Akademii Nauk,  
ul. Kasprzaka 44/52, 01-224 Warszawa  
e-mail: jerzy.wicha@icho.edu.pl*

---

Abstract

1. Podstawowe wiadomości o witaminach D
2. Pierwsze obserwacje
3. Tropem światła
4. Złoty wiek chemii
5. Trudna historia

Piśmiennictwo cytowane

---



**prof. dr. hab. Jerzy Wicha** studiował chemię na uniwersytetach w Odessie i w Moskwie. Stopień mgr chemii uzyskał w 1958 r. (Uniwersytet Moskiewski), dra w 1964 r. (Uniwersytet Warszawski) i dra hab. w 1970 r. (Uniwersytet Warszawski). Studia podoktorskie odbył w Worcester Foundation for Experimental Biology (USA) oraz University of Oxford. Od 1970 r. pracuje w Instytucie Chemii Organicznej PAN na stanowisku docenta a następnie profesora nadzwyczajnego (od 1980 r.) i zwyczajnego (od 1992 r.). Okresowo był zatrudniony jako wizytujący pracownik badawczy lub profesor m.in. na The University of Chicago, The University of Wisconsin-Madison i Cape Town University.

Specjalność: chemia produktów naturalnych (w szczególności steroidów), synteza totalna, metody syntezy. Uzyskał szereg wyróżnień, m.in. Medal Stanisława Kostaneckiego oraz wyróżnienie im. Bronisława Znatowicza Polskiego Towarzystwa Chemicznego.

## ABSTRACT

Two natural products are called „vitamin D”: (1) vitamin D<sub>3</sub> which is biosynthesized in humans and animals and (2) vitamin D<sub>2</sub> which is generated in photochemical rearrangement of a sterol of fungus – ergosterol (Fig. 1 and 2). The vitamins D are further metabolized (Scheme 1) first into 25-hydroxy- and then into 1 $\alpha$ ,25-dihydroxy derivatives in various tissues. The compounds control the calcium transport and act as a cell growth regulator important for tumor prevention.

The early history of vitamin D stems from outburst of rickets at the beginning of the industrialization era. Rickets was a child bond disease that often led to a permanent disability. A comprehensive description of the rickets was presented by D. Whistler (1619–1684) and then F. Glisson (1597–1677) and coauthors. Jędrzej Śniadecki (1768–1838) was the first who associated the rickets with the sunlight. In his book “On the Physical Education of Children” Śniadecki stated that exposition of a child’s body to a direct action of sunlight is the most efficient method for the prevention and the cure of rickets (Illustrations 1 and 2). T. A. Palm in 1890 observed that the rickets is rare in countries where sunshine is abundant and prevalent whenever there is a little of sunlight. The first experimental evidence on the sunlight effects in rickets were presented by J. Raczyński in 1912 who postulated that the sunlight affects metabolic processes in blood related to calcium transport (Illustration 3 and 4). E. Mellanby showed (1919) that the disease is connected to the lack of certain dietary factors and he recommended the use of cod liver – oil. K. Huldshinsky experimentally proved that UV irradiation cures the rickets. The Mellanby’s and Huldshinsky’s observations were confirmed by clinical studies in 1922.

E.V. McCollum has developed efficient methods for “biological analysis” of food and named anti-rachitic factor as vitamin D. H. Steenbock and A.F. Hess in 1924 found independently that various food products gain anti-rachitic properties after being irradiated with a UV lamp. A.F. Hees and A. Windaus showed that irradiation of ergosterol affords a product with high anti-rachitic activity.

In 1919 the first structure for cholesterol has been proposed by A. Windaus (Scheme 2, Fig. 3) and then with contribution of H. Wieland it was modified to the “Wieland-Windaus” structure (1928, Nobel Price lectures, Fig. 4). O. Diels’ investigation on dehydration of cholesterol (Fig. 5) and J.D. Bernal’s crystallographic measurements of ergosterol challenged the Wieland-Windaus structure. Finally, the correct structure for cholic acid and sterols was deduced by O. Rosenheim and H. King (Fig. 6).

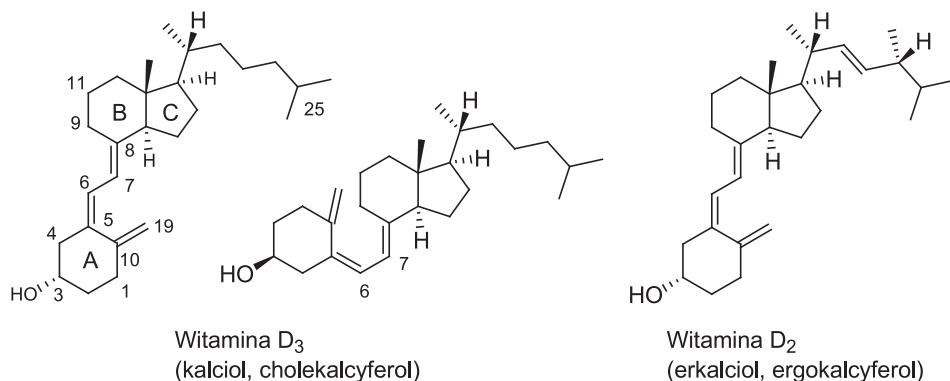
In 1932 crystalline vitamin D<sub>2</sub> was prepared in the Windaus laboratory (Scheme 3). In 1935 vitamin D<sub>3</sub> was isolated from a fish-oil and the same compound was synthesized from cholesterol (Illustration 5). The structure of vitamin D<sub>2</sub> was elucidated by Windaus in 1935 (Illustration 6) and confirmed by X-ray studies in 1948. Scientific contributions of Adolf Windaus are associated with his highest ethical standards and non-conformist political position in the national-socialist age.

**Keywords:** history, vitamin D, biosynthesis vs. nutrition, sterols, structural investigations, ultraviolet light, anti-rachitic diet

**Słowa kluczowe:** historia, witaminy D, biosynteza i żywienie, sterole, badanie struktury, światło ultrafioletowe, dieta przeciwrzywcza

## 1. PODSTAWOWE WIADOMOŚCI O WITAMINACH D

Dwa związki pochodzenia naturalnego noszą łączną nazwę „witamina D”: witamina D<sub>3</sub> (kalcioł, cholekalcyferol) oraz witamina D<sub>2</sub> (ergokalcioł, ergokalcyferol, kalcyferol). Cząsteczki witaminy D<sub>3</sub> i D<sub>2</sub> różnią się tylko budową łańcucha bocznego, jak zaznaczono we wzorach (Rys. 1, dla witaminy D<sub>3</sub> podano również wzór energetycznie bogatszego rotameru utworzonego przez obrót o 180° wokół wiązania C-6-C-7). Są to trójcykliczne alkohole, a ich znamioną cechą jest obecność układu sprzężonego trienu. W organizmie ludzkim witaminy D<sub>3</sub> i D<sub>2</sub> mają zbliżoną aktywność biologiczną.

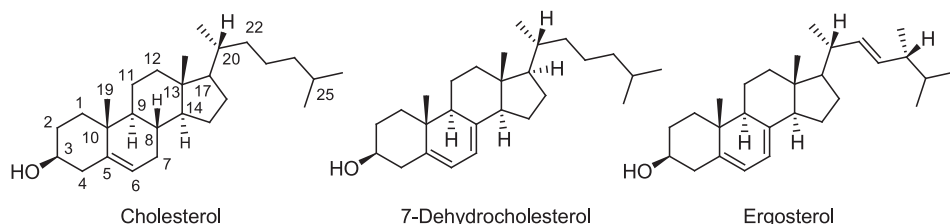


Rysunek 1. Wzory witamin D<sub>3</sub> i D<sub>2</sub>

Figure 1. Structural formulas of vitamin D<sub>3</sub> and D<sub>2</sub>

Prekursorem witaminy D<sub>3</sub> jest 7-dehydrocholesterol (prowitamina D<sub>3</sub>) (Rys. 2) będący pochodną cholesterolu – głównego sterolu w organizmach zwierząt (zosterole). Cholesterol pełni wiele funkcji fizjologicznych i stanowi ważne ogniwo w biosyntezie szeregu mediatorów procesów biologicznych, m.in. kwasów żółciowych, hormonów płciowych, hormonów kory nadnercza. W czystej postaci został wydzielony z kamieni żółciowych i opisany w końcu XVII w. (Chevreul). Witamina D<sub>3</sub> jest wytwarzana w organizmach zwierząt z jednostek octanowych, a także pobierana z pożywienia. Ścieżka biosyntezy obejmuje fotochemiczne przegrupowanie prowitaminy indukowane promieniami ultrafioletowymi spektrum słonecznego (280–350 nm).

Witamina D<sub>2</sub> tworzy się w drodze fotochemicznego przegrupowania ergosterolu (Rys. 2), który jest podstawowym sterolem biosyntetyzowanym w organizmach grzybów i drożdży (mykosterole) będącym także często spotykanym ubocznym składnikiem steroli roślin (sitosterole) i innych produktów naturalnych izolowanych z roślin. Ergosterol został wydzielony ze sporyszu ryżu i po raz pierwszy opisany przez paryskiego aptekarza Charlesa Tanreta w 1889 r. Organizmy zwierzęce mogą przyjmować witaminę D<sub>2</sub> z pożywienia.

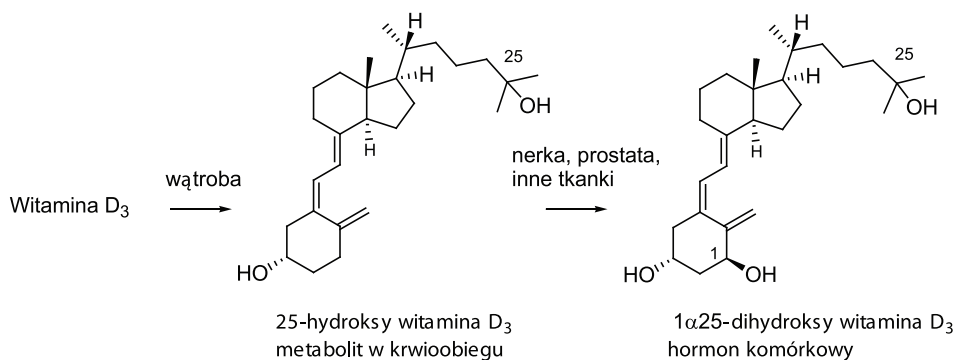


Rysunek 2. Wzory cholesterolu, 7-dehydrocholesterolu (prowitamina D<sub>3</sub>) oraz ergosterolu (prowitamina D<sub>2</sub>)  
 Figure 2. Structural formulas of cholesterol, 7-dehydrocholesterol (provitamin D<sub>3</sub>) and ergosterol (provitamin D<sub>2</sub>)

Fotochemiczna biosynteza witaminy D<sub>3</sub> w warunkach fizjologicznych przebiega w zewnętrznych warstwach skóry ludzkiej [1]. W umiarkowanej strefie klimatycznej, w lecie, kilkanaście minut działania słońca na ręce i twarz może wystarczyć do wytworzenia witaminy D<sub>3</sub> w ilości wystarczającej do pokrycia osobniczego dziennego zapotrzebowania, które szacuje się na 10 µg [2, 3]. Proces biosyntezy nie jest tak efektywny u osób o ciemnej karnacji skóry, a także u ludzi starszych i wiele poradników medycznych zaleca suplementację, np. zalecenia Health Kanada [4] przedstawiają się następująco: dla osób w wieku 19–50 lat – 5 µg [5 µg = 200 IU (international units)], 51–70 lat – 10 µg (400 IU) a tych mających 71 i więcej lat 15 µg (600 IU). W okresach braku oświetlenia słonecznego może być konieczne przyjmowanie większych dawek witaminy D<sub>3</sub> w zakresie 25–50 µg (1000–2000 IU). Odnosnie diety to szacuje się, że tłuste ryby, takie jak łosoś, makrela lub śledź, jak również suszone w słońcu grzyby, zawierają 300–500 IU witaminy D<sub>3</sub> lub D<sub>2</sub> na porcję. Obecnie dysponujemy metodami analitycznymi pozwalającymi oznaczyć poziom witamin D w organizmie i ewentualnie, zakres suplementacji.

W większych dawkach witamina D<sub>3</sub> jest toksyczna. Objawy toksyczności odnotowano u pewnych osób już przy spożyciu 5 000 IU dziennie wówczas, gdy inne nie wykazują objawów toksyczności przy 20 000 IU. Należy odnotować, że proces fotochemicznego generowania witaminy w skórze jest wyposażony w mechanizmy samoregulujące zapobiegające przedawkowaniu i efektom toksycznym.

We wczesnych latach 1970-tych ustalono [5–7], że witamina D<sub>3</sub> ulega dalszym przemianom metabolicznym (Schemat 1). Najpierw w wyniku utlenienia z udziałem cytochromu P-450, głównie w wątrobie, tworzy się 25-hydroksy witamina D<sub>3</sub> (kalcidiol). Jest to podstawowa postać witaminy D obecna w krwiobiegu. Następnie kalcidiol ulega specyficznej 1α-hydroksylacji z utworzeniem 1α,25-dihydroksy witaminy D<sub>3</sub> (kalcitriolu). Dopiero ten ostatni związek jest czynną postacią witaminy D oddziaływującą z receptorami. W analogiczny sposób przebiega metabolizm witaminy D<sub>2</sub>.

Schemat 1. Metaboliczne przemiany witaminy D<sub>3</sub>Scheme 1. Metabolic transformations of vitamin D<sub>3</sub>

Do niedawna uważano, że 1 $\alpha$ -hydroksylacja przebiega specyficznie w nerce, a podstawową funkcją ostatecznego metabolitu jest kontrola gospodarki wapniowej. Obecnie zgromadzono dowody na to, że calcitriol jest wytwarzany w wielu typach komórek, m.in. w prostaty, jelicie grubym, sutku. Uważa się, że pełni on funkcje hormonu komórkowego i regulatora wzrostu komórek niezwykle ważnego dla zapobiegania zwyrodnieniom nowotworowym [8].

Zakres leczniczych i profilaktycznych zastosowań witamin D ulega ustawicznemu poszerzaniu [9, 10]. Jednak odkrycie i barwna historia badań nad tymi bioregulatorami związane są z przyswajaniem wapnia i krzywicą, chorobą obecnie w znacznym stopniu już opanowaną.

## 2. PIERWSZE OBSERWACJE

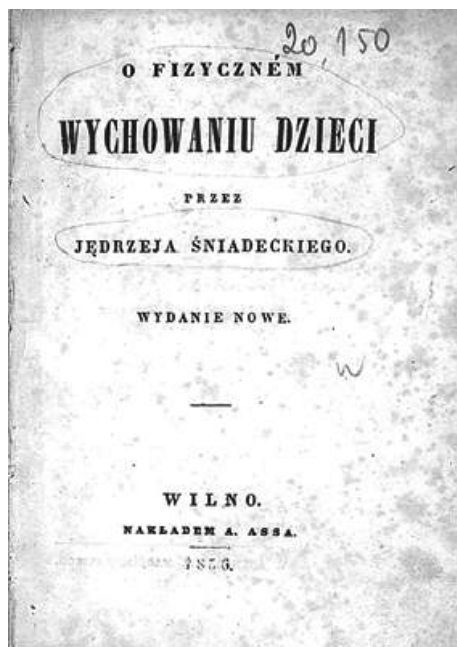
Krzywica pojawiła się jako choroba społeczna w połowie XVIII w. „Epidemię” obserwowano w Anglii na obszarach południowo-zachodnich, gdzie burzliwie rozwijał się przemysł tkacki i handel wełną. Pierwszy szczegółowy opis choroby został zawarty w dysertacji „De morbo puerili anglorum, quem patrio idioma indigande vocant the Rickets” (O chorobie dzieci angielskich, którą w mowie miejscowej nazywa się the Rickets) Daniela Whistlera (1619–1684), lekarza kształconego w Oxford i Leiden. Wkrótce potem ukazało się, najpierw po łacinie a później i w przekładzie angielskim, obszerne dzieło poświęcone krzywicy opracowane przez Francisca Glissona (1597–1677) i współautorów z College of Physicians w Londynie, George’a Bate i Assuerusa Regimortera. „Choroba angielska” (ang. *English disease*, *rickets* lub *rachitis*) została rozpoznana jako dziecięca choroba kości o poważnych skutkach dla całego organizmu, która często prowadzi do trwałego kalectwa [11].

Stosunkowo wcześniej odnotowano, że na chorobę angielską zapadają głównie dzieci ze średnich i wyższych warstw społecznych, wychowywane we względnym dostatku. Mimo prawidłowego rozpoznania nie znaleziono remedium na tę cho-



robę, a np. John Floyer w 1702 r. zalecał zimne kąpiele, a nawet uważał, że zanurzenie niemowlęcia w zimnej wodzie podczas chrztu może mieć działanie zapobiegawcze. „Złe powietrze” uważano powszechnie za jedną z przyczyn epidemii. Z dzisiejszej perspektywy wiemy, że zadymienie, zapylenie i tzw. smog powodują odcięcie części spektrum promieniowania słonecznego ważnej dla biosyntezy witamin D.

Francuski medyk Levacher de la Feutrie (1738–1790) opisał przebieg i rozmaite postaci krzywicy, diagnozę i ogólne rokowania dla chorych, a także konstrukcję ortopedycznych przyrządów, protez, gorsetów, itp., ułatwiające funkcjonowanie jej ofiarom.



Ilustracja 1. Jędrzej Śniadecki „O Fizycznym Wychowaniu Dzieci”, Wilno, 1856 r., strona tytułowa  
 Illustration 1. Jędrzej Śniadecki “On the Physical Education of Children”, Wilno, 1856, the title page

Pierwsze racjonalne spostrzeżenia na temat przyczyn choroby poczynił Jędrzej Śniadecki (1768–1838) kształcony w Krakowie, a także w Pawii i Edynburgu profesor chemii i farmacji w Głównej Szkole Litewskiej (później Uniwersytet Wileński), lekarz, mistrz medycyny społecznej i niez mordowany propagator higieny. Śniadecki uważnie analizował europejskie statystyki lekarskie, a wskazywały one na zgubny wpływ miast i wielkich skupisk ludzkich na stan zdrowia ich mieszkańców. W rozprawie „O fizycznym wychowaniu dzieci” datowanej z 1822 r. a wydanej najpierw w ramach edycji zbiorowej „Dzieła Jędrzeja Śniadeckiego”, Warszawa, 1840 r. a następnie niezależnie, Sanok, 1855 r. i Wilno, 1856 r. (Historyczne wydanie, Wilno, 1856 r., Ilustracja 1 i Ilustracja 2) pisał [12]:

„Najszczęśliwsze były i dotąd są te kraje, które albo żadnych miast nie miały i nie mają, albo bardzo mało; w takich tylko krajach człowiek zachowuje pierwiastkową swoją dzielność, i właściwą sobie swobodę. Mieszkaniec miasta nie tylko niewieścieje i osłabia się coraz bardziej, ale oswojony ze wszystkimi przygodami życia ludzkiego zatwardza się i staje obojętnym dla drugich; czyli krócej mówiąc, niewieścieje we względzie fizycznym, a w moralnym tygrysem się staje.”

I dalej (str. 34) „Zwyczajna śmiertelność dzieci (nierównie większa niż dorosłych) jest taka, iż w przeciągu pierwszych ośmiu lat z tysiąca narodzonych umiera 464. ... Tymczasem w wielkich miastach umiera połowa przed końcem nie ósmego, ale trzeciego roku; kiedy w szpitalu dzieciennym paryskim umierają przeszło dwie trzecie części w przeciągu pierwszych trzech tygodni.”

234

węj postrzeżono w miastach rękodzielnych zachodniej części Anglii.

Daje się ona widzieć, a przynajmniej jej początek, od dziewięciu miesięcy, do końca drugiego roku. Rzadko się poczyna później; ale raz poczęta trwa niekiedy lat kilka. A chociaż w wieku dojrzałym ustaje; zostawia wszakże po sobie wszystkie wady, wykrzywienia i sztywności, jakim dała początek. Nadto wielka głowa; ciało miękkie i chwiejne, kości około stawów pobrzękle, a w całym ciele miękkie i łatwo się oginające, tożdzień brzechy duży, stanowią główne cechy tej choroby. Jak skoro więc u dziecięcia głowa nad proporcją jest wielka, a kości około stawów pękate czyli lekko nabrzękle, o zapobieżeniu wybuchającej już choroby myślić należy; jeżeli się albowiem wykształciła zupełnie, rady lekarza użyć wypada. — Zapobiega się jej sposobem wychowania, a mianowicie jak największym staraniem o czystość; częstą odmianą diety, wycieraniem ciała flanelą lub szmatką, i częstym kąpaniem w wodzie zimnej lub stołowej. Jeżeli dziecko jest przy pierś, a matka morna, młoda i zdrowa; wiem z doświadczenia własnego,

235

że, ki nie tak szczęśliwie nie zapobiega zupełnie rozwinięciu się Angielskiej choroby, jak utrzymać dziecięcia przy pierś, aż do skończenia drugiego roku. Przeciwnie; jeżeli matka jest chorowita, słaba lub stara; albo ją natychmiast odmienić potrzeba albo dziecko odłączyć.

Przy tym należy z bacznością dziecięcego wyjąć wszystkie piernaty i poduszki pierzane, a użyć natomiast prostych siemników, lub przynajmniej materacy skorzanych, wbosem albo pilicją wypchanych; a kołdrę i odzież dać z grubej kurtki. Jeżeli pora roku pozwala, wypada trzymać dziecię na otwartym powietrzu i pozwolić pełzać na stołcu w piasku lub trawie; jeżeli nie, dać im pełzać w pokoju na posadzce, dywanach lub rogach. Owszem kąpiele piaszczyste w samym słonecznym upale, uważają się za walne w tej dolegliwości lekarstwa. Jeżeli majątek rodziców jest potężny, najlepiej wywieźć dziecię na wieś i chwila ile można w suchym, otwartym i czystym powietrzu. Jeżeli nie, należy je przynajmniej nosić lub wozzić w wolnym powietrzu, zwłaszcza na stołcu; którego bezpośrednio działanie na

Ilustracja 2. Jędrzej Śniadecki „O Fizycznym Wychowaniu Dzieci”, Wilno, 1856 r., str. 234–235, część opisu objawów krzywicy

Illustration 2. Jędrzej Śniadecki “On the Physical Education of Children”, Wilno, 1856, pp 234–235, part of the symptoms of rickets description

Krzywica była tylko jedną z wielu chorób cywilizacji przemysłowej, ale ważną i coraz bardziej rozpowszechnioną na terenie Polski. Jędrzej Śniadecki spostrzegł, że w miastach dzieci zapadają na nią częściej niż na wsiach (str. 85).

„To atoli pewna, że tylko w domach wygodnie, miękkie, a nade wszystko rozpustnie żyjących natrafić ją można; że nawet w familiach dostatnich nie jest tak pospolita na wsi jak w mieście; że jej nie zna pracowity rolnik ani wiejski rzemieślnik, ale że

już lubi dziatki przykutego – po miastach biednych – do warsztatu rzemieślnika lub wyblakłego i niechlujnego rękodzielnika, dla czego chorobę tę najpierw postrzeżono w miastach rękodzielnych zachodniej części Anglii”.

Zalecenia dla zapobiegania i leczenia rachityzmu zostały sformułowane w sposób następujący: (str. 85)

„Jeżeli pora roku pozwala, wypada trzymać dzieci na otwartym powietrzu i pozwalać pełzać na słońcu w piasku lub trawie; jeżeli nie – dać im pełzać w pokoju na posadzce, dywanach lub rogożach. Owszem, kąpiele piaszczyste w samym słonecznym upale uważają się za walne tej dolegliwości lekarstwa. Jeżeli majątek rodziców jest po temu, najlepiej wywieść dzieci na wieś i chować ile można w suchym, otwartym i czystym powietrzu. Jeżeli nie, należy je przynajmniej nosić lub wozić w wolnym powietrzu, zwłaszcza na słońcu, którego bezpośrednie działanie na ciało nasze do najskuteczniejszych sposobów zapobieżenia tej chorobie i jej wyleczenia policzyć należy”

W przypisie dodanym jako uzupełnienie do wyżej przytoczonych zaleceń czytamy (str. 86, przypis):

„Tak mocny i oczywisty wpływ słońca na wyleczenie choroby angielskiej tudzież jej okazywanie się pospolite po miastach ludnych, gdzie ulice są wąskie i mieszkania rzemieślników źle oświetlone, były powodem, żem tę chorobę porównywałem z wyciekaniem, czyli jak mówimy z francuskiego, etiologiem się roślin. Lecz gdy ją potem w domach dostatnich postrzegłem tu i ówdzie na wsi, zdania tego odstąpić musiałem.”

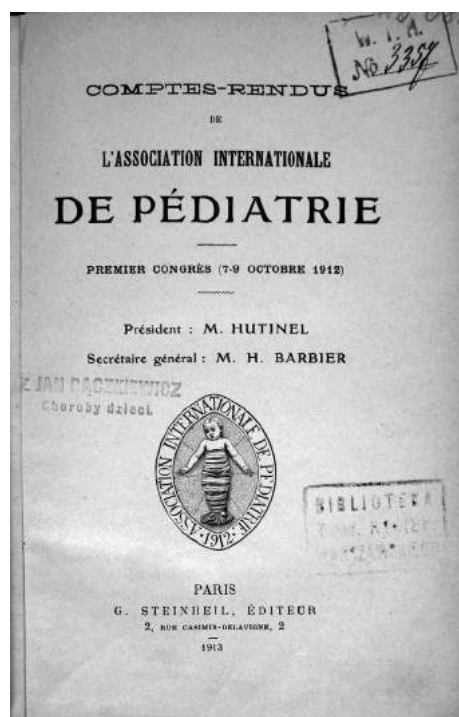
Jednoznaczne wskazanie, że krzywicę należy leczyć przez poddawanie dzieci bezpośredniemu działaniu promieni słonecznych i że brak światła słonecznego jest przyczyną występowania tej choroby miało charakter odkrycia pionierskiego i wyprzedziło o kilka pokoleń rozumienie etiologii tej choroby. W rozmaitych wcześniejszych źródłach wiedzy medycznej wskazywano na korzystny wpływ promieniowania słonecznego, lecz tylko w rozumieniu poprawienia ogólnej kondycji organizmu ludzkiego.

Obszerna rozprawa Śniadeckiego „O fizycznym wychowaniu dzieci” (około 90 str. w wydaniu wznowionym) nie została przetłumaczona na żaden z głównych języków publikacji naukowych, w przeciwieństwie do szerzej rozpowszechnionej „Teorii jestestw organicznych”. Sygnał o historycznie ważnych poglądach Jędrzeja Śniadeckiego dotarł do obiegu międzynarodowego tylko dzięki krótkiej notce Mozolowskiego [13] (Uniwersytet im. Stefana Batorego, Wilno) w czasopiśmie *Nature*, w 1939 r., „Jędrzej Śniadecki (1768–1838) on the Cure of Rickets”. Tym niemniej, priorytet Śniadeckiego uznaje się w części współczesnych monografii na temat krzywicy i witamin D.

Wypada dodać, że dopiero blisko 100 lat później Hess i Unger [14] opublikowali wyniki doświadczeń w nowojorskiej klinice dziecięcej „The Cure of Infantile Rickets by Sunlight”, stanowiące formalne potwierdzenie obserwacji Śniadeckiego (oczywiście bez cytowania).

Angielski lekarz działający w Japonii, Theobald A. Palm, spostrzegł, że ten kraj był wolny od krzywicy. Po kontaktach ze swoimi kolegami pełniącymi posłannictwo medyczne w różnych częściach świata uznał, że rozpowszechnienie krzywicy jest w odwrotnej zależności od stopnia ekspozycji ludności na promieniowanie słoneczne. Swoje obserwacje przedstawił w 1890 r. w artykule pt. „The geographic distribution and etiology of rickets” [15]. Były one zgodne z nieco wcześniejszym raportem British Medical Association na temat geograficznych uwarunkowań występowania chorób. Artykuł Palma nie znalazł szerszego oddźwięku, jednak w latach 1920-tych został on Prezesem Ligi Światła Słonecznego (The Sunlight League) łączącej kilka nurtów pierwszych organizacji ekologicznych.

Wyniki badań doświadczalnych nad przyczynami krzywicy i znaczeniem promieniowania słonecznego dla zwierząt doświadczalnych zostały przedstawione na Pierwszym Kongresie Światowego Towarzystwa Pediatrycznego w Paryżu, w 1912 r. Autorem wykładu „Recherches expérimentales sur le manque d'action du soleil comme cause du rachitisme”, którego streszczenie zostało zamieszczone w materiałach Kongresu wydanych w 1913 r. [16] (Ilustracja 3), był Jan Raczynski (1865–1918), urodzony w Nowym Sączu i wykształcony w Krakowie profesor medycyny na Uniwersytecie Lwowskim.



Ilustracja 3. Książka abstraktów 1-szego Kongresu Międzynarodowego Stowarzyszenia Pediatrycznego w Paryżu, 1912 r., strona tytułowa

Illustration 3. Book of abstracts of the First Congress of the International Pediatric Association in Paris, 1912





Oto trzy krótkie fragmenty, które odzwierciedlają poglądy autora:

„Wiemy już dzisiaj, że przyczyna niewapnienia kości nie leży ani w braku wapnia w pożywieniu, ani w zmniejszonym wchłanianiu wapna z przewodu pokarmowego, tylko najprawdopodobniej polega ona na utracie zdolności osadzania wapna krążącego we krwi przez nowowytworzoną tkankę kostną.” (str. 328)

„Wynik chemiczny naszego, jakkolwiek tylko jednego doświadczenia, daje nam podstawę do wypowiedzenia zapatrywania, że brak działania słońca na ustrój wpływa ujemnie na osadzanie soli wapniowych i fosforanowych w kośćcu młodocianego ustroju, a gdy zubożenie ustroju w sole stanowi istotę krzywicy, możemy przyjąć, że brak wpływu słońca na ustrój jest przyczyną tej choroby.” (str. 342)

„Przypuścić tu można bezpośrednio działanie promieni słonecznych na nowowytworzoną tkankę kostną w ten sposób, że nabiera ona zdolności osadzania wapna lub też, że ten wpływ słońca idzie drogą skomplikowanych procesów w przemianie materij, np. przez działanie na biologiczne własności krwi, mające niewątpliwie doniosłe znaczenie dla czynności komórek tkanki kostnej i chrząstki” (str. 342).

Jan Raczyński, wielce zasłużony dla pediatrii lwowskiej i polskiej, pozostał ściśle związany ze środowiskiem swoich studiów i początków praktyki lekarskiej i klinicznej. W zakończeniu poświęconej mu noty pośmiertnej w *Przeglądzie Lekarskim* [18] (pióra Stanisława Rogulskiego) czytamy:

„Miał szczególne umiłowanie i kult dla muzyki, której w wolnych chwilach się z przejęciem oddawał. Gościnny dom Jego, piastujący tradycję przyjaźni Wyspiańskiego, Malczewskiego, Żeleńskich, Rydla, Kasprowicza i wielu, wielu innych twórców parnasu polskiego, był przystanią dla intelektu i sztuk pięknych, a promieniując wysoką kulturą duchową, stanowił jakby miniaturę umysłowości Aten polskich – Krakowa.”

Odkrywcza praca Raczyńskiego, niestety, nie doczekała się odpowiadających jej znaczeniu cytowań w literaturze światowej, aczkolwiek jest znana polskiemu środowisku pediatrycznemu [19].

Odmienne podejście do badań nad krzywicą przyjął brytyjski lekarz, fizjolog i organizator służby zdrowia Edward Mellanby [20]. Powtarzalnie hodował on rachityczne szczenięta na diecie składającej się z płatków owsianych, ryżu lub chleba oraz odtłuszczonego mleka i oleju lnianego – produktów, które stanowiły podstawę żywienia ludności wysp brytyjskich. Wykazał następnie, że uzupełnienie takiego pokarmu niewielką ilością masła, łożu, oleju z wątroby dorsza (tranu), itp. zapobiega występowaniu choroby. Tran okazał się najbardziej skuteczny i na tej podstawie został zalecony jako przeciwkrzywiczny dodatek do diety dzieci. Należy odnotować, że w pracach tego badacza czynnik światła został całkowicie pominięty (zwierzęta prawdopodobnie nie były wystawiane na bezpośrednie promieniowanie słoneczne).

W okresie, gdy zostały opublikowane badania nad rachitycznymi szczeniakami (1919 r.) szybko zyskiwała na znaczeniu koncepcja Kazimierza Funka (sformułowana w Londynie) o znaczeniu witamin w leczeniu chorób niezakaźnych, do których zaliczono m.in. krzywicę. Poznano witaminę B, która okazała się mieszaniną

różnych związków oraz przeciwskorbutową witaminę C (obydwie rozpuszczalne w wodzie). Praca Mellanby wyśmienicie mieściła się w tym nowym nurcie badań fizjologicznych, a dotyczyła witamin rozpuszczalnych w tłuszczach.

Skuteczność promieniowania w leczeniu krzywicy jednoznacznie wykazał niemiecki lekarz Kurt Huldshinsky [21]. Dysponował on narzędziami jakich nie mieli jego poprzednicy (żadnego z nich zresztą nie cytował), wysokociśnieniową lampą rtęciową do generowania promieniowania ultrafioletowego oraz aparatem Röntgena do śledzenia zmian kości.

W 1922 r. ukazało się drukiem sprawozdanie ze skrupulatnych, kilkuletnich badań nad krzywicą prowadzonych przez ekipę brytyjskiego Medical Research Council w Klinice Dziecięcej Uniwersytetu w Wiedniu „The aetiology of rickets in infants: prophylactic and curative observations at the Vienna University Kinderklinik” [22]. Badania kliniczne dowiodły, że naświetlanie promieniami ultrafioletowymi oraz tran, każdy z tych środków niezależnie od siebie, mają działanie zapobiegawcze i lecznicze.

### 3. TROPEM ŚWIATŁA

Wyjaśnienie charakteru działania czynnika pokarmowego i naświetlania było nie lada wyzwaniem. Szczególnie tajemniczy wydawał się czynnik naświetlania nie mający odpowiednika w leczeniu innych schorzeń. Część autorów badań w Wiedeńskiej Klinice Dziecięcej podjęła „wątek klimatyczny”. Odnosi się on do przekonania, że powietrze w pewnych szczególnych miejscowościach ma działanie regenerujące i uzdrawiające. Może to właśnie jakiś składnik powietrza pośredniczy w działaniu promieniowania na organizm zwierzęcia? (Wiedziano, że lampy rtęciowe wytwarzają ozon). Zaplanowano następujące doświadczenie [23, 24]. W dużym pojemniku umieszczono rachitycznego szczura wyhodowanego na diecie pozbawionej rozpuszczalnych w tłuszczach witamin i poddano go naświetlaniu lampą rtęciową. Po zakończeniu naświetlania do pojemnika wstawiono drugiego takiego samego szczura. Po pewnym czasie stwierdzono, że objawy wyleczenia wykazywały w równym stopniu obydwie zwierzęta, i to napromieniowane i to dostawione. Wykonano wiele innych doświadczeń, łącznie z przepompowaniem powietrza z jednego pojemnika do drugiego i uznano, że naświetlone powietrze ma właściwości lecznicze. Ostatecznie okazało się, nie wnikając zbyt w szczegóły eksperymentalne i zwyczajnie szczurów, że dostawiony osobnik uzyskiwał czynnik przeciwrachityczny nie z powietrza, a drogą pokarmową. Pozytywną stroną tego obarczonego błędem doświadczenia [25, 26] było wskazanie na wyleczenie zwierzęcia, które nie było bezpośrednio naświetlane.

Szczur był bardzo trudnym zwierzęciem doświadczalnym do badań nad rozpuszczalnymi w tłuszczach witaminami, zwłaszcza nad witaminą D, ze względu na przystosowanie do życia w ciemności. Odpowiednie rachityczne odmiany tego zwierzęcia, diety pozbawione określonych składników pokarmowych i klatki

zapewniające usuwanie nieczystości zostały opracowane przez Elmera V. McColluma i współpracowników (The University Wisconsin, Madison, a następnie John Hopkins University, Baltimore). Ci badacze zdołali opracować cały zestaw metod pozwalających na „biologiczną analizę” żywności. McCollum był jednym z odkrywców witaminy A (m.in. czynnik wzrostu), będącej składnikiem mieszaniny rozpuszczalnych w tłuszczach witamin. Struktura tego związku nie była wówczas znana, lecz poznano pewne jego właściwości chemiczne, a w szczególności to, że w wyższej temperaturze ulega utlenieniu tlenem powietrza i deaktywacji. McCollum wykazał, że tran nie traci właściwości przeciwrachitycznych w takim procesie napowietrzania, a zatem że czynnością tą obdarzony jest inny czynnik, który został nazwany witaminą D [27, 28].

Golblatt i Soames [29] podjęli kwestię przeniesienia efektu naświetlania promieniami ultrafioletowymi z jednego zwierzęcia wyhodowanego na diecie bezwitaminowej na drugie. W szczególności badali czy, i jeżeli tak to gdzie, akumuluje się „witamina”. Stwierdzili oni, że wątroba rachitycznego szczura poddanego cyklowi naświetlań promieniami UV, zawiera znaczące ilości witaminy. Dodanie tej tkanki do karmy innego rachitycznego zwierzęcia powodowało jego wyleczenie.

Obserwacje o tym, że naświetlanie promieniami ultrafioletowymi rozmaitych produktów żywieniowych może zastąpić naświetlanie rachitycznych zwierząt opublikowali niemal w tym samym czasie, niezależnie od siebie, dwaj fizjologowie amerykańscy, Harry Steenbock i Alfred F. Hess (wspomniany już wyżej w kontekście traktatu Śniadeckiego). Dalsze drogi badawcze tych wybitnych uczonych jednak się rozeszły.

Steenbock przeszedł wszystkie szczeble kariery naukowej na Wydziale Chemii Rolniczej Uniwersytetu Madison, Wisconsin, który specjalizował się w biochemii i fizjologii żywienia i tradycyjnie podejmował zagadnienia ważne dla miejscowego przemysłu spożywczego. Wskutek rozpowszechnienia taniej margaryny, wynalezionej w Europie i produkowanej w latach I wojny światowej, pozycja masła, podstawowego produktu mleczarstwa Wisconsin, została zagrożona. Steenbock badał właściwości żywieniowe masła, a także możliwości polepszenia margaryny przez dodanie witaminy A (obecnej w masle) i, ewentualnie, innych dodatków uszlachetniających. Odkrył on, że naświetlanie promieniami ultrafioletowymi racji żywnościowych zwierząt zapobiega krzywicy. W pierwszym komunikacie Steenbock zapowiedział, że jego wynalazek zostanie opatentowany [30, 31]. Rzeczywiście uzyskał szereg patentów, co więcej w 1925 r. stworzył organizację, której zadaniem było administrowanie patentami i ochrona interesów ich właściciela, Uniwersytetu w Madison. Organizacja ta – The Wisconsin Alumni Research Foundation – do dziś jest wzorcową instytucją pośredniczącą pomiędzy uczelnią a przemysłem. Według monografii Fieserów [32], do roku 1945, gdy okres ochronny głównego patentu wygasł, Fundacja zgromadziła tytułem tantiem około 14 mln dolarów amerykańskich (ówczesnych!).

W latach 20. ubiegłego stulecia istniało wiele kontrowersji wokół patentowania niektórych odkryć naukowych ze względu na rysujący się konflikt pomiędzy



interesami wynalazcy i ewentualnego producenta, a tzw. dobrem wspólnym. Żadna z odkrytych wówczas witamin nie została opatentowana. Konflikt ten w pewnym stopniu znajduje odbicie w dzisiejszych dyskusjach na temat praw autorskich i tzw. ustaw ACTA (ang. *Anti-Counterfeiting Trade Agreement*). W charakterze dygresji można wspomnieć, że 1 $\alpha$ ,25-dihydroksy witamina D<sub>3</sub> została opatentowana jako związek przez tę właśnie Wisconsin Alumni Research Foundation. Znaczy to, że gdybym chciał syntetyzować 1 $\alpha$ ,25-dihydroksy witaminę D<sub>3</sub> na potrzeby własnego organizmu z cholesterolu wyodrębnionego z własnych kamieni żółciowych i posługując się własną metodą, musiałbym uiścić opłatę właścicielowi patentu. Drugą stroną tego paradoksu jest dość powszechne dziś przekonanie, że w epoce globalizacji technologii ochronę produkcji mogą zapewnić tylko patenty na konkretne związki chemiczne.

Hess uzyskał wykształcenie w Uniwersytetach Columbia i Harvarda, a następnie w College of Physicians and Surgeon of New York City. Po studiach odbył dwuletni staż naukowy w Europie: Pradze, Wiedniu i Berlinie. Był on praktykującym lekarzem-pediatrą zaangażowanym w leczenie krzywicy i badaczem związanym z College of Physicians and Surgeones i University of Columbia. Powtórzył on wyżej opisane doświadczenie z naświetlaniem lampą ultrafioletową powietrza, a także poddał naświetlaniu wodę i „szereg neutralnych” płynów m.in. oleje bawełniane i lniane, lanolinę, rosnącą i zerwaną zieloną sałatę. Stwierdził, że to oleje nabywają szczególnie wysokiej aktywności [33].

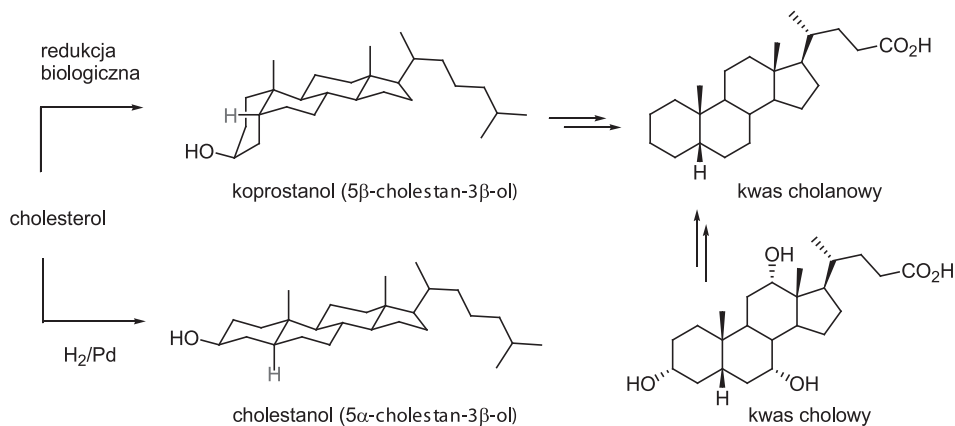
Poszukiwania właściwego czynnika antyrachitycznego doprowadziły Hessa i jego współpracowników do niehydrolizujących i nierozpuszczalnych w wodzie składników olei roślinnych, czyli do steroli roślinnych zwanych wówczas fitosterolami (sitosterole), a stąd i do cholesterolu. Sukces tego zespołu polegał na sprowadzeniu aktywności biologicznej do zdefiniowanych substancji chemicznych i do powiązania tej czynności z cholesterolem obecnym w dużej ilości w wewnętrznych warstwach skóry. Jednakże rozpoznanie istoty przemiany fotochemicznych steroli przekraczało możliwości lekarzy i fizjologów. W 1925 r. Hess zwrócił się o pomoc w znalezieniu leku przeciw krzywicy do autorytetu w dziedzinie steroli, niemieckiego chemika Adolfa Windausa.

#### 4. ŻŁOTY WIEK CHEMII

Windaus studiował medycynę i chemię w Berlinie, a następnie w Freiburgu. Jego praca doktorska wykonana pod kierownictwem Kilianiego poświęcona była glikozydom nasercowym z roślin rodzaju naparstnica (*Digitalis*). Pracę habilitacyjną pt. „Über cholesterin” obronił w 1903 r. i dalszą działalność naukową, od 1915 r. jako profesor w Getyndze, poświęcił głównie sterolom i związkom pokrewnym.

Na przełomie XIX i XX wieku oprócz cholesterolu i ergosterolu znano jeszcze sitosterole (często zawierają niewielkie ilości ergosterolu) i kilka innych steroli. Wiedziano, że zawierają one w szkielecie węglowym od 27 do 29 atomów węgla (odpo-

wiednie węglowodory  $C_{27}H_{48}$  i  $C_{29}H_{52}$ ) są alkoholami (ferolami) o jednym, dwu lub trzech wiązaniach etylenowych i o strukturze tetracyklicznej. Kluczową pozycję ze względu na rozpowszechnienie i częściowo poznane funkcje fizjologiczne zajmował cholesterol.



Schemat 2. Biologiczna (w przewodzie pokarmowym) i chemiczna redukcja cholesterolu  
Scheme 2. Biological (in digestion track) and chemical reduction of cholesterol

Cholesterol w przewodzie pokarmowym zwierząt ulega redukcji prowadzącej do dihydro-pochodnej, koprostanolu (Schemat 2). Ten proces redukcji biologicznej cholesterolu oraz koprostanol pierwszy opisał wspomniany już lwowski lekarz i chemik Stanisław Bądryński [34]. Wodorowanie na katalizatorze palladowym (opisane wcześniej przez Willstättera) prowadziło do innego związku nasyconego – cholestanolu. Windaus prawidłowo rozpoznał, że koprostanol i cholestanol to izomery różniące się konfiguracją na zwornikowym atomie węgla, aczkolwiek nie było wówczas odniesienia do jakichkolwiek innych nasyconych związków bicyklicznych.

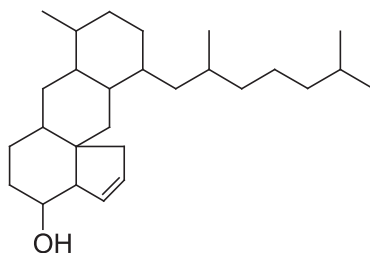
Przestrzenne struktury koprostanolu i cholestanolu zobrazowano na Schemacie 2. Związki te różnią się kształtem ze względu na obecność fragmentu „wypukłej” *cis*- i „płaskiej” *trans*-dekaliny. Należy odnotować, że cząsteczki cholesterolu i ergosterolu są zbliżone do cholestanolu (płaskie).

Fundamentalne znaczenie miała przeprowadzona w laboratorium Windausa korelacja koprostanolu (a zatem i cholesterolu) z kwasami cholowymi: grupę hydroksylową w koprostanolu usunięto, a następnie węglowódór poddano utlenieniu otrzymując kwas cholanowy (produktem komplementarnym był aceton). Identyfikację związku otrzymano w laboratorium innego wielkiego chemika niemieckiego, Heinricha Wielanda w drodze transformacji kwasu cholowego, głównego składnika żółci bydłowej.

Dalsze badania nad strukturą cholesterolu były prowadzone równoległe na dwóch frontach, poprzez degradację steroli (Windaus) oraz kwasów żółciowych (Wieland). Otrzymano i zidentyfikowano bardzo wiele produktów utleniania, które

identyfikowano dostępnymi wówczas metodami, głównie przez tworzenie pochodnych i niezależną syntezę. Ustalenie budowy tych bloków i „powtórne” zestawienie struktury związków wyjściowych było pracą tytaniczną i benedyktyńską.

W 1919 r. Windaus [35] na posiedzeniu Towarzystwa Naukowego w Getyndze naszkicował pierwszy wzór strukturalny cholesterolu (Rys. 3). Kontynuowano intensywne prace nad weryfikacją tego wzoru i odpowiednich wzorów kwasów cholowych. Ergosterol pozostawał jednak poza zasięgiem badań w laboratorium Windausa po części ze względu na bardziej złożony charakter transformacji chemicznych (układ dienowy).



Cholesterol, wzor Windausa, 1919 r.

Rysunek 3. Wzór cholesterolu zaproponowany przez Windausa w 1919 r.  
Figure 3. Structural formula of cholesterol proposed by Windaus in 1919.

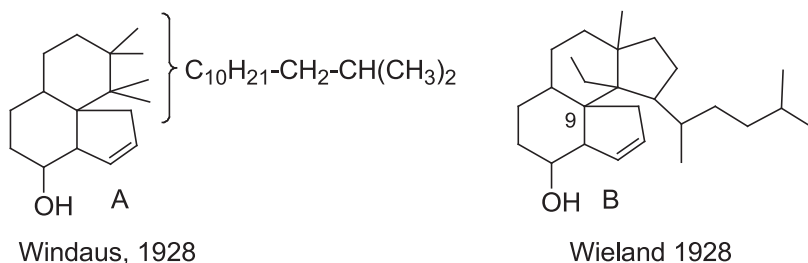
Podjęmując poszukiwania czynnika antykrzywiczego Windaus wspólnie z Hessem wykazali, że czynność obserwowana podczas naświetlania próbek cholesterolu pochodzi nie od tego związku lecz od jego drobnego zanieczyszczenia, nieusuwalnego podczas krystalizacji. Zanieczyszczenie to Windaus nazwał prowitaminą D. Do podobnych wniosków doszli i chemicy brytyjscy, Rosenheim i Webster z the National Institute for Medical Research (NIMR) w Londynie. Z dzisiejszej perspektywy możemy uznać, że tą prowitaminą był 7-dehydrocholesterol (prowitamina D<sub>3</sub>) [36–38].

W kontekście poszukiwania zanieczyszczenia cholesterolu fizyk z Getyngi, Pohl [39], i prawie jednocześnie z nim Heilbron i współpracownicy [40] (The Liverpool University, później The Imperial College of Science and Technology, Londyn) zastosowali widma w ultrafiolecie. Było to pierwsze w historii zastosowanie spektroskopii do określania struktury związków organicznych. Widma zdejmowano w świetle ultrafioletowym w specjalnie skonstruowanym w tym celu spektrometrze. Oczyszczony cholesterol był transparentny, natomiast jego zanieczyszczenia charakteryzowały pasma absorpcji przy 293, 280 i 269 nm (nieco później wykryto czwarte pasmo absorpcji przy 262 nm). Podobne pasma zarysowały się również w pomiarach roztworu tranu. Warto wspomnieć, że w Liverpool do jednego pomiaru stosowano roztwór 2 g cholesterolu w 50 ml etanolu w kuwecie o szerokości 4 cm, a sam pomiar trwał kilka godzin, wprawdzie długo ale niewspółmiernie krócej od testów biologicznych.

Ergosterol jako jedyny wśród znanych wówczas steroli wykazywał analogiczne pasma absorpcji w ultrafiolecie. Rzeczywiście, naświetlanie ergosterolu w Getyndze [41], jak również w NIMR [42], prowadziło do mieszaniny związków o niespotykanym wcześniej działaniu przeciwkrzywiczym (100 000 razy wyższym od dobrego tranu). Względną aktywność produktów otrzymanych z naświetlania cholesterolu i ergosterolu oceniano jak 1:2000.

W Getyndze skonstruowano aparaty i rozwiązano podstawowe problemy techniczne prowadzenia procesu fotolizy. W końcu lat 20. w zasadzie można było uznać, że stworzono należyte podstawy do produkcji „witaminy przeciwkrzywicznej”, chociaż ani nie wyodrębniono czystego związku, ani nie odgadnięto jego struktury. Wszystkie znaki wskazywały na to, że klucz do rozszyfrowania struktury witaminy D leży w strukturze cholesterolu.

W 1928 r. w Sztokholmie zostały wręczone dwie nagrody Nobla w dziedzinie chemii. Laureatami byli Heinrich Wieland (wstecznie za 1927 r.) „for his investigation of the constitution of the bile acids and related substances” oraz Adolf Windaus „for the services rendered through his research into the constitution of the sterols and their connection with the vitamins”. Obydwaj ci uczeni w wykładach noblowskich przedstawili w zasadzie zgodne struktury cholesterolu (Rys. 4, A i B). Struktura Windausa (A) była nieco bardziej konserwatywna od struktury Wielanda (B) pozostawiająca nieokreśloność w obszarze „czwartego” pierścienia i pozycji zakotwiczenia łańcucha bocznego. Natomiast Wieland przedstawił jeszcze jedną strukturę alternatywną do B (nie uwzględnioną na Rys. 4), co można uznać za wskazanie, że nie uznawał tej kwestii za zamkniętą. Struktura B jest często nazywana strukturą Wielanda-Windausa.



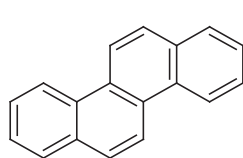
Rysunek 4. Wzory cholesterolu przedstawione na wykładach w 1928 r. z okazji przyznania Nagród Nobla H. Wielandowi i A. Windausowi

Figure 4. Structural formulas of cholesterol presented in 1928 by H. Wieland and A. Windaus at the Nobel Price lectures

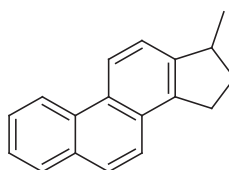
W 1927 r. pojawił się nowy wątek w publikacjach dotyczących steroli. Mianowicie, Otto Diels [43], wraz ze współpracownikami opublikował wyniki pierwszych doświadczeń nad ich dehydrogenacją. Diels miał już znaczne osiągnięcia we wczesnych pracach nad strukturą cholesterolu, lecz od tej tematyki odstąpił na kilkanaście lat. Teraz zastosował metodę wprowadzoną i szeroko stosowaną przez

Leopolda Ruzickę – konwersję terpenoidów do ich odpowiedników aromatycznych w celu „odsłonięcia” szkieletu węglowego, łatwiejszej identyfikacji, łączenia w klasy, itp. [44]. Dehydrogenację prowadzono stosując w podwyższonej temperaturze (zwykle w temperaturze wrzenia) elementarną siarkę lub pallad osadzony na węglu aktywnym.

Ogrzewanie cholesterolu z „palladowanym” węglem w temperaturze ok. 400°C doprowadziło z dobrą wydajnością do krystalicznego i łatwego do rozpoznania węglowodoru aromatycznego – chryzenu (Rys. 5). (Część tych badań została zreferowana przez Dielsa w wykładzie z okazji przyznania mu Nagrody Nobla w 1950 r. „Description and importance of the aromatic basic skeleton of the steroids”). Wyników nie uznano jednak za konkluzywne ze względu na wysoką temperaturę procesu i szczególną trwałość termodynamiczną chryzenu, co mogło powodować przegrupowania szkieletowe. W dalszych poszukiwaniach Diels odkrył, że znacznie lepszym środkiem dehydrogenującym jest elementarny selen. Ogrzewanie cholesterolu z selenem w umiarkowanej temperaturze (około 250°C) prowadziło do innego produktu, który uzyskał nazwę węglowodoru Dielsa. Minęło jeszcze kilka lat zanim strukturę tego węglowodoru potwierdzono na drodze niezależnej syntezy [45, 46] (Rys. 5). Tym niemniej, wszystkie dane wskazywały na to, że jest to pochodna cyklopentanofenantrenu. Doświadczenia Dielsa rzuciły cień wątpliwości na wzór Wielanda-Windausa.



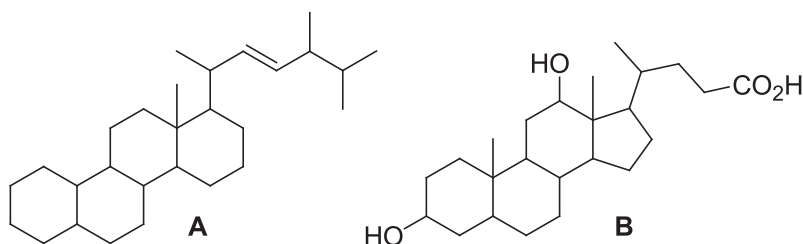
Chryzen

Węglowódor Dielsa  
(3'-metylo-1,2-cyklopentanofenantren)

Rysunek 5. Produkty dehydrogenacji cholesterolu otrzymane przez Dielsa  
Figure 5. Cholesterol dehydrogenation products obtained by Diels

Brytyjski fizyko-chemik, teoretyk i krystalograf, Bernal, badał kryształy ergosterolu i pewnych produktów jego naświetlania. Zagadnienie struktury steroli nie było mu całkiem obce, gdyż od lat 20. wraz ze współpracownicą, Dorothy Crowfoot-Hodgkins (późniejszą laureatką Nagrody Nobla), podejmował próby identyfikacji ich metabolitów wyodrębnionych z moczu (przez Marriana i współpracowników w Londynie). Technika analizy rentgenograficznej nie pozwalała jeszcze na umiejscowienie poszczególnych atomów szkieletu węglowego, lecz tylko na ogólne określenie kształtu cząsteczki. Bernal zaobserwował, że cząsteczki ergosterolu w kryształach układają się w podwójne warstwy podobnie jak to ma miejsce w przypadku długołańcuchowych alifatycznych alkoholi. Rozmiary cząsteczki nie pokrywały się z oczekiwanymi. Głównym źródłem kontrowersji było to, że pomiar wskazywał na

wydłużoną płaską cząsteczkę wówczas, gdy wzór Wielanda-Windausa implikuje przestrzennie rozbudowaną bryłę ze względu na obecność jednego atomu węgla wspólnego dla trzech pierścieni (C-9 na Rys. 4). Wyniki pomiaru oraz doniesienia z laboratorium Dielsa skłoniły Bernala do zaproponowania dla steroli (ściślej, dla ergosterolu) nowego wzoru, opartego na szkielecie węglowym perhydrochryzenu [47–49] (Rys. 6). Równocześnie z komunikatem Bernala ukazała się bardzo podobna propozycja Rosenheima i Kinga [50].



Bernal, Rosenheim i King,  
maj, 1932

Rosenheim i King,  
sierpień, 1932

Rysunek 6. Ramowy wzór steroli zaproponowany przez Bernala oraz Rosenheima i Kinga (A), wzór kwasu dezoksycholowego zaproponowany przez Rosenheima i Kinga (B)

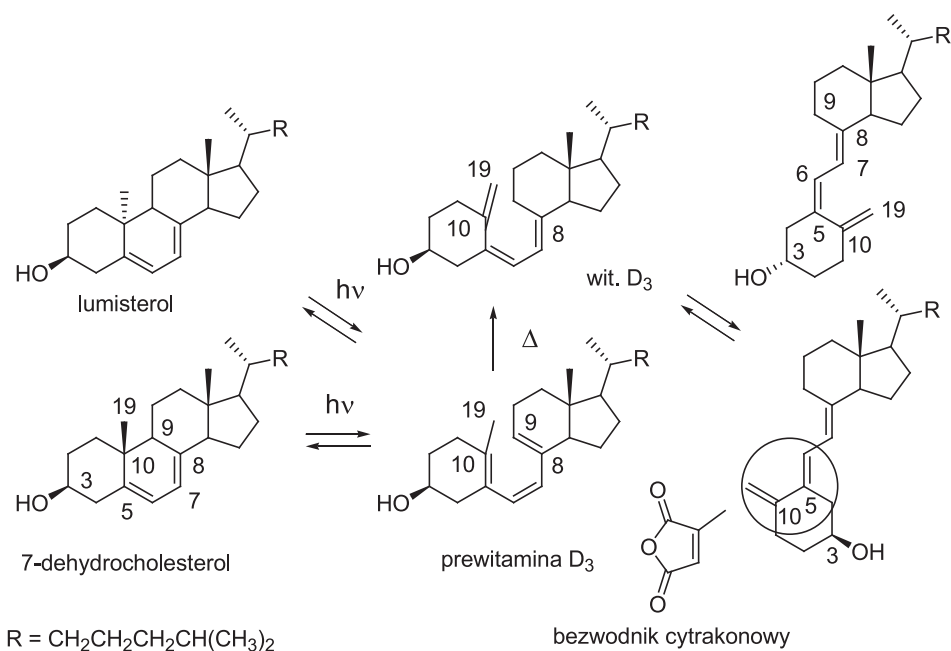
Figure 6. Framework structure of sterols proposed by Bernal and Rosenheim, and King (A), formula of desoxycholic acid proposed by Rosenheim, and King

Ci ostatni autorzy po pogłębionych studiach literaturowych jako pierwsi opublikowali prawidłowy, obecnie powszechnie znany, wzór kwasu dezoksycholowego [51] (Rys. 6). W ten sposób badacze, którzy nie angażowali się w mozolne doświadczenia nad degradacją i chemicznymi przekształceniami steroli i kwasów żółciowych i sami nie opublikowali ani jednej pracy w tej dziedzinie jako pierwsi wydedukowali jakie wzory należy przypisać tym związkom. Nieco później na podstawie powtórnej analizy własnych danych eksperymentalnych do takiego samego wzoru dotarli również Wieland i Dane [52]. Ostatecznie Windaus [53] w obszernej publikacji pt. „Über Konstitution des Cholesterins und der Gallensäuren” podsumował całokształt prac nad tymi grupami związków.

W międzyczasie intensywnie postępowały prace nad optymalizacją warunków naświetlania ergosterolu i wyodrębnieniem przeciwkrzywiczej witaminy [54]. Chemicy z NIMR oczyszczali produkt poprzez destylację frakcyjną. Uzyskali oni na tej drodze wysoce aktywną substancję krystaliczną, którą nazwali kalcyferolem [55] (ergokalcyferol). Windaus i współpracownicy wyizolowali materiał krystaliczny, który nazwali witaminą D<sub>1</sub> [56]. Okazało się jednak, że jest to współkryształizująca mieszanina witaminy oraz jednego z ubocznych produktów fotolizy (lumisterolu). Po wielu próbach, w których stosowano lampy do generowania promieniowania o różnym zakresie i różne metody izolacji, otrzymano czystą witaminę D<sub>2</sub> (ergokalcyferol). Ważne w tej metodzie postępowania było to, że fotolizę prowadzono do

zużycia około 60% ergosterolu, a niezmieniony substrat oddzielono (w postaci kompleksu z digitoniną). Oleistą mieszaninę produktów poddano działaniu bezwodnika cytrakonowego w temperaturze pokojowej (10 dni) i, kolejno, hydrolizie i odmyciu soli kwasu. Dopiero tak przygotowany produkt krystalizował z eteru naftowego [57].

Mimo sukcesów w dziedzinie izolacji struktura witaminy D<sub>2</sub> nadal pozostawała zagadką, a korelacja ergosterolu z cholesterolem została opublikowana dopiero rok później [58]. Aby zrozumieć istotę procesów chemicznych w procesie izolacji produktu krystalicznego musimy wyprzedzić rozwój wypadków.



Schemat 3. Fotochemiczne przemiany 7-dehydrocholesterolu

Scheme 3. Photochemical transformations of 7-dehydrocholesterol

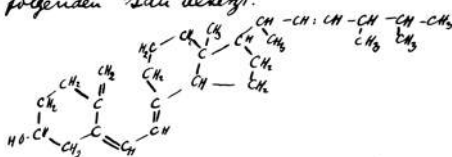
W latach 50. Vielluz i współpracownicy [59, 60] wykazali, że naświetlanie ergosterolu jak również 7-dehydrocholesterolu powoduje rozerwanie wiązania C-9,C-10 i utworzenie trienu, „prewitaminy” (Schemat 3). Jest to fotochemiczna reakcja odwracalna i prowadzi również do utworzenia izomeru substratu, lumisterolu. Prewitamina ulega termicznemu przegrupowaniu przebiegającemu z przeniesieniem atomu wodoru od grupy metylowej C-19 do C-9. (W poprzednich badaniach naświetlanie prowadzono w wyższych temperaturach i obydwa procesy, fotochemiczny i termiczny, przebiegały równolegle). W warunkach transformacji, część produktu ulega izomeryzacji *cis-trans* wokół wiązania C-5,C-6 dając „trans-witaminę D<sub>2</sub>”. Obydwa związki, *cis* i *trans*, mają aktywny układ dienu obejmującego pierścień sześciocząłowy (atomy węgla C-5, C-6, C-10, C-19). Dien „*trans*” jest



mniej osłaniany przestrzennie i łatwiej ulega reakcji Dielsa-Aldera z bezwodnikiem cytrakonowym (lub maleinowym). Hydroliza adduktu do odpowiedniego kwasu dikarbosylogowego pozwala na usunięcie niepożądanego produktu. Należy wspomnieć, że według badań Havingi i współpracowników [61] fotochemiczna reakcja, w zależności od długości fali, okresu naświetlania, itp., prowadzi do utworzenia bardzo wielu produktów, a przy dłuższym naświetlaniu prewitamina, witamina i inne trieny ulegają dalszym reakcjom fotochemicznym aż do utworzenia produktów pozbawionych chromoforu.

W 1936 r. została opublikowana prawidłowa struktura witaminy D<sub>2</sub> [62]. Przypisanie miało czysto spekulatywny charakter, gdyż nie dysponowano żadnymi dowodami potwierdzającymi utworzenie egzocyklicznej grupy metylenowej (można było racjonalnie oczekiwać, że fotolitycznemu rozerwaniu ulegnie najbardziej „obciążone” wiązanie C-9–C-10). Ciekawe odnotować, że przed publikacją struktury Windaus zasięgnął opinii Bernala. Kopia listu w tej sprawie została zamieszczona we wspomnieniach Hodgkin [49] i jest przytoczona na Ilustracji 5. Według tych wspomnień, Bernal wzoru nie poparł, lecz też nie miał podstaw aby oponować. Nieco wcześniej konkurencyjny, jak się okazało błędny, wzór witaminy D<sub>2</sub> zaproponował Heilbron [63].

*John geachteter Heil kollega Bernal,  
ich glaube es ausserordentlich wahrscheinlich gemacht  
zu haben, dass das Vitamin D<sub>2</sub> oder Calciferol  
den folgenden Bau besitzt:*



*Ich möchte Sie nun fragen, ob eine solche Formel, die  
sich aus unseren chemischen Arbeiten zu ergeben scheint,  
mit Ihren Messungen vereinbar ist.*

*Mit den besten Grüßen*

*Dr. A. Windaus*

Ilustracja 5. Kopia listu Windausa do Bernala dotyczącego proponowanej struktury witaminy D<sub>2</sub>. Skopiowano z: D.M.C. Hodgkin „John Desmond Bernal. 10 May 1901–15 September 1971”, Biogr. Mem. Fell. R. Soc., 1980, 26, 16–84, s. 40, za zgodą the Royal Chemical Society

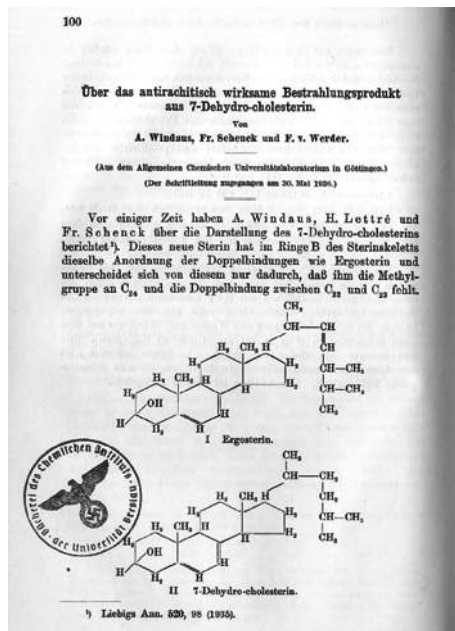
Illustration 5. A copy of the letter of Windaus to Bernal regarding the proposed structure of vitamin D<sub>2</sub>. Copied from: D.M.C. Hodgkin “John Desmond Bernal. 10 May 1901–15 September 1971”, Biogr. Mem. Fell. R. Soc., 1980, 26, 16–84, p. 40, with the permission of the Royal Chemical Society

Amerykański biochemik Waddell [64] podsumował często sprzeczne prace nad porównaniem substancji przeciwkrzywiczej wytwarzanej ze „standardowego” cholesterolu oraz z ergosterolu, a także nad działaniem tych produktów na różne



zwierzęta doświadczalne. Wykonane przez niego testy na kurczętach wykazały, że „witamina” przygotowana przez naświetlanie cholesterolu, a także tran, jest znacznie bardziej aktywna niż ta przygotowana przez naświetlanie ergosterolu.

W poszukiwaniu odpowiednika ergosterolu chemicy z Getyngi syntetyzowali z cholesterolu 7-dehydrocholesterol [65]. Naświetlanie tego związku i izolacja biologicznie czynnego produktu doprowadziły do otrzymania witaminy D<sub>3</sub> – związku wytwarzanego w organizmach zwierząt na drodze biosyntezy [66]. Pierwsza strona tej ważnej publikacji została skopiowana na Ilustracji 6.



Ilustracja 6. Kopia strony tytułowej pracy Windausa i współautorów dotyczącej otrzymywania witaminy D<sub>3</sub>  
Illustration 6. A copy of the first page of the publication of Windaus and coauthors on the synthesis of vitamin D<sub>3</sub>

Niemal równocześnie, Brockmann [67], również w Getyndze, wyizolował identyczny związek ze oleju wątroby tuńczyka. Główną trudnością w dość złożonej procedurze izolacji witaminy D<sub>3</sub> z materiału biologicznego było oddzielenie witaminy A oraz cholesterolu (i 7-dehydrocholesterolu). Wielce pomocną okazała się nowa, jeszcze raczkująca metoda separacji związków organicznych – chromatografia kolumnowa na tlenku glinu, wcześniej stosowana tylko do rozdzielania substancji barwnych.

Obydwa związki, witaminy D<sub>2</sub> i D<sub>3</sub> charakteryzowały podobne właściwości fizyczne, m. in. silna absorpcja w ultrafiolecie (265 mμ), i zbliżona aktywność w testach na szczurach. Jednakże, w testach na kurczakach witamina D<sub>2</sub> wykazała mniej niż 3% aktywności witaminy D<sub>3</sub>.

Badaniom poddano jeszcze jedną tkankę zwierzęcą – świeżą skórę wieprzową. Ze 100 kg tego materiału wyizolowano 30 g surowych steroli. Stosując chromatografię kolumnową wykazano, że głównym składnikiem jest cholesterol lecz zdołano także wyodrębnić 7-dehydrocholesterol – naturalną prowitaminę D<sub>3</sub> (4% surowej mieszaniny steroli) [68].

Dla kompletności obrazu należy jeszcze odnotować związek nazwany w laboratorium Windausa witaminą D<sub>4</sub> [69]. Jest to syntetycznie otrzymany 22-dihydroanalog witaminy D<sub>2</sub> wykazujący niższą aktywność przeciwkrzywiczą od związku macierzystego (około 50% u szczura) i jak dotąd używany tylko jako związek modelowy.

Struktura witamin D została ostatecznie potwierdzona w badaniach krystalograficznych Crowfoot i Dunitza [70] w 1948 r (pomiarów wykonano dla 4-jodo-5-nitrobenzoesu witaminy D<sub>2</sub>).

Badania nad strukturą steroli i witaminami D w laboratorium w Getyndze znalazły odzwierciedlenie w ponad 50 rozprawach doktorskich. Wielu ich autorów kontynuowało badania na stanowiskach podoktorskich w Getyndze lub innych ośrodkach akademickich, lub przemysłowych. Wiele innych ośrodków naukowych uczestniczyło w programie badań inspirowanych i koordynowanych przez Windausa, aczkolwiek publikacje nie zawsze były firmowane jego nazwiskiem. Zespół z Getyngi otrzymywał wsparcie finansowe jak również pomoc techniczną w przygotowaniu surowców od kilku niemieckich firm farmaceutycznych.

## 5. TRUDNA HISTORIA

W literaturze wspomnieniowej, a zwłaszcza w opracowaniach dotyczących życia i działalności wybitnych chemików niemieckich, szczególne znaczenie ma wątek ich stosunku do wojny oraz do ideologii narodowego socjalizmu. Windaus zajmuje pozycję wyjątkową ze względu na niekonformistyczną postawę oraz przeciwstawianie się polityce reżymu przy pełnej formalnej lojalności obowiązującej wykładowcę państwowego uniwersytetu w Niemczech [71].

W przeciwieństwie do swoich licznych kolegów, m.in. Wielanda, w czasie I wojny światowej odmówił wzięcia udziału w zespole ekspertów pracujących w Kaiser-Wilhelm Gesellschaft nad bronią chemiczną (nieodzwoloną przez konwencje Haskie).

Po 1933 r., jako kierownik Instytutu Chemii Organicznej w Getyndze, sprzeciwił się nagonce jaką część studentów i doktorantów podjęła przeciw Neisserowi, doktorantowi pochodzenia żydowskiego oraz kilku „poplecznikom Żydów”. W liście do ministra napisał, że nie jest jego zamiarem przeciwstawianie się polityce władz, lecz ze względów etycznych nie może zgodzić się na agitację w Instytucie. List został zrozumiany jako zapowiedź jego rezygnacji ze stanowiska, a w rezultacie przywódcę młodych nazistów przeniesiono na inny uniwersytet, a Neisser z powodzeniem ukończył pracę doktorską i wyemigrował. Podobne deklaracje Windaus składał w kilku innych sprawach, m.in. wprost odmówił podpisania listu poparcia

do Hitlera, który w imieniu niemieckich laureatów Nagrody Nobla napisał Prezydent Niemieckiego Towarzystwa Chemicznego, ubiegał się o zezwolenie na wzięcie udziału w spotkaniu upamiętniającym Fritza Habera w 1935 r. [72].

Mój niezjący już przyjaciel, prof. Wolfgang Kreiser z Uniwersytetu w Dortmund, mówił, że pewnego razu wchodząc do pracy Windausa natknął się na grupę młodzieży w brunatnych koszulkach i ze swastykami na rękawach. Odwrócił się na pięcie i więcej się w Instytucie nie pokazał. Trudno powiedzieć czy tak było rzeczywiście, czy też jest to jedna z legend, które otaczały postać Adolfa Windausa w środowisku jego naukowych wnuków. Faktem jest, że w 1938 r. przestał on przychodzić do Instytutu (miał 62 lata) chociaż na emeryturę przeszedł dopiero w 1944 r.

#### PIŚMIENICTWO CYTOWANE

- [1] M.F. Holick, *J. Invest. Dermatol.*, 1981, **77**, 51.
- [2] H.F. DeLuca, [w:] *Metabolic Bone Disease in Children*, S. Castells, L. Finberg (Eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, 1990, pp. 1.
- [3] R. Vieth, *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 2006, **92**, 26.
- [4] *Paediatr. Child Health*, 2007, **12**, 583.
- [5] D.E.M. Lawson, D.R. Fraser, E. Kodicek, H.R. Morris, D.H. Williams, *Nature*, 1971, **230**, 228.
- [6] H.F. DeLuca, M.F. Holick, H.K. Schnoes, T. Suda, R.J. Cousins, *Biochemistry*, 1971, **10**, 2799.
- [7] A.W. Norman, J.F. Myrtle, R.J. Miogett, H.G. Nowicki, V. Williams, G. Popjak, *Science*, 1971, **173**, 51.
- [8] M.F. Holick, *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 2006, **92**, 49.
- [9] H.F. DeLuca, *Am. J. Clin. Nutr.*, 2004, **80**, 1689S.
- [10] W. Kroszczyński, B. Morzycka, J.W. Morzycki, *Wiad. Chem.*, 2002, **56**, 794.
- [11] D. Gibbs, *J. R. Soc. Med.*, 1994, **87**, 729.
- [12] J. Śniadecki, *O fizycznym wychowaniu dzieci*, wydanie Akademii Wychowania Fizycznego im. Bronisława Czecha w Krakowie, Kraków, 2002 r., reprodukcja wydania Ossolineum, Wrocław, 1956 r.
- [13] W. Mozołowski, *Nature*, 1939, **143**, 121.
- [14] A.F. Hess, L.J. Unger, *J. Am. Med. Assoc.*, 1921, **77**, 39.
- [15] T.A. Palm, *Practitioner*, 1890, **45**, 270.
- [16] J. Raczyński, *Comptes-Rendus de L'Association Internationale de Pediatrie, Premier Congress*, 7–9 Octobre 1912, 1912, 308.
- [17] J. Raczyński, *Przegląd Lekarski*, 1913, **52**, 327.
- [18] S. Rogulski, *Przegląd Lekarski*, 1919, **57**, 245.
- [19] J. Bodalski, *Przegląd Pediatryczny*, 2008, **38**, 175.
- [20] E. Mellanby, *The Lancet*, 1919, **193**, 407.
- [21] K. Huldschinsky, *Deutsch Med. Wochschr.*, 1919, **45**, 712.
- [22] H. Chick, E. Dalyell, M. Hume, H. Smith Henderson, H.M.M. Mackay, *The Lancet*, 1922, **200**, 7.
- [23] E.M. Hume, H. Henderson Smith, *Biochem. J.*, 1923, **17**, 364.
- [24] E.M. Hume, H. Henderson Smith, *Biochem. J.*, 1926, **20**, 336.
- [25] T.A. Webster, L. Hill, *Biochem. J.*, 1924, **18**, 340.
- [26] K.J. Carpenter, L. Zhao, *J. Nutr.*, 1999, **129**, 923.
- [27] E.V. McCollum, N. Simmonds, H.T. Parsons, P.G. Shipley, E.A. Park, *J. Biol. Chem.*, 1921, **45**, 333.

- [28] E.V. McCollum, N. Simmonds, J.E. Becker, P.G. Shipley, *J. Biol. Chem.*, 1922, **53**, 293.
- [29] H. Goldblatt, K.M. Soames, *Biochem. J.*, 1923, **17**, 446.
- [30] H. Steenbock, *Science*, 1924, **60**, 224.
- [31] H.A. Schneider, *J. Nutr.*, 1973, **103**, 1233.
- [32] L.F. Fieser, M. Fieser, *Steroids*, Reinhold, New York, 1959, s. 90.
- [33] A.F. Hess, M. Weinstock, *J. Biol. Chem.*, 1924, **62**, 301.
- [34] S. von Bondzynski, *Chem. Ber.*, 1896, **29**, 476.
- [35] A. Windaus, *Nachr. Ges. Wissensch. Göttingen, Math.-physik. Klasse*, 1919, 237.
- [36] A. Windaus, A. Hess, *Nachr. Ges. Wissensch. Göttingen, Math.-physik. Klasse*, 1926, 175.
- [37] A.F. Hess, A. Windaus, *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 1926, **24**, 1971.
- [38] O. Rosenheim, T.A. Webster, *Biochem. J.*, 1927, **21**, 127.
- [39] R. Pohl, *Nachr. Ges. Wissensch. Göttingen, Math.-physik. Klasse*, 1927, 185.
- [40] I.M. Heilbron, E.D. Kamm, R.A. Morton, *Biochem. J.*, 1927, **21**, 78.
- [41] A.F. Hess, A. Windaus, *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 1927, **24**, 461.
- [42] O. Rosenheim, T.A. Webster, *Biochem. J.*, 1927, **21**, 389.
- [43] O. Diels, W. Gädke, P. Körden, *Liebigs Ann. Chem.*, 1927, **459**, 1.
- [44] L. Ruzicka, M.W. Goldberg, G. Thomann, *Helv. Chim. Acta*, 1933, **16**, 812.
- [45] S.H. Harper, G.A.R. Kon, F.C.J. Ruzicka, *J. Chem. Soc.*, 1934.
- [46] O. Diels, H.F. Rickert, *Chem. Ber.*, 1935, **68**, 267.
- [47] J.D. Bernal, *Nature*, 1932, **129**, 277.
- [48] J.D. Bernal, *Chem. Ind.*, 1932, 466.
- [49] D.M.C. Hodgkin, *Biogr. Mem. Fell. R. Soc.*, 1980, **26**, 16.
- [50] O. Rosenheim, H. King, *Nature* 1932, **130**, 315.
- [51] O. Rosenheim, H. King, *Chem. Ind.*, 1932, 464.
- [52] H. Wieland, E. Dane, *Z. Physiol. Chem.*, 1932, **210**, 268.
- [53] A. Windaus, *Z. Physiol. Chem.*, 1932, **213**, 147.
- [54] A. Windaus, *Proc. R. Soc. Lond. B*, 1931, **108**, 568.
- [55] T.C. Angus, F.A. Askew, R.B. Bourdillon, H.M. Bruce, R.K. Callow, C. Fischmann, J.S.L. Philpot, T.A. Webster, *Proc. R. Soc. Lond. B*, 1931, **108**, 340.
- [56] A. Windaus, A. Lüttringhaus, M. Deppe, *Liebigs Ann. Chem.*, 1931, **489**, 252.
- [57] A. Windaus, O. Linsert, A. Lüttringhaus, G. Weidlich, *Liebigs Ann. Chem.*, 1932, **492**, 226.
- [58] C.K. Chuang, *Liebigs Ann. Chem.*, 1933, **500**, 270.
- [59] L. Velluz, G. Amiard, A. Petit, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 1949, **16**, 501.
- [60] L. Velluz, G. Amiard, B. Goffinet, *Bull. Soc. Chim. France*, 1955, **22**, 1341.
- [61] E. Havinga, *Experientia*, 1973, **29**, 1181.
- [62] A. Windaus, W. Thiele, *Liebigs Ann. Chem.*, 1936, **521**, 160.
- [63] I.M. Heilbron, K.M. Samant, F.S. Spring, *Nature (London)*, 1935, **135**, 1072.
- [64] J. Waddell, *J. Biol. Chem.*, 1934, **105**, 711.
- [65] A. Windaus, H. Lettré, F. Schenck, *Liebigs Ann. Chem.*, 1935, **520**, 98.
- [66] A. Windaus, F. Schenck, F. v. Werder, *Z. Physiol. Chem.*, 1936, **241**, 100.
- [67] H. Brockmann, *Z. Physiol. Chem.*, 1936, **241**, 104.
- [68] A. Windaus, F. Bock, *Z. Physiol. Chem.*, 1937, **245**, 168.
- [69] A. Windaus, B. Guntzel, *Liebigs Ann. Chem.*, 1939, **538**, 120.
- [70] D. Crowfoot, J.D. Dunitz, *Nature*, 1948, **162**, 608.
- [71] U. Deichmann, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2002, **41**, 1310.
- [72] M. Dunikowska, L. Turko, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2011, **50**, 10050.

Praca wpłynęła do Redakcji 4 maja 2012