

ÜBER DIE FARBSTOFFE DES GOLDRÖSCHENS, KERRIA JAPONICA, DC.

Von Takeo ITO, Harusada SUGINOME, Kiyoshi UENO
und Shigeto WATANABE.

Eingegangen am 24. Oktober 1936. Ausgegeben am 28. Dezember 1936.

Die Blüten des Goldröschens, *Kerria japonica*, DC., das in Japan einheimisch und in Gärten als Zierstrauch angepflanzt ist, zuweilen auch verwildert vorkommt, enthalten bekanntlich schönen, goldgelben Farbstoff. Dieser ist seit alten Zeiten in Japan ein typischer Farbton gewesen. Obwohl schon früher Botaniker⁽¹⁾ diesen Farbstoff behandelten und zeigten, dass er ein Carotinoidfarbstoff sei, ist dessen Isolierung bisher noch nicht gelungen.

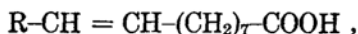
Nach Beschaffung einer ziemlich grossen Menge Ausgangsmaterials (17.6 kg. nach dem Trocknen bei 40°) haben wir neben Anthoxanthin den Hauptfarbstoff der Blüte in krystallisiertem Zustand isoliert. Es ist ein Farbwachs vom Schmelzpunkt 88–89°, das mit Helenien sowohl spektroskopisch als auch durch Mischprobe mit dem reinen, synthetischen völlig übereinstimmen scheint. Verseift man das Farbwachs mit alkoholischem Kali, so entstehen Lutein und Fettsäure. Das Lutein ist ganz rein und schmilzt ohne weiteres bei 193–194° (korr.). Dagegen ist die Fettsäure unrein und schmilzt bei 47–48°. Der Schmelzpunkt lässt sich auch durch wiederholtes Umkrystallisieren nicht über 58° steigern. Bei kurzem Behandeln der Fettsäure mit Ozon erhielt man eine Säure vom Schmelzpunkt 61–62°, die als Palmitinsäure identifiziert werden kann. Verseift man dann das synthetische Helenien unter denselben Bedingungen wie beim natürlichen, so entstehen reines Lutein und reine Palmitinsäure, schmelzend bei 61–62°. Bei Anwendung der Blei-Alkohol-Methode auf die durch Verseifung erhaltene Fettsäure wurde die Palmitinsäure von der flüssigen Säure, die die Erniedrigung des Schmelzpunkts verursacht, befreit. Die letztere wurde dann in das Säureamid, schmelzend bei 75°, übergeführt und als Ölsäureamid identifiziert. Daraus folgt, dass das Farbwachs aus Blüten des Goldröschens neben dem Helenien, Luteindipalmitat, den Luteinester des Ölsäure enthält.

Überblickt man die Literatur über das Farbwachs, so entsteht der bestimmte Eindruck, dass Zeaxanthin und Lutein neben Palmitinsäure noch mit

(1) T. Tammes, *Flora*, **87** (1900), 205; A. Tschirch, *Ber. deut. botan. Ges.*, **22** (1904), 414; F. G. Kohl, *ibid.*, **24** (1906), 129, 222; van Wisselingh, *Flora*, **107** (1915), 371.

anderen Fettsäuren verestert sind. Kuhn⁽²⁾ und Zechmeister⁽³⁾ haben mit ihren Mitarbeitern gleichzeitig und unabhängig voneinander chemischpräparative Beweise dafür erbracht, dass Polyenalkohole sehr häufig mit Fettsäure verestert sind. Zunächst wurde gezeigt, dass das Physalien $C_{72}H_{116}O_4$ der Judenkirsche und des Bocksodorns Dipalmitat des Zeaxanthins ist. Nachher haben Kuhn und Winterstein⁽⁴⁾ noch ein zweites Farbwachs, Helenien, Dipalmitat des Luteins, aus Blüten von *Helenium autumnale*, L. isoliert. Diesen Verfassern nach schmilzt das Helenien bei 92° . Aber darüber gibt es keine ausführliche Beschreibung. Ausser diesem liegen ziemlich viele Angaben⁽⁵⁾ über Farbwachse vor. Bemerkenswert ist, dass Kuhn und seine Mitarbeiter⁽⁶⁾ aus Blüten von *Tagetes gandifolium*, L. ein bei $84-85^\circ$ schmelzendes Farbwachs hergestellt haben. Diese Verfasser nahmen es als Helenien an, über Verunreinigungen war nichts angegeben. Sie haben durch Hydrolyse des Waxes niedrig schmelzende (50°) Palmitinsäure erhalten, und geschlossen, dass in der *Tagetes*-Blüte noch andere Fettsäuren vorkommen können und das Lutein sich vorzugsweise mit der Palmitinsäure zu verestern scheint.

Bei Ozonisierung von umkrystallisiertem Physalien erhielten Karrer und Pieper⁽⁷⁾ etwas Azelainsäure. Daraus schlossen sie, dass Physalien neben dem Zeaxanthindipalmitat den Zeaxanthinester einer Säure,



vermutlich Ölsäure, enthält.

Durch die Klärung der soeben angeführten Tatsachen ist das gemeinsame Vorkommen von verschiedenen Wachsen verständlicher geworden und das sogenannte Farbwachs ist in chemischer Beziehung nichts anders als das gewöhnliche Wachs. Demgemäss ist zu erwarten, dass verschiedene Wachse die durch Veresterung der Polyenalkohole mit Stearinsäure, Linolensäure usw., aber nicht mit Palmitinsäure, entstehen, in der Natur vorkommen werden.

Trotz wiederholter Umkrystallisation konnten wir ölsäurefreies Farbwachs nicht erhalten. Die Zerlegung des Farbwachsgemisches in seinen Komponenten wurde zuletzt durch Adsorption aus Benzin in einer Säule von

(2) R. Kuhn, A. Winterstein und W. Kaufmann, *Naturwissenschaften*, **18** (1930), 418; *Ber.*, **63** (1930), 1489.

(3) L. Zechmeister und L. v. Cholnoky, *Ann.*, **481** (1930), 42.

(4) R. Kuhn und A. Winterstein, *Naturwissenschaften*, **18** (1930), 754.

(5) R. Kuhn und A. Winterstein, *Ber.*, **64** (1931), 326; P. Karrer und H. Salomon, *Helv. Chim. Acta*, **13** (1930), 1063; R. Kuhn und E. Lederer, *Z. physiol. Chem.*, **200** (1931), 108.

(6) R. Kuhn, A. Winterstein, und E. Lederer, *Z. physiol. Chem.*, **197** (1931), 150.

(7) P. Karrer und B. Pieper, *Helv. Chim. Acta*, **14** (1931), 838.

Magnesiumoxyd ausprobiert. Dabei wurde eine kleine Menge von fremdem Farbstoff in der oberen Schicht zurückgehalten, das Farbwachs bildete in der unteren Schicht einen zweiten Farbring. Durch wiederholtes Nachgiessen von Benzin liess sich der Ring ausbreiten, aber er blieb einbändig. Unter denselben Bedingungen wurde die Fraktionierung durch Adsorption wiederholt. Dabei blieb das Wachs immer noch einbändig in der oberen Schicht zurück und nur eine untergeordnete Menge eines Nebenfarbstoffs, vielleicht Taraxanthin, verblieb in der unteren Schicht. Trotz vieler Bemühungen ist es nicht gelungen, weder das natürliche Farbwachsgemisch noch das künstliche durch chromatographische Analyse in Luteindipalmitat und Luteinsäureester zu zerlegen.

Wenn man folglich die Reinheit eines Farbwachses prüfen will, so ist es nötig, dieselbe durch die bei der Verseifung entstandene Fettsäure zu prüfen.

Den grössten Teil der Blüten haben uns der Botanische Garten der Universität, Stadtleute aus Sapporo und zum Teil Dr. T. Hayashi, überlassen, denen wir an dieser Stelle nochmals bestens danken. Ebenso sind wir Hrn. Prof. T. Minoshima für die Überlassung eines Spektrographen zu aufrichtigem Dank verpflichtet.

Beschreibung der Versuche.

I. *Darstellung des Farbwachses aus Blüten.* Die Blüten, die von Stengel und Kelchen befreit und getrocknet waren, wurden fein vermahlen; 44.9 kg. frisches Ausgangsmaterial (127,000 Blüten) lieferten 6.85 kg. Trockenpulver. Man hat je 1000 g. davon mit Aceton bei Zimmertemperatur unter Stickstoff zweimal extrahiert. Die Auszüge (ca. 10 l.) wurden unter vermindertem Druck bei 40–50° eingeeengt. Nach vollständiger Entfernung des Lösungsmittels wurde das zurückbleibende rotbraune Öl mit Benzol behandelt und die unlöslichen Substanzen abgelassen. Die Lösung wurde unter vermindertem Druck zu 100 ml. eingedampft und langsam, unter Umrühren, mit 1000 ml. 95 proz. Alkohol versetzt, wobei das Farbwachs sich in einem rotbraunen, amorphen Zustand ausscheidet. Ausbeute 4–5 g. Das rohe Farbwachs wurde nochmals in 25–30 ml. Benzol gelöst und mit absolutem Alkohol gefällt, abgesaugt, dann mit demselben Lösungsmittel, nachdem es vorher je auf 30°, 40°, 50°, 60°, und 70° erwärmt war, gewaschen. Ausbeute 3.0–3.2 g.; Schmp. 85–86°. Das Präparat ist frei von farblosen Substanzen. Nach sechsmaliger Umkrystallisation aus Benzol-Alkohol wurde das Farbwachs zuletzt in Petroläther (Sdp. 40–60°) gelöst und mit absolutem Alkohol versetzt. Dabei scheidet sich der Farbstoff auf der Wand des Kolbens aus. Reibt man den amorphen Farbstoff mit dem Glasstab, so wandelt er sich in metallglänzende Krystalle um: Ausbeute 0.20 g.; Schmp. 88–89°. Die Substanz wurde bei 40–50° über P_2O_5 im Vakuum getrocknet und analysiert. (Gef.: C, 82.37; H, 11.15. Ber. für $C_{72}H_{116}O_4$: C, 82.68; H, 11.19%.)

Verseifung des Farbwachses. Eine Lösung von 0.15 g. Farbwachs, wie oben hergestellt, in 0.8 ml. Petroläther (Sdp. 40–60°) wurde mit 4.5 ml. 5-proz. äthylalkoholischem Kali über Nacht bei 30–35° unter Stickstoff stehen gelassen. Nach Zusatz einer grösseren Menge Wasser scheidet sich Lutein in orangerotfarbigem, krystallinischem Zustand aus;

es wird abgesaugt und mit Wasser gewaschen. Ausbeute 0.08 g.; es schmilzt ohne weiteres bei 193–194° (korr.). Das Lutein ist ganz rein und frei von farblosen Substanzen. Die Mutterlauge wurde, um das letzte Lutein zu entfernen, mit Äther behandelt. Nach dem Ansäuern mit Essigsäure extrahiert man die entstandene Fettsäure mit Äther. Die Säure war etwas gefärbt und fest, aber vermischt mit öligen Substanzen. Ausbeute 0.07 g. Nach der Umkrystallisation oder Destillation im Vakuum schmilzt die Säure konstant bei 58°. Diese wurde mit Thionylchlorid behandelt und das entstandene Säurechlorid mit Tribromanilin kondensiert. Das gereinigte Tribromanilid schmilzt bei 113–116°. Bei der Vermischung des Tribromanilids mit aus reiner Palmitinsäure hergestelltem, schmelzend bei 124°, beträgt der Schmp. 117–121°.

Synthese des Heleniens. Das Helenien wurde von Kuhn und Winterstein⁽⁸⁾ aus *Helinium autumnale*, L. zuerst isoliert, aber es scheint noch nicht synthetisiert zu sein⁽⁹⁾. 0.2 g. chromatographisch gereinigtes Lutein wurden in 4 ml. Pyridin gelöst und mit 0.8 g. Palmitinsäurechlorid versetzt. Nach 30 Minuten wurde das Reaktionsgemisch auf 50° für 30 Minuten erwärmt, und für weitere 30 Minuten bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Beim Eingießen des Reaktionsgemisches in eine grosse Menge Methanol scheidet sich das Farbwachs ab. Dies war in Äther aufgenommen, mit Bicarbonat gewaschen und zuletzt aus Chloroform-Alkohol umkrystallisiert worden. Ausbeute 0.31 g.; Schmp. 89°. (Gef.: C, 82.43; H, 11.12. Ber. für $C_{72}H_{116}O_4$: C, 82.68; H, 11.19%.) Bei der Vermischung des künstlichen Heleniens mit dem aus den Blüten des Goldröschens isolierten Farbwachs zeigt sich keine Depression; es schmilzt bei 88–89°.

Durch weitere Umkrystallisation aus Chloroform-Alkohol, Benzol-Alkohol oder Petroläther-Alkohol, konnten wir den Schmelzpunkt des künstlichen Heleniens über 88–89° steigern. Verseift man das synthetische Helenien, so entsteht reine, bei 61–62° schmelzende Palmitinsäure.

II. Trennung der Ölsäure von den aus Farbwachs erhaltenen Fettsäuren. Durch die Verseifung des wie oben gereinigten Farbwachses aus Goldröschchen bemerkten wir, dass die Palmitinsäure von anderen Fettsäuren begleitet ist. Um die Säure, die die Erniedrigung des Schmelzpunkts der Palmitinsäure verursacht, zu fassen, isolierten wir eine ziemlich grosse Menge der Säure aus den durch Verseifung entstandenen Fettsäuren. Dafür verwendeten wir das bei 85–86° schmelzende Farbwachs. Da das Farbwachs vom Schmp. 85–86° bei der Verseifung Lutein ergibt, das ohne weiteres bei 193–194° schmilzt, kann man erkennen, dass das Ausgangsmaterial genug rein ist. Aus 8.28 g. Farbwachs erhält man durch Verseifung 3.9 g. rohe Fettsäure. Wendet man auf diese Fettsäure die Blei-Alkohol-Methode an, so trennen sich 1.26 g. flüssige Säure von 2.60 g. fester Säure. Die feste Säure schmilzt bei 57–58°. Der Schmelzpunkt steigert sich weder durch Umkrystallisation noch durch Destillation unter vermindertem Druck. Endlich wurde die feste Säure für kurze Zeit mit Ozon behandelt und als Palmitinsäure, bei 61–62° schmelzend, nachgewiesen. Andererseits wurde die mit Lutein etwas gefärbte, flüssige Säure im Vakuum destilliert. Ausbeute 0.70 g. Diese wurde nach Hazzura weiter in Dibromstearinsäure übergeführt, wobei sehr wenige, in Eisessig und Petroläther unlösliche Bromverbindungen entstanden, welche nachgelassen waren. Man löst 0.91 g. Dibromverbindung in 4 ml. Methanol, versetzt sie mit 2 g. Zink, und kocht sie für 3–4 Stdn. auf dem Wasserbad. Nach dem Behandeln mit Lauge wurde das Methanol abdestilliert, mit Essigsäure angesäuert und ausgeäthert. Verdampft der Äther, so bleibt 0.40 g.

(8) *Loc. cit.*

(9) Vgl. P. Karrer und S. Ishikawa, *Helv. Chim. Acta*, **13** (1930), 1099.

flüssige Säure zurück. Sie wurde als Ölsäure identifiziert, indem die Säure in das Säureamid abgeleitet worden war. Dazu behandelt man die Säure mit Thionylchlorid, und das entstandene Säurechlorid wurde dann mit konz. NH_4OH amidiert. Ausbeute 0.2 g.; Schmp. 75–75.5° (aus verd. Alkohol). Es zeigte keine Depression bei Vermischung mit authentischem Präparat. (Gef.: N, 5.01. Ber. für $\text{C}_{18}\text{H}_{35}\text{NO}$: N, 4.98%.)

III. **Chromatographische Analyse von Farbwachsgemisch.** Die chromatographische Analyse von Tswett wurde von Kuhn und seinen Mitarbeitern⁽¹⁰⁾ mit Erfolg in die präparative Chemie der Carotinoide eingeführt. Es gibt aber kein Beispiel zu den Farbwachsen. Wir konnten das Farbwachsgemisch durch Adsorption an Magnesiumoxyd in Benzin (Sdp. 80–100°) zum Teil fraktionieren. Bemerkenswert ist, dass die Zerlegbarkeit des Farbwachsgemisches durch Adsorption nicht von den Säurekomponenten sondern von den Farbstoffkomponenten abhängig ist.

0.4 g. Farbwachs, Schmp. 85–86°, wurden in 40 ml. Benzin (80–100°) gelöst und durch eine Säule von lufttrocknem Magnesiumoxyd abgesaugt. Es wurde mit 240–250 ml. demselben Lösungsmittel nachgewaschen. Das obere, orangerote scharfe Band war abgelassen. Die untere orangegelbe Schicht wurde abgehoben und mit Methanol oder Äthanol eluiert. Ausbeute 0.27 g. Diese wurde noch einmal wie zuerst chromatographiert. Dabei blieb das Farbwachs in der oberen, aber ein gelber Farbstoff in der unteren Schicht. Das Farbwachs wog nach Eluierung 0.20 g. Der Nebenfärbstoff gibt keine Farbenreaktion gegen 25 Proz. Salzsäure und hat die optischen Schwerpunkte 500, 469 m μ in CS_2 . Es scheint ein Taraxanthinester zu sein, aber zu wenig, um ihn genauer zu bestimmen. Dann wurde dreimal die Chromatographie des Farbwachses unternommen, aber es war einbändig und nicht zerlegbar. Optische Schwerpunkte in CS_2 : 508, 475 m μ .

Durch Verseifung aus 1.62 g. chromatographisch gereinigtem Farbwachs, Schmp. 86°, 0.89 g. reines Lutein und 0.73 g. Fettsäure. Diese Säure wurde durch die Blei-Alkohol-Methode in 0.51 g. Palmitinsäure und 0.22 g. Ölsäure zerlegt.

Es wurde dann die Fraktionierung des künstlichen Farbwachsgemisches durch Adsorption an Magnesiumoxyd ausprobiert. Dafür wurde auch Luteindioleat synthetisiert. Der Ester wurde wie beim Helenien mit 55–60 Proz. Ausbeute hergestellt. Als orangerotes Wachs aus Benzol-Alkohol gefällt. Schmp. 75–76°. Makroskopisch sieht man es kristallinisch, es besitzt die Konsistenz eines harten Wachses, und ist in gebräuchlichen Lösungsmitteln leichter löslich als der Palmitinsäureester. (Gef.: C, 83.08; H, 10.92. Ber. für $\text{C}_{76}\text{H}_{120}\text{O}_4$: C, 83.21; H, 10.94%.)

Chromatographische Analyse des künstlichen Gemisches von Lutein-dipalmitat und -dioleat. Man vermischt Dipalmitat mit Dioleat zu gleichen Teilen. 0.1 g. Farbwachsgemisch wurde in 10 ml. Benzin (Sdp. 80–100°) gelöst und durch eine Säule von MgO gesaugt. Es war nur einbändig und nicht zerlegbar. Fraktionierung durch Adsorption aus Benzin-Benzol (8:2) war ebenfalls erfolglos.

*Chemisches Institut der Kaiserlichen Hokkaido-Universität
Sapporo, Japan.*

(10) R. Kuhn und E. Lederer, *Naturwissenschaften*, **19** (1931), 306; *Ber.*, **64** (1931), 1349; R. Kuhn und H. Brockmann, *Z. physiol. Chem.*, **200** (1931), 255; A. Winterstein und G. Stein, *ibid.*, **220** (1933), 247, 263.