

**177. Richard Kuhn und Hans Brockmann:
Über die ersten Oxydationsprodukte des β -Carotins¹⁾.**

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizin. Forschung Heidelberg, Institut für Chemie.]
(Eingegangen am 13. April 1932.)

Die heutigen Erfahrungen über die Konstitution der wichtigsten Carotinoide, deren Bruttoformeln R. Willstätter ermittelt hat, stützen sich vor allem auf die Ergebnisse der katalytischen Hydrierung, welche die Anzahl der Doppelbindungen und der Kohlenstoffringe liefert (L. Zechmeister), auf die Ergebnisse des oxydativen Abbaus, der zu Essigsäure führt und die endständigen Gruppen der Polyen-Ketten zu erfassen gestattet (P. Karrer), auf den Vergleich mit synthetischen Polyen-Farbstoffen und auf den Vergleich mit anderen, vom Isopren abgeleiteten Naturprodukten. Bei den bisherigen Abbauversuchen sind, abgesehen vom Bixin (J. J. Rinkes), immer alle Doppelbindungen auf einmal durch Oxydation zerstört und farblose, gesättigte Bruchstücke erhalten worden. Die vorliegende Mitteilung zeigt, daß es mit unerwartet guter Ausbeute gelingt, die Oxydation von Polyenen so zu leiten, daß die Mehrzahl der charakteristischen konjugierten Doppelbindungen erhalten bleibt und herrlich kristallisierende, tieffarbige Oxydationsprodukte gewonnen werden, die in ihren Absorptionsspektren den natürlichen Polyen-Farbstoffen noch ganz nahe stehen. Das neue Verfahren ist zunächst auf β -Carotin und Lycopin angewandt worden. Es besteht in der Einwirkung kleiner Mengen von Chromsäure unter gelinden Bedingungen. Dasselbe Oxydationsmittel, in großem Überschuß angewandt, hatte bereits zur nassen Verbrennung und zur Bestimmung C-ständiger Methylgruppen von Carotinoiden gedient. Das Ergebnis, zu dem die schonende Anwendung der Chromsäure führt, besteht darin, daß in den untersuchten Fällen bevorzugt solche Oxydationsprodukte zu fassen sind, die durch Angriff der endständigen Doppelbindungen des konjugierten Systems entstehen.

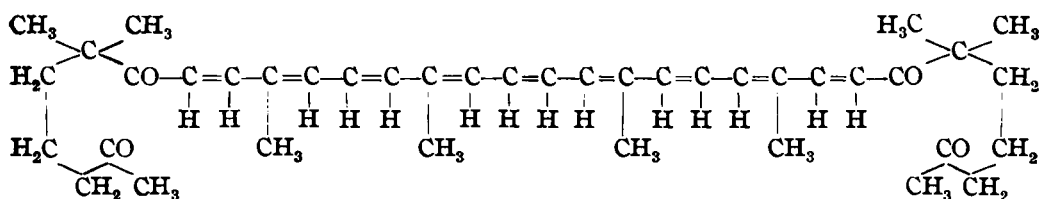
Läßt man auf β -Carotin die für $\frac{3}{2}$ O-Atome berechnete Chromsäure-Menge unter den im Versuchs-Teil angegebenen Bedingungen einwirken, so ist aus den entstandenen Oxydationsprodukten durch Adsorption und Kristallisation in einer Ausbeute von etwa 10% ein β -Oxy-carotin vom konstanten Schmp. 184° erhältlich. Dieses stellt orangerote Nadelchen mit blauem Oberflächenglanz dar. Nach den Elementaranalysen, die am besten auf $C_{40}H_{58}O_8$ stimmen, ohne diese Formel zu beweisen, und nach der Lage der scharfen Absorptionsbanden, scheint das β -Oxy-carotin noch 40 C-Atome zu besitzen. Es ließ sich bisher nicht mit Diazo-methan methylieren und setzte sich auch unter energischen Bedingungen nicht mit Hydroxylamin um. Bei der Verteilung zwischen Benzin und 90-proz. Methanol bleibt das β -Oxy-carotin fast völlig im Kohlenwasserstoff; bei der Analyse nach Th. Zerewitinoff liefert es reichlich 1 Mol. Methan. Durch sein Adsorptionsverhalten läßt es sich scharf von unverändertem Carotin und gleichzeitig auftretenden farbigen Carbonsäuren trennen. Die biologische Prüfung hat zu dem überraschenden Ergebnis geführt, daß β -Oxy-carotin an A-vitamin-frei ernährten Ratten starke Wachstums-Wirkung zeigt. In Mengen von 5 γ pro Tag und Tier bleibt die Wirkung hinter derjenigen gleicher β -Carotin-Mengen kaum zurück. Dieser Befund hängt offenbar damit

¹⁾ Nach einem Vortrag am Kaiser-Wilhelm-Institut Heidelberg, 22. Februar 1932.

zusammen, daß im β -Oxy-carotin noch ein β -Jonon-Ring unversehrt ist, der sich durch starken Veilchen-Geruch auch der besten Präparate zu erkennen gibt, wenn man sie dem weiteren schonenden Abbau mit Chromsäure unterwirft oder der Autoxydation überläßt. P. Karrer²⁾ hat gezeigt, daß A-Vitamin-Präparate aus Lebertran bei der Oxydation die aus β -Jonon und β -Carotin erhältliche Geronsäure liefern. Es ist nunmehr zu schließen, daß von den beiden β -Jonon-Ringen, die im β -Carotin angenommen werden, einer ohne Verlust der Wachstums-Wirkung weitgehend verändert werden kann.

Führt man die Oxydation des β -Carotins mit der für 4 O-Atome berechneten Chromsäure-Menge aus, so kann man durch Adsorptionen und Krystallisationen unter anderen ein prachtvoll krystallisierendes Produkt vom Schmp. $174-175^{\circ}$ isolieren, dem wir den Namen β -Carotinon geben. Es geht im Gegensatz zum β -Oxy-carotin bei der Verteilung zwischen Benzin und 90-proz. Methanol zum größten Teil in den Alkohol und läßt sich durch mehrfaches Ausschütteln der Benzin-Schicht mit 90-proz. Methanol vollständig aus der Benzin-Phase entfernen. Nach den Elementaranalysen lautet die wahrscheinlichste Bruttoformel $C_{40}H_{58}O_4$, wonach β -Carotinon isomer mit Violaxanthin und Taraxanthin wäre. Von den 4 Sauerstoff-Atomen haben wir 2 durch Darstellung eines Dioxims (Schmp. 198°) Carbonylgruppen zugeordnet. Mit Methyl-magnesiumjodid erfolgt bei gewöhnlicher Temperatur keine Gasentwicklung, und auch mit Diazo-methan konnte keine Umsetzung erzielt werden. Alkohol. Kali verändert die Substanz nicht.

Es ist mit Rücksicht auf diese Erfahrungen und die wahrscheinliche Bruttoformel naheliegend, das β -Carotinon als Tetraketon folgendermaßen zu formulieren:



Diese Formel erklärt, daß bei der Autoxydation und bei der weiteren Einwirkung von Chromsäure kein Jonon auftritt. Mit Hydroxylamin reagieren offenbar nur die beiden $-\text{CH}_3\cdot\text{CO}\cdot\text{CH}_3$ -Gruppen, während die Carbonylgruppen, die zwischen Doppelbindungen und quartären C-Atomen liegen, reaktionsträge sind. Die Aufspaltung beider Jonon-Ringe macht auch den spektroskopischen Befund verständlich: β -Carotinon absorbiert langwelliger als β -Carotin und bleibt nur wenig hinter Lycopin zurück, für das ebenfalls 11 konjugierte Doppelbindungen in offener Kette angenommen werden. β -Oxy-carotin absorbiert dagegen kurzwelliger als β -Carotin.

^a) Chemistry at the centenary meeting (1931) of the British Association, Hefter-Cambridge, S. 82; P. Karrer, R. Morf u. K. Schöpp, *Helv. chim. Acta* **14**, 1039, 1434 [1931].

Lagen der Absorptionsbanden in $m\mu$ (Gittermeß-Spektroskop Löwe-Schumm, Kupferoxyd-Ammoniak-Filter).

Vergleichszahlen für Schwefelkohlenstoff (erste Banden):

Lösungsmittel	β -Carotin: 520 $m\mu$		Lycopin: 548 $m\mu$		β -Carotinon	
	β -Oxy-carotin					
Hexan	476	446	419	500	466	436
Benzin	478	448	420	502	468	440
Benzol	489	457	428	522	486	453
Chloroform	487	456	429	527	489	454
Schwefelkohlenstoff ..	508	475	446	538	499	466

Spektroskopisch wichtig ist ferner die Tatsache, daß das β -Carotinon und sein Dioxim praktisch gleiche Absorptionsbanden zeigen³⁾, wie es die Isolierung der reagierenden Ketogruppen vom System der konjugierten Doppelbindungen erwarten läßt. Die Bildung des β -Carotinons scheint nicht über das β -Oxy-carotin zu verlaufen.

An A-vitamin-frei ernährten Ratten zeigt β -Carotinon auch in verhältnismäßig großen Mengen (100 γ) gar keine Wachstums-Wirkung, und es ist auf die Keratomalacie der Tiere ohne Einfluß. Die Zerstörung beider Jonon-Ringe macht diesen Befund verständlich.

Die vor kurzem erörterte Möglichkeit, daß die natürlich vorkommenden Carotinoid-carbonsäuren Oxydationsprodukte der Carotinoide mit 40 C-Atomen darstellen⁴⁾, gewinnt an Wahrscheinlichkeit, seit es künstlich gelungen ist, die endständigen Doppelbindungen der Polyen-Ketten auswählend oxydativ zu sprengen.

Beschreibung der Versuche.

β -Oxy-carotin.

Man löst je 50 mg β -Carotin⁵⁾ in 15 ccm Benzol, verdünnt mit 25 ccm Eisessig und läßt unter starkem Rühren 3.0 ccm wäßrige $n/_{10}$ -Chromsäure bei Zimmer-Temperatur zutropfen, wobei deutliche Farbvertiefung zu bemerken ist. Das Reaktionsgemisch wird mit dem gleichen Volumen Benzin (Sdp. 70–80°) verdünnt und in Wasser gegossen. Die Benzol-Benzin-Schicht wird gründlich gewaschen und durch eine Säule von Aluminiumoxyd (4 cm Durchmesser, 15 cm Länge) gesaugt. Das unverändert gebliebene Carotin läßt sich mit Benzin vollständig auswaschen. Die farbigen Oxydationsprodukte bleiben am Adsorbens und werden mit Benzin, das 5% Äthylalkohol enthält, eluiert. Die Elution verdampft man im Vakuum zur Trockne und digeriert den roten Rückstand mit warmem Methanol. Das krystallinische Rohprodukt wird aus Benzol-Methanol umkrystallisiert. Die bläulich glänzenden, lachsroten Nadelchen oder Plättchen erweisen sich bei der chromatographischen Analyse als Gemisch.

Zur Trennung wird in Benzin gelöst und durch eine Säule von Calciumcarbonat (von den Dimensionen der Aluminiumoxyd-Säule) filtriert. Ein Teil des Farbstoffes bleibt als gelbrote Zone am Calciumcarbonat haften

³⁾ Gegensatz zu Lycopinal und Lycopinal-oxim (vergl. die auf S. 898 folgende Abhandlung). ⁴⁾ R. Kuhn u. A. Winterstein, B. 65, 646 [1932].

⁵⁾ Aus Karotten, durch Adsorption und Krystallisationen gereinigt.

und läßt sich durch Nachwaschen mit Benzin nur langsam tiefer treiben⁶). Das β -Oxy-carotin läuft glatt durch und krystallisiert aus der stark eingegengten Benzin-Lösung auf Zusatz von Methanol in orangeroten Nadeln, die bläulichen Stahlglanz zeigen und bei 184° (Berl, Hochvakuum) konstant schmelzen. Die Ausbeute beträgt 0.5—0.6 g aus 5 g Carotin. Zur Analyse gelangten Präparate von 4 verschiedenen Darstellungen, die bei 100° im Hochvakuum getrocknet und frei von Methanol (Zeisel) waren.

3.524 mg Sbst.: 10.79 mg CO₂, 3.195 mg H₂O. — 3.731 mg Sbst.: 11.35 mg CO₂, 3.375 mg H₂O. — 3.779 mg Sbst.: 11.47 mg CO₂, 3.41 mg H₂O. — 3.593 mg Sbst.: 10.89 mg CO₂, 3.34 mg H₂O.

C₄₀H₅₈O₃. Ber. C 83.27,

H 10.14.

Gef. „ 83.25, 83.19, 83.00, 83.17, „ 10.11, 10.15, 10.12, 10.40.

12.43 mg Sbst.: 0.61 ccm (16°), 0.63 ccm (50°), 0.67 ccm Methan (90°); ber. für 1 akt. H aus C₄₀H₅₈O₃: 0.48 ccm Methan⁷).

Das β -Oxy-carotin ist leicht löslich in Chloroform, Benzol und Schwefelkohlenstoff, weniger gut in Petroläther und Benzin, schwer löslich in Alkohol und Methanol. Mit Antimontrichlorid in Chloroform erhält man eine tiefblaue Lösung, deren Absorptionsbande bei 589 m μ (β -Carotin: 590 m μ) liegt. Aus Benzin wird das β -Oxy-carotin an Aluminiumoxyd leicht adsorbiert. Die verschiedenen Schichten des Chromatogramms stimmen spektroskopisch überein. Calciumcarbonat nimmt aus der Benzin-Lösung nichts auf. Gewisse farbige Begleitstoffe lassen sich auf Grund dieser Tatsache sicher nachweisen.

β -Carotinon.

Gereinigtes Carotin wird in Portionen von 50 mg in einem Gemisch von 15 ccm Benzol und 45 ccm Eisessig gelöst und mit 8 ccm n_{10} -Chromsäure unter starkem Rühren tropfenweise versetzt. Das mit dem gleichen Volumen Benzin verdünnte Reaktionsgemisch wird in destilliertes Wasser gegossen und die Benzol-Benzin-Schicht nach gründlichem Waschen im Vakuum zur Trockne verdampft. Den Rückstand löst man in kochendem absol. Äthylalkohol, aus dem sich beim Erkalten glänzende Blättchen abscheiden. Das Rohprodukt läßt sich gut aus Benzol und Benzin umkrystallisieren. Man erhält carmoisinrote, sechseckige Blättchen von bläulichem Glanz, die, im Hochvakuum eingeschmolzen, bei 174—175° (korr., Berl) schmelzen. Die Ausbeute beträgt 10—15%.

Das β -Carotinon ist leicht löslich in Chloroform, Schwefelkohlenstoff und Benzol, wenig löslich in kaltem Methanol und Alkohol, sehr schwer löslich in Petroläther und Benzin. Bei der Verteilung zwischen Benzin und 90-proz. Methanol geht es zum größten Teil in die Alkohol-Phase und läßt sich durch 2—3-maliges Ausschütteln mit 90-proz. Methanol quantitativ aus dem Benzin extrahieren.

⁶) Dieses Oxydationsprodukt ist nach wiederholter Adsorption aus Benzol-Methanol in dunkelroten, blautichigen Nadeln vom Schmp. 233° (Berl, Hochvakuum) erhalten worden. Bei der Verteilung zwischen Benzin und 90-proz. Methanol und mehrfachem Nachwaschen der Benzin-Schicht geht das Produkt vollständig in den Alkohol. Die SbCl₃-Reaktion ist blau, Absorptionsbande 487 m μ . — Absorptionsspektrum in Benzin: 471, 443, 417 m μ .

⁷) Nach H. Roth, Mikrochemie, Bd. XI, neue Folge Bd. V [1932], im Druck.

3 Präparate verschiedener Darstellung: 3.840 mg Sbst.: 11.23 mg CO₂, 3.08 mg H₂O. — 3.823 mg Sbst.: 11.21 mg CO₂, 3.155 mg H₂O. — 3.713 mg Sbst.: 10.655 mg CO₂, 3.06 mg H₂O.

C₄₀H₅₆O₄. Ber. C 79.94.

H 9.40.

Gef. „ 79.76, 79.98, 79.50, „ 8.97, 9.23, 9.37.

15.17 mg Sbst.: 0.63 ccm Methan (95°); ber. für 1 akt. H aus C₄₀H₅₆O₄: 0.566 ccm Methan.

Adsorption: β -Carotinon wird aus einer Lösung in Benzin sowohl durch Aluminiumoxyd als auch durch Calciumcarbonat adsorbiert und läßt sich von beiden Adsorptionsmitteln durch alkohol-haltiges Benzin leicht eluieren. Im Chromatogramm-Rohr bildet sich beim Filtrieren der Benzin-Lösung durch CaCO₃ eine rote Zone, die sich langsam durch die Säule waschen läßt und in allen Schichten das gleiche Absorptionsspektrum zeigt. Beim Filtrieren der Benzin-Lösung durch Aluminiumoxyd dagegen entsteht eine rote Zone, die sich nicht durch Benzin auswaschen läßt.

β -Carotinon gibt mit Antimontrichlorid in Chloroform eine grünblaue Lösung, die eine Absorptionsbande bei 452 m μ zeigt.

Auf eine große Oberfläche verteilt, zeigt Carotinon im geschlossenen Gefäß keinen Jonon-Geruch.

β -Carotinon-dioxim: 30 mg Carotinon wurden, mit 30 mg freiem Hydroxylamin in Äthylalkohol gelöst, 2 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Beim Stehen im Eisschrank scheiden sich glänzende Blättchen des Oxims ab, die im Aussehen dem β -Carotinon gleichen, jedoch in den entsprechenden Lösungsmitteln viel schwerer löslich sind als dieses. Aus Äthylalkohol umkrystallisiert, schmilzt die Substanz im Hochvakuum (Berl-Block) bei 198° (kor.).

6.221 mg Sbst.: 0.224 ccm N (18°, 762 mm). — 6.663 mg Sbst.: 0.244 ccm N (19°, 753 mm). — 3.877 mg Sbst.: 10.70 mg CO₂, 3.155 mg H₂O.

C₄₀H₅₈O₄N₂. Ber. C 76.13, H 9.37, N 4.44. Gef. C 75.96, H 9.20, N 4.24, 4.24.

Für das Gelingen der Präparate ist die Anwendung reiner Reagenzien (pro analysi, E. Merck) wesentlich. Auch das Wasser muß sehr gut (doppelt destilliert) sein, da sonst asche-haltige Präparate erhalten werden.

Der Deutschen Forschungs-Gemeinschaft danken wir aufrichtig für die Überlassung von Apparaten.

178. Richard Kuhn und Christoph Grundmann: Die ersten Oxydationsprodukte des Lycopins.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizin. Forschung Heidelberg, Institut für Chemie.]
(Eingegangen am 15. April 1932.)

Vom Lycopin, C₄₀H₅₆, sind bisher nur kleine Bruchstücke isoliert worden, nämlich Essigsäure, Acetaldehyd und Aceton (1.6 Mole)¹⁾. Durch gelinde Oxydation mit Chromsäure (3 O-Atome) gelingt es, mit unerwartet guter Ausbeute eine tiefrote, schön krystallisierende Mono-

¹⁾ P. Karrer u. W. E. Bachmann, *Helv. chim. Acta* **12**, 285 [1929]; P. Karrer, A. Helfenstein, H. Wehrli u. A. Wettstein, *Helv. chim. Acta* **13**, 1084 [1930], u. zw. S. 1098; P. Karrer, A. Helfenstein, B. Pieper u. A. Wettstein, *Helv. chim. Acta* **14**, 435 [1931].