

wurde im Verlauf von 45 Min. allmählich auf 220° gesteigert, wobei 2 g nur schwach gelb gefärbtes Destillat sich in den Kugeln ansammelten. In der Kältevorlage fanden sich etwa 0.2—0.3 ccm leicht flüchtiger Anteil. Bei der Oxydation wurden daraus 23 mg Iso-phthalsäure und 4.3 mg Benzoesäure erhalten. Mit den 23 mg Iso-phthalsäure führten wir eine Fluorescein-Probe durch, welche deutlich für die Anwesenheit von o-Phthalsäure (gelbgrüne Fluoreszenz) sprach.

#### Zea-xanthin.

6 g Zea-xanthin aus *Physalis*<sup>15)</sup> vom Schmp. 200° wurden unter 2 mm Druck der thermischen Zersetzung unterworfen. Zwischen 190—200° ging eine schwach gelb gefärbte Fraktion über, die zu einem kleinen Teil krystallinisch erstarrte. Eine etwas größere Krystallfraktion lieferte die bis 205° überg gehende zweite Fraktion. Die dritte Fraktion (bis 220°) stellte ein zähflüssiges Öl dar. Die erste und zweite Fraktion wurden vereinigt und nochmals sorgfältig fraktioniert, so daß die Krystalle nach Abpressen auf Ton fast frei von öligen Begleitern und unter 1 mm bei 70—80° sublimierbar waren. Ausbeute aus 6 g Zea-xanthin 5 mg Kohlenwasserstoff vom Schmp. 103—103.5° (korr., Berl).

1.962 mg Sbst.: 6.59 mg CO<sub>2</sub>, 1.44 mg H<sub>2</sub>O. — Gef. C 91.60, H 8.21.

Molekulargew.-Best. (in Campher): 0.357, 0.393 mg Sbst.:  $\Delta = 16.2, 28.8^{\circ}$ . — M.-G. = 157, 150.

In der Kältevorlage hatte sich eine kleine Menge Kohlenwasserstoff angesammelt, aus dem nach der Oxydation mit Permanganat etwas Benzoesäure und eine sehr kleine Menge Iso-phthalsäure (als Ester identifiziert) erhalten wurde.

Hrn. E. Berl (Darmstadt) sind wir sehr zu Dank verpflichtet für eine quantitative Fraktionierung des Toluol-Xylol-Gemisches aus Bixin.

Frl. U. Ehrenberg danken wir für die eifrige und geschickte Ausführung der thermischen Zersetzungen.

### 379. Richard Kuhn und Christoph Grundmann: Die Konstitution des Lycopins.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizin. Forschung, Heidelberg, Institut für Chemie.]  
(Vorgetragen am Stiftungsfest des Bezirksvereins Deutscher Chemiker,  
Breslau am 29. Oktober 1932; eingegangen am 19. November 1932.)

Die Polyen-Natur der Carotin-Farbstoffe<sup>1)</sup> macht es verständlich, daß der nach üblichen Methoden ausgeführte oxydative Abbau, bei dem alle Doppelbindungen zerstört werden, verhältnismäßig kleine Bruchstücke liefert. Schlußfolgerungen auf die Konstitution des Ausgangsmaterials können daraus, soweit es sich um den Bereich der charakteristischen

<sup>15)</sup> R. Kuhn, A. Winterstein u. W. Kaufmann, B. 68, 1489 [1930].

<sup>1)</sup> Carotinoide sind, streng genommen und ursprünglich, nur die dem Carotin verwandten Farbstoffe. Der von uns benutzte Ausdruck Carotin-Farbstoffe faßt die Carotine selbst ( $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin) mit den Carotinoiden zusammen. Diese Benennung nach den Stammsubstanzen entspricht den gebräuchlichen Bezeichnungen Indigo-Farbstoffe, Anthrachinon-Farbstoffe, Triphenyl-methan-Farbstoffe u. a.

konjugierten Doppelbindungen handelt, nicht gezogen werden. Der Abbau mit Permanganat<sup>2)</sup> und mit Chromsäure<sup>3)</sup> erfaßt zwar die seitenständigen Methylgruppen, macht aber über deren Stellung keine Aussage<sup>4)</sup>. Aus Lycopin, das nach R. Willstätter und H. H. Escher<sup>5)</sup> die Formel  $C_{40}H_{56}$  besitzt, ist neben Essigsäure, die alle Carotin-Farbstoffe liefern, von P. Karrer<sup>6)</sup> nur Aceton (1.6 Mole) erhalten worden. Unter der Annahme, daß das Kohlenstoff-Skelett des Lycopins aus zwei symmetrisch verknüpften Phytol-Resten aufgebaut wird, und daß die durch katalytische Hydrierung<sup>7)</sup> und durch Chlorjod<sup>8)</sup> nachgewiesenen 13 Doppelbindungen ebenfalls symmetrisch zu verteilen sind<sup>9)</sup>, schlug P. Karrer<sup>6)</sup> für das Lycopin die Formel I vor<sup>10)</sup>. Es ist ersichtlich, daß die tatsächlich bekannten Abbauprodukte noch auf außerordentlich viele andere Arten zu einem Kohlenwasserstoff  $C_{40}H_{56}$  verknüpft sein könnten. Die festgestellte Ähnlichkeit des öligen Perhydro-lycopins mit dem aus Dihydro-phytol synthetisierten Paraffin  $C_{40}H_{82}$ <sup>6)</sup> würde auch für zahlreiche Isomere zutreffen.

Eine einwandfreie Konstitutions-Bestimmung von Carotin-Farbstoffen auf dem Wege des Abbaues war zu erhoffen, wenn es gelang, durch schonende Oxydation unter Erhaltung möglichst vieler Doppelbindungen Schritt für Schritt kleinere Bruchstücke von bekanntem Bau abzulösen. Dies gelingt, wie Hr. H. Brockmann gefunden hat, durch sehr vorsichtige Einwirkung von Chromsäure. Die ersten Oxydationsprodukte des  $\beta$ -Carotins<sup>11)</sup> und Lycopins<sup>12)</sup>, die das neue Verfahren geliefert hat, sind bereits beschrieben. Das Lycopin gibt in der ersten Stufe des Abbaues, zu dem 3 O-Atome angewandt wurden, 8 Kohlenstoffatome in Form von Methyl-heptenon ab und geht in einen tiefroten, elfach ungesättigten aliphatischen Aldehyd (Lycopinal) mit 32 Kohlenstoffatomen über. Das Lycopinal gibt beim Abbau mit Ozon nur noch 0.85 Mole Aceton<sup>13)</sup>; eine Isopropylidengruppe des Lycopins ist als Methyl-heptenon abgespalten worden. Wir hatten zunächst noch Zweifel, ob die Aldehydgruppe sich unmittelbar an das konjugierte System der Kohlenstoff-Doppelbindungen anschließt, zumal die Farbaufhellung, die das Oxim gegenüber dem freien Lycopinal zeigte, unerwartet groß war und die Bildung eines Isoxazolins an Stelle des Oxims in den Bereich der Möglichkeit rückte. Die nähere

<sup>2)</sup> R. Kuhn, A. Winterstein u. L. Karlovitz, *Helv. chim. Acta* **12**, 64 [1928/29].

<sup>3)</sup> R. Kuhn u. F. L'Orsa, *Helv. chim. Acta* **12**, 907 [1929]; *Ztschr. angew. Chem.* **44**, 847 [1931].

<sup>4)</sup> Durch thermischen Abbau wird Einblick in die relative Stellung von Methylgruppen zueinander erhalten: R. Kuhn u. A. Winterstein, *B.* **65**, 1873 [1932].

<sup>5)</sup> *Ztschr. physiol. Chem.* **64**, 47 [1910].

<sup>6)</sup> P. Karrer, A. Helfenstein, B. Pieper u. A. Wettstein, *Helv. chim. Acta* **13**, 1084 [1930], **14**, 435 [1931].

<sup>7)</sup> P. Karrer u. R. Widmer, *Helv. chim. Acta* **11**, 751 [1928].

<sup>8)</sup> R. Pummerer, L. Rebmann u. W. Reindel, *B.* **62**, 1411 [1929].

<sup>9)</sup> Nach dem Farbvergleich mit synthetischen Polyen-Verbindungen war anzunehmen, daß von den 13 Doppelbindungen 11 in ununterbrochener Konjugation stehen: R. Kuhn u. A. Winterstein, *Helv. chim. Acta* **12**, 899 [1929].

<sup>10)</sup> Im Original, *Helv. chim. Acta* **14**, 435 [1931], besitzt die Lycopin-Formel ( $C_{40}H_{52}$  statt  $C_{40}H_{56}$ ) 15 konjugierte Doppelbindungen, was auf einem Versehen beruhen dürfte.

<sup>11)</sup> R. Kuhn u. H. Brockmann, *B.* **65**, 894 [1932].

<sup>12)</sup> R. Kuhn u. Chr. Grundmann, *B.* **65**, 898 [1932].

<sup>13)</sup> Nach R. Kuhn u. H. Roth, *B.* **65**, 1285 [1932].

Untersuchung des Lycopinal-oxims hat diese Bedenken zerstreut. Die Substanz reagiert nämlich glatt mit Methyl-magnesiumjodid nach Th. Zerevitinoff wie andere daraufhin untersuchte Aldoxime (*syn*- und *anti*-) und Ketoxime, während das zum Vergleich herangezogene 3.5-Diphenyl-isoxazolin bei gewöhnlicher Temperatur nicht reagiert und erst bei 95° unter Zersetzung 1 Mol Methan entwickelt.

Die am reinen Lycopinal  $C_{32}H_{42}O$  einsetzende zweite Stufe des Abbaues führt schon bei Anwendung der für 2.0 O-Atome berechneten Menge Chromsäure zum Verlust der zweiten Isopropylidengruppe. Diese wird wiederum in Form von Methyl-heptenon abgespalten, doch bleiben die Ausbeuten an *p*-Nitrophenyl-hydrason (Schmp. 101°, 5 % des angewandten Lycopinals) hinter den in der ersten Stufe erhaltenen erheblich zurück. Die Hauptmenge wird weiter zu Aceton aufgespalten. Man sollte meinen, daß die angewandte Chromsäure-Menge (2.0 O-Atome) für die Sprengung einer Kohlenstoff-Doppelbindung unter Bildung von zwei Carbonylen, die wir erstrebt haben, mit Rücksicht auf den weiteren Zerfall des Methyl-heptenons, zu gering bemessen sei. Die angegebene Menge Chromsäure ist jedoch in zahlreichen Versuchen, die spektroskopisch und chromatographisch verfolgt wurden, als günstigste ermittelt worden. Weicht man unter den eingehaltenen Versuchs-Bedingungen von der Zahl 2.0 nur wenig ab, so sinken die Ausbeuten sehr rasch. Das farbige Spaltstück des Lycopinals enthält nur noch 24 C-Atome und besteht aus einem Gemisch von Dialdehyd mit Aldehyd-carbonsäure, vielleicht auch Dicarbonsäure, aus dem wir den Dialdehyd  $C_{24}H_{28}O_2$  in schön krystallisiertem, einheitlichem Zustand isoliert haben. Er liefert beim Ozon-Abbau kein Aceton mehr. Der Dialdehyd schmilzt bei 220° und ist durch ein gut krystallisierendes Dioxim gekennzeichnet, das sich leicht bildet.

Unter den Carotinoiden ist eine Dicarbonsäure mit 24 C-Atomen, das Nor-bixin,  $C_{24}H_{28}O_4$ , wohl bekannt, und wir haben uns viel Mühe gegeben, den neuen Dialdehyd zur Dicarbonsäure zu oxydieren, um einen Vergleich anstellen zu können. Alle Versuche in dieser Richtung sind erfolglos geblieben, weil die bisher geprüften Oxydationsmittel Sprengung von Kohlenstoff-Doppelbindungen vor der Bildung von Carboxylgruppen bewirkt haben, insbesondere Silberoxyd unter den verschiedensten Bedingungen, das sonst auch bei höheren Polyen-aldehyden zum Ziele führt. Dieses sonderbare Verhalten hängt wohl damit zusammen, daß unser Dialdehyd selbst bei monatelangem Liegen an der Luft, trotz aliphatischem Bau und 9 Doppelbindungen, nicht die geringsten Anzeichen von Autoxydation zeigt. Die gegenseitige Stabilisierung der Aldehydgruppen und der damit konjugierten Kohlenstoff-Doppelbindungen übertrifft jede Erwartung.

Die Abwandlung des Dialdehyds  $C_{24}H_{28}O_2$  zur Dicarbonsäure ist auf einem Umweg gelungen. Dem Dioxim  $C_{24}H_{30}N_2O_2$  läßt sich durch Erhitzen mit Essigsäure-anhydrid unter reinem Stickstoff 2-mal Wasser entziehen, und das erhaltene Dinitril wird durch methylalkohol. Kalilauge schon bei gelinder Wärme zur gewünschten Dicarbonsäure  $C_{24}H_{28}O_4$  verseift. Der Vergleich mit dem isomeren Nor-bixin hat ergeben, daß beide Präparate mit Sicherheit verschieden sind. Die Dicarbonsäure aus Lycopin stimmt aber krystallographisch und spektroskopisch genau überein mit  $\beta$ -Nor-bixin, dem Verseifungsprodukt des von Watzinger in Orlean neben Bixin

entdeckten Farbstoffs<sup>14)</sup>. Die Identität wurde bestätigt durch Darstellung des Dimethylesters, der mit  $\beta$ -Methyl-bixin nicht nur krystallographisch und in den sehr scharfen Absorptionsbanden, sondern auch im Schmp. und Misch-Schmp. (206°) übereinstimmte.

$\beta$ -Bixin steht zum Bixin im Verhältnis von *trans*- zu *cis*-Verbindung, wie durch Überführung in ein und dieselbe Dihydro-Verbindung bewiesen wurde<sup>15)</sup>. Die Konstitution des Nor-bixins ist durch die Ergebnisse des oxydativen und thermischen Abbaues und vor allem durch die Synthese seiner Perhydro-Verbindung genau bekannt<sup>16)</sup>. Nor-bixin ist eine 3.7.12.16-Tetramethyloctadecanonaen-1.18-dicarbonsäure (VII). Damit sind alle Spaltstücke des Lycopins aufgeklärt, und es ist erstmals für alle 40 Kohlenstoffatome eines natürlichen Carotin-Farbstoffs die Art der Verknüpfung eindeutig festgelegt. Lycopin ist ein 2.6.10.14.19.23.27.31-Oktamethyl-dotriakonta-tridecaen-(2.6.8.10.12.14.16.18.20.22.24.26.30) (I), wie P. Karrer auf Grund seiner Phytol-Hypothese angenommen hat. Diese Hypothese ist, soweit es sich um das Kohlenstoff-Skelett handelt, nunmehr bewiesen. Es ist aber fraglich, ob die Bildung von Lycopin und Carotinen  $C_{40}H_{56}$  in den Pflanzen wirklich, wie angenommen wurde, aus 2 Mol. Phytol (VIII) erfolgt. Die an reifenden Physalis-Kelchen<sup>17)</sup> und reifenden Tomaten<sup>18)</sup> vorliegenden Bilanzen der Farbstoff-Bildung ergeben, daß sehr viel mehr Carotinoid gebildet wird, als der in Form von Chlorophyll im grünen Zustand enthaltenen Phytol-Menge nach möglich wäre. Da die Reifung an isolierten Früchten gleichartig verläuft, erscheint eine Zuwanderung der erforderlichen Phytol-Mengen aus grünen Blättern sehr unwahrscheinlich. Man wird daher die Möglichkeit in Betracht zu ziehen haben, daß nicht das Phytol selbst<sup>19)</sup>, sondern andere, noch unbekannte, aliphatische Diterpene bzw. Diterpen-Derivate als Zwischenstufen durchlaufen werden, etwa das Proto-phytol (IX)<sup>20)</sup>, aus dem die Pflanzen einerseits durch Hydrierung Phytol, andererseits durch Dimerisierung und Dehydrierung Carotin-Farbstoffe aufbauen könnten.

Für das Lycopinal ergibt sich Formel II, die weiteren beim Abbau durchlaufenen Stufen sind auf S. 1884 zusammengestellt. Ungeklärt ist noch die Frage, ob auch stereochemisch das Lycopin dem  $\beta$ -Nor-bixin entspricht, oder ob es, wie Bixin, *cis*-ständige Doppelbindungen enthält. Wir müssen die Möglichkeit zugeben, daß im Laufe des Abbaues *cis-trans*-Umlagerungen eingetreten sind. Eine der Bildung von  $\beta$ -Bixin entsprechende Isomerisierung des Lycopins ist bisher nicht bekannt. Unter den zur Gewinnung von Iso-carotin<sup>21)</sup> ausgearbeiteten Bedingungen liefert Lycopin einen neuen Farbstoff, der die langwelligsten Absorptionsbanden aller Carotin-Farbstoffe aufweist, nämlich 535 und 499 m $\mu$  in Benzin vom Sdp. 70–80°.

<sup>14)</sup> J. Herzig u. F. Faltis, A. **431**, 40 [1923].

<sup>15)</sup> R. Kuhn u. A. Winterstein, B. **65**, 646 [1932].

<sup>16)</sup> vergl. die voranstehende Abhandlung.

<sup>17)</sup> R. Kuhn u. H. Brockmann, Ztschr. physiol. Chem. **206**, 41 [1932].

<sup>18)</sup> vergl. die Beschreibung der Versuche.

<sup>19)</sup> Soweit es als Bestandteil des Chlorophylls zur Verfügung steht. In freiem Zustand oder in anderer Bindungsform ist ein Vorkommen von Phytol noch nicht beschrieben.

<sup>20)</sup> Th. Wagner-Jauregg, A. **496**, 52 [1932].

<sup>21)</sup> R. Kuhn u. E. Lederer, Naturwiss. **19**, 306 [1931]; B. **65**, 637 [1932].



Mit dem Abbau des Lycopins zum  $\beta$ -Bixin ist es erreicht, zwei natürlich vorkommende Carotinoide ineinander überzuführen. Trotz der nahen Verwandtschaft, welche die Bruttoformeln der Carotin-Farbstoffe verraten, waren bisher alle Versuche einer wechselseitigen Umwandlung erfolglos. Das Ergebnis des Lycopin-Abbaues halten wir für eine wichtige Stütze der Hypothese von R. Kuhn und A. Winterstein<sup>22)</sup>, wonach die natürlich vorkommenden Carotinoid-carbonsäuren Oxydationsprodukte von Carotin-Farbstoffen mit 40 C-Atomen darstellen. Es ist anzunehmen, daß die Carotinoid-carbonsäuren ihre Entstehung in der Pflanze einem enzymatisch-oxydativen Abbau verdanken, der sich auf dieselben oder ähnliche Doppelbindungen von Dehydro-tetraterpenen bezieht, die auch der Einwirkung von Chromsäure den geringsten Widerstand bieten.

Im Lichte dieser Auffassung wird auch die Eigenart des Safran-Farbstoffs Crocin verständlich, der als Digentiobiosid der Dicarbonsäure Crocetin<sup>23)</sup> eine einzigartige Stellung unter den Pflanzen-Farbstoffen einnimmt. Es ist nicht wahrscheinlich, daß die Pflanze Crocetin mit Gentiobiose paart, da bisher keine anderen Carbonsäuren, auch nicht ungesättigte, in der Natur als alkali-spaltbare Glucoside aufgefunden worden sind. Die Pflanzen stellen dagegen enolische (phenolische) Hydroxyle der Glucosid-Bildung häufig zur Verfügung. Wir vermuten daher, daß bei der Bildung des Crocins die Paarung mit Gentiobiose vor der oxydativen Bildung der Carboxylgruppe erfolgt und der Bildung des Malvons aus Malvin zu vergleichen ist, die P. Karrer und G. de Meuron<sup>24)</sup> durch Einwirkung von Hydroperoxyd erzielt haben.

### **Beschreibung der Versuche.**

#### **Darstellung von Lycopin.**

Die Tomaten-Konserven des Handels enthalten in der Regel bedeutende Mengen freier Säuren, die im Laufe der üblichen Verarbeitung starke Verluste am Farbstoff bedingen. Das folgende Verfahren trägt diesem Umstand Rechnung und liefert vielfach 3-mal bessere Ausbeuten an Lycopin als die Vorschrift von R. Willstätter und H. H. Escher<sup>25)</sup>.

8.5 kg Tomaten-Puree (10 Dosen, Alessandro Melloni, Bologna) werden mit 300 g Kaliumcarbonat versetzt und mit 10 l Methanol<sup>26)</sup> sehr gut verrührt, wobei die Masse lebhaft schäumt. Nach einigen Stunden wird abgenutscht und der Rückstand in einer großen Zentrifuge 25 Min. bei 3000 Touren/Min. abgeschleudert<sup>27)</sup>. Die überstehende Lösung macht etwa die Hälfte des Volumens aus und wird abgegossen. Den festen Bodensatz verrührt man mit 10 l Aceton und läßt einige Stunden stehen. Das nunmehr entwässerte Material läßt sich rasch (10 Min.) abnutschen und scharf abpressen. Der bröckelige, sehr hygroskopische Kuchen wird sofort von Hand fein zerkrümelt und mit 4 l Schwefelkohlenstoff übergossen. Die Extraktion des Farbstoffs erfolgt unter Kohlendioxyd in wohlverschlossenen Flaschen und ist über Nacht beendet. Die tiefrote Schwefelkohlenstoff-Lösung wird scharf abgenutscht<sup>28)</sup> und auf dem Dampfbade auf 100 ccm eingengt. Durch Zusatz von 200 ccm reinem Methanol wird das Lycopin gefällt und nach mehrstündigem Stehen im Eisschrank abgesaugt. Man wäscht mit eiskühlem Petroläther, bis dieser, frei von dunklen Ölen, klar abläuft. Die Ausbeute

<sup>22)</sup> B. 65, 646 [1932], u. zw. S. 648; R. Kuhn u. H. Brockmann, B. 65, 894 [1932], u. zw. S. 896. <sup>23)</sup> P. Karrer u. K. Miki, Helv. chim. Acta 12, 985 [1929].

<sup>24)</sup> Helv. chim. Acta 15, 507, 1212 [1932]. <sup>25)</sup> Ztschr. physiol. Chem. 64, 47 [1910].

<sup>26)</sup> Aldehyd-haltiger Holzgeist ist über Kaliumhydroxyd unter Rückfluß zu kochen und abzudestillieren. <sup>27)</sup> Durchmesser der verwendeten Zentrifuge: 90 cm.

<sup>28)</sup> Behandelt man den Rückstand mit der hydraulischen Presse, so erhöht sich die Farbstoff-Ausbeute noch um etwa 5% (100 mg).

an rohem Farbstoff beträgt durchschnittlich 5.0 g. Zur Reinigung wird in 70 ccm Benzol heiß gelöst, filtriert und mit dem gleichen Volumen Methanol versetzt, wobei 3.0 g über 95-proz. Farbstoff erhalten werden. Nach Wiederholung der Krystallisation liegen 2.0—2.5 g Lycopin vor<sup>29)</sup>, das nach colorimetrischem Vergleich 99-proz. oder besser ist, aber bei der Elementaranalyse noch 1.0—1.5 % C zu wenig enthält. Solche Präparate dienen für den oxydativen Abbau. In einzelnen Fällen überstieg die Ausbeute an 2-mal umkrystallisiertem Lycopin 3.0 g. Dieselben Tomaten-Konserven lieferten, wenn der Zusatz von Kaliumcarbonat unterblieb, nur 0.87, 0.95 und 0.88 g einmal umkrystallisiertes Lycopin, entsprechend den Ausbeuten nach R. Willstätter und H. H. Escher. Mit anderen Konserven von A. Melloni haben wir vereinzelt auch ohne Neutralisation 1.8—2.0 g 2-mal umkrystallisiertes Lycopin erhalten.

### Farbstoff-Bildung der Tomaten.

Neben Lycopin enthalten die reifen Früchte auch Carotin, Xanthophylle und Xanthophyll-ester. Die Menge des Carotins macht etwa  $\frac{1}{10}$  des Lycopins aus und erscheint zur Erklärung der A-Vitamin-Wirkung ausreichend. Die folgenden Analysen beziehen sich auf frische, im Freien gezogene Früchte verschiedenen Reifegrades (Heidelberg, Mitte September). Die Trennung und colorimetrische Bestimmung erfolgte nach R. Kuhn und H. Brockmann<sup>30)</sup>.

Farbstoff-Mengen (mg) in 100 g frischer Frucht

	grün	halbreif	vollreif
Lycopin .....	0.11	0.84	7.85
Carotin .....	0.16	0.43	0.73
Xanthophylle .....	0.02	0.03	0.06
Xanthophyll-ester .....	0.00	0.02	0.10

Lycopin ist danach schon in unreifen Früchten, die auch im Innern noch rein grün erscheinen, nachzuweisen. Daneben überwiegt Carotin; Xanthophyll-ester fehlen noch wie in allen bisher untersuchten grünen Blättern und Früchten<sup>30)</sup>. Im halbreifen Zustand (Fruchthaut gelbgrün, Inneres der Frucht schon rötlich) hat das Lycopin bereits das Carotin überflügelt und die Bildung von Xanthophyll-estern eingesetzt, deren Menge weiterhin stark zunimmt und schließlich über die der freien Xanthophylle hinausgeht. Der Chlorophyll-Gehalt der untersuchten grünen Tomaten liegt nach colorimetrischen Bestimmungen unter 3.0 mg (Chlorophyll a + b) in 100 g frischer Frucht. Die darin enthaltene Phytol-Menge reicht bei weitem nicht aus, um die Lycopin-Bildung zu erklären.

Die chromatographische Analyse der Xanthophylle hat ergeben, daß sie vorwiegend aus Zea-xanthin und Lutein bestehen. Viola-xanthin war nicht nachzuweisen. Das Carotin wurde aus den Aceton-Extrakten, die bei der Lycopin-Darstellung anfallen, in schön krystallisiertem Zustand isoliert. Es hat sich als nahezu einheitliches  $\beta$ -Carotin erwiesen. Die Absorptionsbanden in Benzin (Sdp. 70—80°) lagen bei 483 und 452 m $\mu$ .

Läßt man Tomaten künstlich bei 30° reifen, so bleibt, wie H. v. Euler, P. Karrer, E. v. Krauss und O. Walker<sup>31)</sup> gefunden haben, die Bildung des Lycopins aus. Die gelben Früchte enthielten nach diesen Autoren 0.233 g Carotin und 0.038 g Xanthophylle auf 1 kg Trockensubstanz.

<sup>29)</sup> Mittel aus 15 Darstellungen.

<sup>30)</sup> Ztschr. physiol. Chem. 206, 41 [1932].

<sup>31)</sup> Helv. chim. Acta 14, 154 [1930/1931].

## Bixin-dialdehyd.

100 mg Lycopinal (II) wurden in 30 ccm Benzol p. anal. gelöst und 70 ccm Eisessig (über Permanganat destilliert) zugegeben. Unter lebhaftem Rühren ließen wir wäßrige  $n_{10}$ -Chromsäure zutropfen, bis die Lycopinal-Bande (526 m $\mu$  in Benzin) vollkommen verschwunden war<sup>32)</sup>. Das war nach Zugabe von 9.3 ccm, entspr. 2.0 O-Atomen, der Fall. Die Reaktionslösung wurde mit 200 ccm Benzol und 500 ccm Wasser entmischt, durch wiederholtes Waschen mit Wasser entsäuert und die Benzol-Schicht im Vakuum auf 5 ccm eingengt. Über Nacht schieden sich 33 mg Dialdehyd vom Schmp. 218–220° (Berl, kor.) aus (45 % d. Th.).

1.00 g Lycopin wird in 500 ccm Benzol p. anal. unter Erwärmen gelöst. Je 50 ccm dieser Lösung verdünnen wir mit 20 ccm Benzol und 100 ccm Eisessig (über Permanganat destilliert). Unter sehr starkem Rühren läßt man die für 5 O-Atome berechnete Menge (18.7 ccm)  $n_{10}$ -Chromsäure im Laufe von 5 Min. zutropfen. Zur weiteren Verarbeitung werden die in 10 Ansätzen gewonnenen Lösungen vereinigt und durch wiederholtes Ausschütteln mit Wasser entsäuert. Die Benzol-Schicht wird im Vakuum verdampft und der Rückstand in 5–10 ccm reinstem Chloroform gelöst. Auf Zusatz des doppelten Volumens Benzol krystallisiert nach mehrstündigem Stehen der Dialdehyd nahezu vollständig aus. Er wird gründlich mit Benzol und Alkohol gewaschen. Aus den tief gefärbten Mutterlaugen lassen sich nur noch sehr geringe Mengen als Dioxim abscheiden. Die Ausbeute schwankt zwischen 10 und 20 % d. Th. Aus 11.2 g Lycopin wurden in 112 einzelnen Oxydationsversuchen 1.20 g Bixindialdehyd erhalten, entspr. einer mittleren Ausbeute von 16.5 % d. Th.

Die Isolierung der niederen Spaltstücke erfolgte mit *p*-Nitrophenylhydrazin in der beim Lycopinal angegebenen Weise<sup>33)</sup>. Methyl-heptenon-*p*-Nitrophenyl-hydrazon: Schmp. und Misch-Schmp. 101°, Aceton-*p*-Nitrophenyl-hydrazon: Schmp. 143°, Misch-Schmp. 143–144°, Form-aldehyd-*p*-Nitrophenyl-hydrazon: Schmp. 180° (ber. N 25.46, gef. N 25.19 %).

Nach chromatographischer Analyse an Calciumcarbonat aus Benzin- oder besser Schwefelkohlenstoff-Lösung scheint der Farbstoff einheitlich zu sein. Man erhält eine scharfe violettrote Zone, die sich nach den üblichen chromatographischen Methoden nicht differenzieren läßt. Durch wiederholtes Krystallisieren aus Chloroform-Alkohol oder Chloroform-Benzin gewinnt man den Dialdehyd in stahlblau glänzenden, in der Durchsicht granatroten Nadeln. Solche Präparate enthalten aber noch etwa 2 % C zu wenig und geben nach Th. Zerewitinoff etwa 0.3 Mole Methan. Sie enthalten offenbar Aldehyd-carbonsäure, die sich weder durch weiteres Umkrystallisieren aus Chloroform, noch durch Adsorption an Calciumcarbonat oder Aluminiumoxyd abtrennen läßt. Die Darstellung des Dialdehyds in reinem Zustand gelang durch wiederholtes Umkrystallisieren aus Pyridin, das über das Perchlorat gereinigt war, wobei allerdings die Ausbeute unter 5 % des Rohproduktes sank.

<sup>32)</sup> Spektroskopisch geprüft wurde die Benzin-Lösung nach vorangehender Entfernung des Dialdehyds durch Adsorption an CaCO<sub>3</sub>.

<sup>33)</sup> Die besten Ausbeuten erhielten wir unter Umgehung des Chromatogramms durch Vakuum-Destillation der entsäuerten Benzol-Lösungen. Dabei geht die Hauptmenge des Methyl-heptenons mit den letzten Anteilen des Benzols über.



Bixindialdehyd (IV) krystallisiert aus Pyridin in derben Prismen, die mitunter schöne Zwillinge bilden und stark blauvioletten Glanz besitzen. An der Luft zeigt der Dialdehyd im Gegensatz zum Lycopinal auch nach Monaten keine Zeichen von Autoxydation. Im Schmelzpunkts-Röhrchen findet bei Luft-Zutritt oberhalb von  $180^{\circ}$  Zersetzung unter vollkommenem Ausbleichen ohne Schmelzen statt. Im hochevakuierten Röhrchen schmilzt die Substanz scharf bei  $220^{\circ}$  (korr., Berl).

3.354 mg Sbst. (bei 0.001 mm über Chlorcalcium getrocknet): 10.155 mg  $\text{CO}_2$ , 2.49 mg  $\text{H}_2\text{O}$ .

$\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{O}_2$  (348.2). Ber. C 82.71, H 8.10. Gef. C 82.56, H 8.31.

Pyridin und Chloroform haben sich als beste Lösungsmittel erwiesen. Schwefelkohlenstoff, Benzin, Alkohol, Äther, Aceton (auch Dioxan) werden vom Bixindialdehyd kaum angefärbt. Heißes Benzol löst merklich. Bei der Verteilung zwischen Benzin und 90-proz. Methanol geht der Dialdehyd zum Unterschied von Lycopinal in die untere Schicht. Versucht man, nach Zusatz von Wasser wieder in Benzin zu treiben, so fällt alles in der Grenzschicht aus.

Die Schwerpunkte der Absorptionsbanden (Kupferoxyd-Ammoniak-Filter, Loeweschumm) liegen bei:

Schwefelkohlenstoff .....	539.5	502.0	467.5 $\text{m}\mu$
Pyridin .....	534.5	494.0	(459) $\text{m}\mu$
Chloroform .....	529.0	490.5	(456) $\text{m}\mu$
Benzin (Sdp. $70-80^{\circ}$ ) .....	502.0	468.0	437.5 $\text{m}\mu$

Bixin-dialdoxim (V): Man löst 100 mg Dialdehyd in 25 ccm reinstem Chloroform, versetzt mit 0.5 ccm einer 10-proz. Lösung von freiem Hydroxylamin in reinstem Pyridin und erwärmt 20 Min. auf dem Wasserbade. Schon in der Hitze beginnt das Dioxim in sehr feinen Nadelchen auszufallen, die Abscheidung wird durch Aufbewahren im Eisschrank vervollständigt (80 mg). Das Dioxim ist in allen üblichen Solvenzien, mit Ausnahme von Pyridin, unlöslich. Auch im hoch-evakuierten Röhrchen zeigt die Substanz keinen Schmp. Zwischen  $250^{\circ}$  und  $300^{\circ}$  findet unter starker Dunkelfärbung und starkem Sintern Zersetzung statt. Geht man von reinem Dialdehyd aus, so erhält man das Dioxim sofort rein.

4.304 mg Sbst.: 0.286 ccm N ( $21^{\circ}$ , 755 mm).

$\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_2$  (378.3). Ber. N 7.41. Gef. N 7.66.

In Pyridin-Lösung liegen die Schwerpunkte der Absorptionsbanden bei 517, 482 und 452  $\text{m}\mu$ . Das Verhalten bei Adsorption und Entmischung kann wegen zu geringer Löslichkeit nicht angegeben werden.

$\beta$ -Nor-bixin (VII): 82 mg Bixin-dialdoxim<sup>34)</sup> wurden mit 30 ccm Essigsäure-anhydrid p. anal. unter reinem Stickstoff 30 Min. unter Rückfluß gekocht. Man ließ unter Stickstoff erkalten und dampfte das Lösungsmittel im Vakuum bei  $30^{\circ}$  vollständig ab. Das zurückbleibende Dinitril zeigte in Pyridin Absorptionsbanden bei 517, 482 und 452  $\text{m}\mu$ , die mit denjenigen des Dioxims praktisch übereinstimmen.

Führt man die Wasser-Abspaltung mit Essigsäure-anhydrid unter Luft-Zutritt aus, so sind die Absorptionsbanden langwelliger, und man erhält im Chromatogramm

<sup>34)</sup> Als Ausgangsmaterial dienten Präparate von Bixin-dialdehyd, die 2-mal aus Chloroform-Alkohol umkrystallisiert waren.

aus Benzin an Calciumcarbonat etwa 7 verschiedene Zonen. Die Verseifung solcher Produkte liefert nur sehr geringe Mengen  $\beta$ -Nor-bixin.

Das rohe Dinitril (VI) wurde sofort mit 60 ccm siedendem 96-proz. Alkohol aufgenommen, ein geringer Rückstand in etwas Benzol gelöst und mit der alkohol. Lösung vereinigt. Nach Zusatz von 20 ccm 10-proz. methylalkohol. Kalilauge wurde 30–60 Min. im Wasserbade auf 70–80° unter reinstem Stickstoff erwärmt. Solange noch unverändertes Nitril vorhanden ist, gibt eine Probe nach dem Verdünnen mit Wasser an Chloroform noch Farbstoff ab. Zuletzt fällt alles als Norbixin-kalium aus. Man läßt unter Stickstoff erkalten, säuert sofort mit 10-proz. Essigsäure an und schüttelt die Dicarbonsäure mit Chloroform aus. Man wäscht gründlich mit Wasser, verdampft im Vakuum und kocht den Rückstand 2-mal mit 30 ccm Benzin und noch 1-mal mit 50 ccm Methanol aus. Das Ungelöste wird aus 0.5 ccm heißem Pyridin umkrystallisiert. Die erhaltenen dunkelroten, rechtwinkligen Täfelchen stimmten in der Krystallform und Auslöschungs-Schiefe mit  $\beta$ -Nor-bixin aus Bixa-Samen überein und zeigten wie dieses auch im hoch-evakuierten Röhrchen bis 360° keinen Schmp.

Die Überführung in den Dimethylester erfolgte mit Diazo-methan in Pyridin-Lösung. Nach dem Verdampfen des Pyridins wurde aus Chloroform-Alkohol und anschließend noch aus wenig Pyridin umkrystallisiert. Wir erhielten das  $\beta$ -Methyl-bixin in blauglänzenden, breiten Nadeln und abgeschrägten Prismen, die in der Durchsicht granatrot erschienen und bei 206–207° (Berl, korr., Hochvakuum) schmolzen. Ein Vergleichs-Präparat von  $\beta$ -Methyl-bixin<sup>36)</sup> zeigte bei Krystallisation aus Pyridin dieselben Formen und schmolz unter gleichen Bedingungen bei 206°. Der Misch-Schmp. lag bei genau gleicher Temperatur.

Der Vergleich der Absorptionsspektren in Pyridin ergab für die Schwerpunkte der Banden (Mittelwerte aus je 10 Ablesungen):

$\beta$ -Methyl-bixin aus Lycopin .....	515.8	484.3 m $\mu$
$\beta$ -Methyl-bixin aus Bixin .....	516.0	484.3 m $\mu$

Die innerhalb der Meßfehler liegende Übereinstimmung bestätigte sich scharf bei unmittelbarem Vergleich der übereinander projizierten Spektren auch in anderen Lösungsmitteln.

Der Deutschen Forschungs-Gemeinschaft sprechen wir für die Überlassung von Apparaten unseren besten Dank aus.

<sup>36)</sup> Aus Dihydro-methylbixin nach R. Kuhn u. J. P. Drumm, B. 65, 1458, 1785 [1932].