

Weder die Lösung des Methyl-Derivates (V), noch die der Äthyl-Verbindung in konz. Schwefelsäure zeigt Fluoreszenz. Tanasescu ist offenbar eine Verwechslung unterlaufen.

Die von Tanasescu für seine Theorien immer wieder angeführte „Tautomerie“ des *o*-Nitro-benzaldehyds ist bereits durch mehrere Forscher<sup>28)</sup> so überzeugend widerlegt worden, daß es sich erübrigert, noch näher darauf einzugehen.

### 68. Richard Kuhn und Christoph Grundmann: Über Rubixanthin, ein neues Xanthophyll der Formel $C_{40}H_{56}O$ .

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für medizin. Forschung Heidelberg, Institut für Chemie.]  
(Eingegangen am 15. Januar 1934.)

Die sauerstoff-ärmeren Xanthophylle lassen sich nach der Lage ihrer Absorptionsbanden in einfacher Weise den Kohlenwasserstoffen der Carotin-Reihe zuordnen. Krypto-xanthin<sup>1)</sup>,  $C_{40}H_{56}O$ , und Zea-xanthin,  $C_{40}H_{56}O_2$ , stimmen spektroskopisch genau überein mit  $\beta$ -Carotin, von dem sie sich anscheinend durch Eintritt von 1 und 2 Hydroxylgruppen ableiten. Das Lutein,  $C_{40}H_{56}O_2$ , ist in entsprechender Weise dem  $\alpha$ -Carotin zuzuordnen. Im folgenden berichten wir über das erste Xanthophyll, das spektroskopisch mit  $\gamma$ -Carotin<sup>2)</sup> übereinstimmt.

Der neue Farbstoff findet sich in den Hagebutten, wo er von bedeutenden Mengen Lycopin<sup>3)</sup> und Carotinen begleitet wird. Für die Darstellung besonders günstig sind die reifen Früchte von *Rosa rubinosa*. Diese lassen sich durch die weichere, stark behaarte Fruchthaut leicht von den gewöhnlichen Hagebutten, den Früchten von *Rosa canina*, unterscheiden. Die Abtrennung des Xanthophylls, für das wir nach seinem Vorkommen den Namen Rubixanthin vorschlagen, ist auf dem Wege der chromatographischen Adsorptions-Analyse möglich gewesen.

Rubixanthin wird von allen epiphysischen Carotinoiden an Aluminiumoxyd am leichtesten adsorbiert. Auf Grund dieser Eigenschaft läßt es sich von  $\gamma$ -Carotin ebenso leicht wie von Lycopin und den anderen Carotinen trennen. Das Adsorptions-Verhalten ist dem des Krypto-xanthins besonders ähnlich. Künstliche Gemische von Rubixanthin und Krypto-xanthin ließen sich weder durch Aluminiumoxyd, noch durch Calciumcarbonat quantitativ zerlegen: in der einheitlich braunrot erscheinenden Adsorptions-Zone war oben das Rubixanthin, unten das Krypto-xanthin angereichert. Die Verhältnisse erinnern an die bei der Trennung von Lutein-Zeaxanthin-Genischen<sup>4)</sup> gemachten Erfahrungen.

<sup>28)</sup> F. Arndt, B. **62**, 1167 [1929]; H. Gilman, R. E. Fothergill, Bull. Soc. chim. France [4] **45**, 1132 [1929]; I. I. Postowsky, B. K. Uparow, Journ. Russ. phys.-chem. Ges. **61**, 719 [1929]; C. **1931**, II 427.

<sup>1)</sup> R. Kuhn u. Chr. Grundmann, B. **66**, 1746 [1933].

<sup>2)</sup> R. Kuhn u. H. Brockmann, B. **66**, 407 [1933].

<sup>3)</sup> H. H. Escher, Helv. chim. Acta **11**, 752 [1928].

<sup>4)</sup> R. Kuhn, A. Winterstein u. E. Lederer, Ztschr. physiol. Chem. **197**, 141 [1931], u. zw. S. 158.

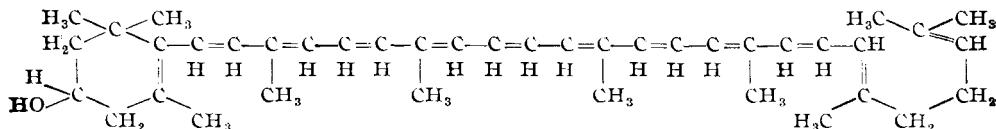
Rubixanthin krystallisiert aus Benzol-Methanol in stark kupferglänzenden, häufig sternförmig angeordneten, feinen Nadeln, die bei 160° (Berl) schmelzen und frei von Krystall-Methanol sind. Aus Benzol-Petroläther erhält man orangerote, sehr feine, verfilzte Nadelchen. Die Absorptionsbanden stimmen in verschiedenen Lösungsmitteln genau mit denen des  $\gamma$ -Carotins überein.

Schwerpunkte der Absorptionsbanden in  $\mu$ .

Gitter-Meß-Spektroskop Loewe-Schumm; Kupferoxyd-Ammoniak-Filter.

Schwefelkohlenstoff ....	533	494	461
Chloroform .....	509	474	439
Alkohol (absol.) .....	496	463	433
Benzin (Sdp. 70—80°) ..	495.5	463	432
Hexan .....	494	462	432

Nach der Elementar-analyse kommt dem Rubixanthin die Formel  $C_{40}H_{56}O$  zu. Es ist mit Krypto-xanthin isomer und zeigt auch dessen charakteristisches Verhalten bei der Verteilungs-Probe: 90-proz. Methanol nimmt aus Benzin nichts auf, in 95-proz. Methanol geht aber der Farbstoff beträchtlich. Bei der katalytischen Hydrierung werden, abweichend von allen bisher bekannten Xanthophyllen (II) und in Übereinstimmung mit  $\gamma$ -Carotin 12 Mole Wasserstoff aufgenommen (gef. 11.94 Mole). Da das Sauerstoffatom einer Hydroxylgruppe angehört, folgt, daß der Farbstoff monocyclisch ist. Beim Ozon-Abbau liefert Rubixanthin 0.94 Mole Aceton, woraus auf die Anwesenheit einer Isopropylidengruppe zu schließen ist. Die vorliegenden Erfahrungen machen es wahrscheinlich, daß im Rubixanthin ein Hydroxy- $\gamma$ -carotin der folgenden Formel vorliegt.



Die darin ausgedrückte Annahme, daß die Hydroxylgruppe am Kohlenstoffring sitzt, steht mit der Erfahrung in Einklang, daß Rubixanthin auch in Tagesdosen von 20  $\gamma$  an A-vitamin-frei ernährten Ratten keinerlei Wachstums-Wirkung zeigt. Wäre die Hydroxylgruppe in der offenen Hälften des Moleküls und der Kohlenstoffring unsubstituiert, so wäre wie bei  $\gamma$ -Carotin die Bildung von Vitamin A möglich und Wachstums-Wirkung zu erwarten.

Obwohl die vorgeschlagene Formel ein asymm. Kohlenstoffatom aufweist, läßt Rubixanthin kein Drehungsvermögen erkennen:  $[\alpha]_D = \pm 10^6$  (Benzol). Dieselbe Erscheinung war bereits beim Krypto-xanthin sehr auffallend.

Ein mit Rubixanthin anscheinend identisches Xanthophyll ist zuerst von Hrn. A. Winterstein in den Blüten von Calendula officinalis neben anderen Carotinoiden beobachtet worden. Die Charakterisierung erfolgte durch chromatographische Analyse, durch die Verteilungs-Probe und durch die Lage der Absorptionsbanden. Die Gewinnung des krystallisierten Farbstoffs steht in diesem Falle noch aus.

### Beschreibung der Versuche.

#### Die Farbstoffe der Hagebutten.

Die quantitative Analyse verschiedener Hagebutten-Arten nach R. Kuhn und H. Brockmann<sup>5)</sup> ergab das Fehlen von freien Xanthophyllen<sup>6)</sup>. Ob auch das Rubixanthin in veresterter Form vorliegt, was wir für wahrscheinlich halten, lässt sich auf Grund des Analysen-Ganges nicht entscheiden, da sich das freie Rubixanthin bei der Entmischung wie die Ester der sauerstoff-reicherem Xanthophylle verhält. In bedeutender Menge sind Xanthophyll-ester vorhanden. Die chromatographische Analyse nach erfolgter Verseifung ergab die Anwesenheit von Zea-xanthin, Lutein und Taraxanthin. Die HCl-Reaktion fiel negativ aus, woraus auf die Abwesenheit von Flavo-xanthin, Viola-xanthin und „β-Xanthophyll“ zu schließen ist. Ganz überwiegend ist die Fraktion der Kohlenwasserstoffe, in die auch das Rubixanthin eingehet. Die Trennung der Carotin von Lycopin und Rubixanthin erfolgte chromatographisch an Aluminiunoxyd. Die Carotin-Fraktion bestand aus β-Carotin, dem etwas γ-Carotin beigemengt war.

In der folgenden Tabelle ist der Farbstoff-Gehalt (mg) in 100 g frischen Hagebutten angegeben<sup>7)</sup>. Der auffallendste Unterschied zwischen Rosa canina und Rosa rubinosa liegt im Gehalt an Lycopin. Die dunklere Farbe der Früchte von Rosa rubinosa hängt wohl damit zusammen. In Rosa damascena findet sich Rubixanthin neben den anderen Carotinoiden in ähnlichem Mengen-Verhältnis wie in Rosa canina. Dasselbe gilt für die Früchte der wildwachsenden Reinrose, die der eine von uns (Chr. Grundmann) in Norwegen gesammelt hat.

	Rosa canina		Rosa rubinosa	
	mg	%	mg	%
Xanthophyll-ester . . . .	3.1	36	2.35	27
Carotine . . . . .	2.55	29	2.3	27
Lycopin . . . . .	1.6	19	2.75	32
Rubixanthin . . . . .	1.35	16	1.25	14

Die colorimetrische Bestimmung des Rubixanthins, für das noch kein Standard vorliegt, erfolgte gleichzeitig gegen den β-Carotin-Standard und den Lycopin-Standard (Lösungen von Azobenzol in Alkohol). Die erhaltenen Werte differierten wie 1:2, in obiger Tabelle sind die Mittelwerte angeführt. Da die ersten Absorptionsbanden des Rubixanthins genau in der Mitte zwischen denjenigen von Lycopin und β-Carotin liegen, erscheint diese Art der Berechnung hinreichend zuverlässig.

Von wasser-löslichen Farbstoffen findet sich im methylalkohol. Extrakt der Hagebutten ein Flavin (Vitamin B<sub>2</sub>)<sup>8)</sup>. Nach erschöpfender Extraktion mit Methanol und mit Benzin enthalten die Schalen noch geringe Mengen eines roten Farbstoffes, der sich mit Wasser in Lösung bringen lässt.

<sup>5)</sup> Ztschr. physiol. Chem. **206**, 41 [1933].

<sup>6)</sup> In grünen Hagebutten finden sich freie Xanthophylle wie auch in anderen grünen Früchten, z. B. in grünen Physalis-Früchten (R. Kuhn u. H. Brockmann, a. a. O.) und in grünen Tomaten (R. Kuhn u. Chr. Grundmann, B. **65**, 1880 [1932]).

<sup>7)</sup> Für das Trockengewicht fanden wir bei Rosa rubinosa 24%.

<sup>8)</sup> Unveröffentlichte Versuche von Hrn. H. Kalschmitt.

### Isolierung des Rubixanthins.

27 kg frische, vollreife Hagebutten (*Rosa rubinosa*)<sup>9)</sup> wurden mit Methanol übergossen und möglichst gut zerquetscht. Nach 3-tägigem Stehen wurde so weit wie möglich abgenutscht (7.5 l) und der Rückstand in der hydraulischen Presse (120 Atm.) ausgepreßt (weitere 11 l). Die braunroten, sauren Methanol-Lösungen geben auch nach starkem Verdünnen mit Wasser an Benzin keinen Farbstoff ab. Beim Versetzen mit Alkali schlägt die Farbe nach schmutzig grün um. Der Preßrückstand wurde von Hand zerkleinert, bei 37° an der Luft getrocknet, was 2½ Tage in Anspruch nahm und darauf in der Kugelmühle gemahlen. Die Dauer des Mahlens wurde so bemessen, daß die Fruchthäute fein pulverisiert wurden, aber die viel widerstandsfähigeren Kerne in der Hauptsache erhalten blieben<sup>10)</sup>. Das von den Kernen (4.2 kg) abgesiebte Fruchtmehl wog 2.1 kg.

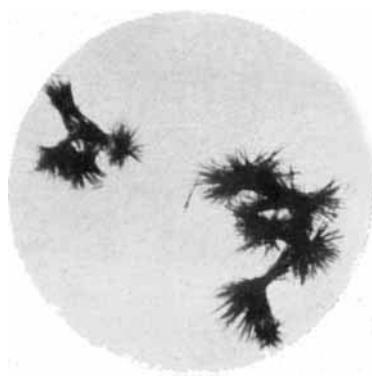
Zur Extraktion der Carotin-Farbstoffe wurde ein Gemisch von 600 ccm absol. Alkohol, 1100 ccm Benzol p. a. und 4500 ccm Benzin (Sdp. 70–80°) verwendet. Nach kurzem Schütteln (1 Stde.) ließen wir 2–3 Tage stehen, saugten ab und engten die tiefrote Lösung im Vakuum auf 150 ccm ein<sup>11)</sup>. Von den dabei ausfallenden braunen Schnüren wurde abgegossen und mit dem gleichen Volumen 5-proz. äthylalkohol. Kalilauge versetzt. Wir erwärmen zur Verseifung zunächst 2 Stdn. auf 40° und ließen dann noch über Nacht stehen. Wir entmischten durch Zugabe von Wasser und trennten die in der Grenzschicht ausfallenden farblosen, wachs-artigen Substanzen ab. Diese waren von einer kleinen Menge dunkelroter Krystallchen durchsetzt, die sich als Lycopin erwiesen. Die gereinigte Farbstoff-Lösung verdünnten wir mit Benzol-Benzin (1:4) auf 1 l und saugten sie durch eine Säule von Aluminiumoxyd (Höhe: 20 cm, Durchmesser: 6 cm). Zur Entwicklung des Chromatogramms diente Benzol-Benzin (1:4). Die oberste 1. Zone war gelbbraun, die 2. Zone braunrot (Rubixanthin: Absorptionsbanden bei 495 und 461 mμ in Benzin), die 3. Zone purpurrot (Lycopin: 505 und 474 mμ), die 4. Zone orangerot (γ-Carotin: 495 und 461 mμ), in das Filtrat ging β-Carotin (484 und 452 mμ). Die 2. Zone wurde eluiert und das darin enthaltene Xanthophyll neuerdings im Rohr an Aluminiumoxyd adsorbiert, wobei noch Farbstoffe der Zone 1 und 3 (Lycopin) abgetrennt werden konnten. Die Hauptzone eluierten wir mit alkohol-haltigem Benzin und verdampften die Elution zur Trockne. Der Rückstand wurde in 10 ccm heißem Benzol aufgenommen und die filtrierte Lösung mit 50 ccm Petroläther (Sdp. 30–50°) versetzt. In der Kälte krystallisierten 420 mg roher Farbstoff aus, der mit etwas kaltem Petroläther und Methanol gewaschen wurde.

Das Rohprodukt mußte einer Nach-verseifung unterzogen werden. Wir lösten es in 10 ccm warmem Benzol, gaben 50 ccm 10-proz. äthyl-

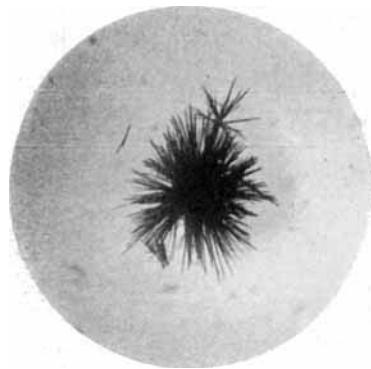
<sup>9)</sup> Geerntet im September 1933 im Garten des Krematoriums Brandenburg. Für die freundliche Beschaffung sind wir Hrn. Rektor E. Buhtz zu besonderem Danke verpflichtet.

<sup>10)</sup> Wird alles fein gemahlen, so gehen bei der folgenden Extraktion aus den Kernen bedeutende Mengen farbloser Stoffe in Lösung, welche die an sich schwierige Isolierung des Rubixanthins fast unmöglich machen.

<sup>11)</sup> Dieser erste Extrakt enthält fast alles Rubixanthin neben Lycopin und Carotinen. Die in der beschriebenen Weise ausgeführte Wiederholung der Extraktion lieferte in der Hauptsache nur noch Lycopin neben etwas Carotinen.



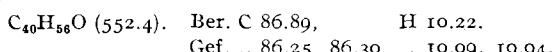
Abbild. 1. Rubixanthin aus Benzol-Methanol, 30 $\times$ .



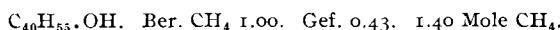
Abbild. 2. Rubixanthin aus Benzol-Methanol, 50 $\times$ .

alkohol. Kalilauge zu und erwärmten 4 Stdn. auf 40°. Dann wurde mit 100 ccm Benzin verdünnt, mit 5 ccm Wasser entmischt und die untere Schicht, die nur wenig Farbstoff enthielt, abgelassen. Die obere, tiefrote Schicht wurde mit 50 ccm 90-proz. Methanol durchgeschüttelt und 3-mal mit Wasser gewaschen, wobei an der Grenzschicht fast farblose Sterine ausfielen. Die Benzin-Lösung wurde im Vakuum verdampft, in 7 ccm Benzol heiß gelöst, filtriert und mit dem gleichen Volumen Methanol versetzt. Nach 1-stdg. Stehen bei -5° hatten sich in bedeutender Menge farblose Begleitstoffe abgeschieden. Sie wurden abgesaugt und konnten aus Benzol-Petroläther schön krystallisiert erhalten werden. Das Filtrat versetzten wir mit 30 ccm Methanol und ließen über Nacht bei -12° stehen. Dabei krystallisierte das Rubixanthin in dunkelroten, schwach glänzenden Blättchen und breiten Nadeln neben farblosen, sterin-ähnlichen Verbindungen aus. Diese ließen sich zum großen Teil durch längeres Waschen mit kaltem Petroläther auf der Nutsche entfernen. Der erhaltene Farbstoff (115 mg, Schmp. 158°) wurde aus Benzol-Methanol (1:3) umkrystallisiert und mit Petroläther gewaschen, wobei die Ausbeute auf 77 mg zurückging. Nun wurde mit 3 ccm Methanol ausgekocht, nochmals aus Benzol-Methanol (1:3) umkrystallisiert (51 mg). Zuletzt wurde mit Methanol ausgekocht, aus Benzol-Methanol (1:4) umkrystallisiert und im Hochvakuum bei 15-20° getrocknet. Wir erhielten 36 mg Rubixanthin vom Schmp. 160°.

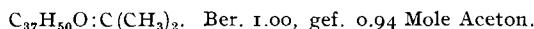
3.804 mg Sbst.: 12.03 mg CO<sub>2</sub>, 3.43 mg H<sub>2</sub>O. — 3.631 mg Sbst.: 11.49 mg CO<sub>2</sub>, 3.255 mg H<sub>2</sub>O.



Bestimmung der aktiven H-Atome<sup>12)</sup>: 9.800 mg Sbst.: 0.17 ccm CH<sub>4</sub> (20°), 0.56 ccm CH<sub>4</sub> (95°).



Bestimmung der Isopropylidengruppen<sup>13)</sup>: 10.33 mg Sbst.: 2.10 ccm  $n_{20}$ -Jodlösg.



Bestimmung der Doppelbindungs-Zahl<sup>14)</sup>: 1.152 mg Sbst. gegen 1.320 mg Sorbinsäure in Eisessig-Dekalin: Gef. 11.95 (2 Stdn.), 12.00 (5 Stdn.).

Bestimmung des Drehungsvermögens:

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = (\pm 0.01^0 \times 100) : (0.05 \times 2) = \pm 10^0 \text{ (Benzol).}$$

Mit Antimontrichlorid in Chloroform gab Rubixanthin eine recht beständige, grünstichig blaue Lösung, die eine breite Absorptionsbande (595-535 mμ) und Endabsorption im Rot (ab 630 mμ) zeigte.

Lycopin: Die Lycopin-Zone des Chromatogramms wurde mit alkoholhaltigem Benzol eluiert und der Farbstoff mehrmals aus Benzol-Methanol (1:1) krystallisiert. Wir erhielten 600 mg Lycopin, das nach mehrmaligem Umkrystallisieren bei 174° (Berl. korrig.) schmolz.

Hentriakontan: Die tiefroten Filtrate der Chromatogramme ließen bei mehrtätigigem Stehen im Eisschrank 1240 mg große, glänzende, farblose

<sup>12)</sup> Nach H. Roth, Mikrochemie **11**, 140 [1932].

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

<sup>14)</sup> Nach R. Kuhn u. E. F. Möller, Ztschr. angew. Chem. (im Druck).

Blättchen ausfallen, die bei 64.5° schmolzen. Der Misch-Schmp. mit Hentriakontan aus Tomaten lag bei 64°.

3.595 mg Sbst.: 11.245 mg CO<sub>2</sub>, 4.72 mg H<sub>2</sub>O. — 3.408 mg Sbst.: 10.66 mg CO<sub>2</sub>, 4.47 mg H<sub>2</sub>O.

C<sub>31</sub>H<sub>64</sub>. Ber. C 85.22, H 14.78.  
Gef., 85.31, 85.31, 14.69, 14.70.

$\beta$ -Carotin: Das Filtrat des Hentriakontans ließ beim Einengen noch weiteres farbloses Paraffin ausfallen. Um dieses völlig zu entfernen, wurde aus reinem Benzin an hochaktivem Aluminiumoxyd adsorbiert und das Chromatogramm mit demselben Lösungsmittel entwickelt. Dadurch ließen sich geringe Mengen Lycopin und  $\gamma$ -Carotin abtrennen. Die 3. Zone enthielt das  $\beta$ -Carotin. Nach Krystallisation aus Benzol-Alkohol (1:2) lagen 50 mg vom Schmp. 184° (Berl., korrig.) vor.

Zusammenfassend ist über die Isolierung der Hagebutten-Farbstoffe zu sagen, daß die chromatographische Trennung der einzelnen Carotinoide keine Schwierigkeiten bot, daß aber die Abtrennung gewisser farbloser Begleitstoffe auf diesem Wege nicht möglich war, wodurch die Reindarstellung erschwert ist.

Der Deutschen Forschungs-Gemeinschaft sind wir für die Überlassung von Apparaten, der Justus-Liebig-Gesellschaft für die Gewährung eines Stipendiuns zu aufrichtigem Dank verpflichtet.

### 69. Richard Kuhn und Alfred Winterstein: Über die Konstitution des Pikro-crocins und seine Beziehung zu den Carotin-Farbstoffen des Safrans.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für medizin. Forschung Heidelberg, Institut für Chemie.]  
(Eingegangen am 15. Januar 1934.)

Der Bitterstoff des Safrans ist von R. Kayser<sup>1)</sup> in rohem Zustand isoliert worden. Er erkannte ihn als Glucosid und gab ihm den Namen Pikro-crocin. R. Kayser stellte bereits fest, daß nicht nur durch Säuren, sondern auch durch Alkalien Zucker (Crocose) abgespalten wird, und daß dabei ein ätherisches Öl auftritt.

E. Winterstein und I. Teleczky<sup>2)</sup> haben zuerst das Pikro-crocin in großen, fast farblosen Krystallen vom Schmp. 154° erhalten. Für das bei der Spaltung auftretende ätherische Öl, das durch ein schön krystallisierendes Semicarbazon gekennzeichnet würde, haben sie die Zusammensetzung C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O festgelegt und angenommen, daß ein Keton vorliegt.

Auf welche Art kann sich von einer Carbonylverbindung C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O ein Glucosid ableiten? Man konnte vermuten, daß das Glucosid einer Enol-Form vorliegt, aber es war nicht zu erwarten, auf diese Weise die Hydrolysebarkeit durch Alkalien verständlich zu machen. Einleuchtender erschien die Vorstellung, daß der Zucker ester-artig, etwa mit einer  $\beta$ -Keto-carbonsäure, verknüpft ist. Dann wären die Spaltbarkeit durch Alkalien und die Bildung eines Ketons gut verständlich, aber die Hydrolyse dürfte nicht einfach unter Aufnahme von Wasser verlaufen, sondern es müßte

<sup>1)</sup> B. 17, 2228 [1884].

<sup>2)</sup> Helv. chim. Acta 5, 376 [1922]; Ztschr. physiol. Chem. 120, 141 [1922].