

ausgeäthert (Äther-Rückstand  $A_1$ ), dann nach dem Ansäuern die sauren Bestandteile isoliert (Äther-Rückstand  $B_1$ ).

a) Rückstand  $A_1$  (4.8 g) wurde aus Ligroin (Sdp. 50–70°) umkrystallisiert. 1. Krystallisat: 1.7 g nahezu weiß, Schmp. 198–204°. Das 2. und 3. Krystallisat (2 bzw. 0.5 g) waren noch schwach gelb. Krystallisat 1 wurde in das Semicarbazon übergeführt, mit dessen Untersuchung wir augenblicklich beschäftigt sind. Es ist schwer bzw. unlöslich in Wasser, Alkohol und Essigester. Krystallisat 3 ergab ein Dinitro-benzoat, das wieder nicht krystallisieren wollte und dessen  $\alpha$ -Naphthylamin-Additionsverbindung nach 1-maligem Umkrystallisieren den Schmp. 196.5–200° zeigte. Es ist also mit dem Dinitro-benzoat aus Versuch I identisch.

b) Der klebrige Rückstand  $B_1$ , der also neben der Säure  $C_{10}H_{14}O_3$  unter Umständen auch Camphersäure und Camphansäure enthalten kann, wurde auf Ton gepreßt und erstarrte im Eisschrank allmählich: etwa 1 g.

---

#### 114. Richard Kuhn und Christoph Grundmann: Krypto-xanthin aus gelbem Mais (Über das Vitamin des Wachstums, VI. Mitteil.).

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für medizin. Forschung, Heidelberg, Institut für Chemie.]  
(Eingegangen am 17. Februar 1934.)

Der auffallende Unterschied der Wachstums-Wirkung von gelbem und weißem Mais an A-vitamin-frei ernährten Ratten hat schon frühzeitig Beziehungen zum Carotinoid-Gehalt nahe gelegt<sup>1)</sup>. Diese Beziehungen gewannen bestimmtere Gestalt als H. v. Euler<sup>2)</sup> die Wachstums-Wirkung des Carotins,  $C_{40}H_{56}$ , kennen lehrte. Aus gelbem Mais ist bisher nur das Zea-xanthin,  $C_{40}H_{56}O_2$ , isoliert worden, dessen Auffindung P. Karrer<sup>3)</sup> zu verdanken ist. Reines Zea-xanthin ist an A-vitamin-frei ernährten Ratten vollkommen wirkungslos<sup>4)</sup>. Man konnte danach geneigt sein, einen Gehalt an Carotinen für die Wachstums-Wirkung von gelbem Mais verantwortlich zu machen. Diese naheliegende Vermutung trifft, wie wir gefunden haben, nicht zu. Durch quantitative Analysen verschiedener Sorten von frischem Mais haben wir festgestellt, daß darin nur Spuren oder sehr geringe Mengen von Carotinen, dafür bedeutende Mengen Krypto-xanthin vorkommen, das in den charakteristischen Krystallen vom Schmp. 169° isoliert wurde. Das Krypto-xanthin haben wir zuerst aus den Kelchen von *Physalis* in reinem Zustande gewonnen und als Xanthophyll der Formel  $C_{40}H_{56}O$  gekennzeichnet<sup>5)</sup>. Es bewirkte an A-vitamin-freien Ratten in Gaben von 5–10  $\gamma$  je Tag etwa gleiches Wachstum wie  $\beta$ -Carotin in Gaben von 2.5  $\gamma$ . Aus der folgenden Tabelle, die den Farbstoff-Gehalt in je 10 g frischem Mais verzeichnet, geht hervor, daß der Carotin-Gehalt für die Wachstums-Wirkung ohne erhebliche Bedeutung ist.

1) H. Steenbock u. P. W. Boutwell, Journ. biol. Chem. **41**, 81 [1920].

2) B. v. Euler, H. v. Euler, H. Hellström, Biochem. Ztschr. **203**, 370 [1928].

3) P. Karrer, H. Salomon, H. Wehrli, Helv. chim. Acta **12**, 790 [1929].

4) R. Kuhn u. H. Brockmann, Ztschr. physiol. Chem. **221**, 129 [1933].

5) R. Kuhn u. Chr. Grundmann, B. **66**, 1746 [1933].

	Carotine	Krypto-xanthin	Zea-xanthin
Italienischer Mais .....	0.007 mg	0.046 mg	0.127 mg
Ungarischer Mais I .....	< 0.005 mg	0.046 mg	0.145 mg
Ungarischer Mais II .....	< 0.005 mg	0.070 mg	0.138 mg
Mais-Gries .....	< 0.005 mg	0.025 mg	0.054 mg

Es folgt, daß eine vorwiegend von gelbem Mais lebende Bevölkerung ihren Bedarf an A-Vitamin zur Hauptsache aus Krypto-xanthin deckt und Carotine nur als Bestandteil anderweitiger Nahrungsmittel in Betracht kommen. An A-vitamin-frei ernährten Ratten läßt sich das Auftreten von A-Vitamin in der Leber nach Fütterung von Krypto-xanthin leicht feststellen.

Seit der Entdeckung des Krypto-xanthins in *Physalis* sind bereits verschiedene Beobachtungen mitgeteilt worden, die für eine weite Verbreitung des neuen Xanthophylls in der Natur sprechen. P. Karrer<sup>6)</sup> hat nachgewiesen, daß ein unter dem Namen Carica-xanthin<sup>7)</sup> beschriebenes Xanthophyll aus den Früchten von *Carica papaya*, welches die Formel  $C_{40}H_{56}O_2$  besitzen sollte, nach genügender Reinigung die von uns für Krypto-xanthin  $C_{40}H_{56}O$  angegebenen Konstanten zeigt. L. Zechmeister hat das Vorkommen von Krypto-xanthin in den Blütenblättern der Sonnenblume<sup>8)</sup> und nach einer freundlichen Privatmitteilung auch in den reifen Paprika-Früchten beobachtet. Die Isolierung von Krypto-xanthin aus gelbem Mais ist im Hinblick auf die biologische Wirksamkeit dieses Xanthophylls besonders bemerkenswert.

H. v. Euler, V. Demole, P. Karrer und O. Walker<sup>9)</sup> haben angegeben, daß die Wachstums-Wirkung von gelbem Mais dem „Carotin-Gehalt“ parallel geht. Die im Tierversuch eben noch wirksame „Carotin“-Menge (0.038 mg) wurde von ihnen etwa doppelt so hoch gefunden<sup>10)</sup> als bei Carotin-Lösungen aus Brennesseln, Spinat, Gras, Buchenlaub u. a. (0.011 — 0.022 mg), was mit der von uns festgestellten Wirksamkeit des Krypto-xanthins gut übereinstimmt. Auch das angegebene Mengen-Verhältnis von „Carotin“ zu Zea-xanthin steht der Größen-Ordnung nach mit unseren Analysen in Einklang. Es besteht danach kein Zweifel, daß die genannten Autoren in ihren „Carotin“-Fraktionen aus Mais im wesentlichen Krypto-xanthin in Händen hatten. Sehr wahrscheinlich ist auch die an rohem *Physalien* beobachtete Wachstums-Wirkung<sup>11)</sup> auf einen Gehalt an Krypto-xanthin zurückzuführen.

### Beschreibung der Versuche.

Zur quantitativen Bestimmung der Farbstoffe wurden die Maiskörner zunächst zu grobem Gries vermahlen, dann wiederholt durch eine Schrotmühle getrieben und zuletzt durch ein sehr engmaschiges Sieb (Nr. 5, DAB 6) gebeutelt. Zur Extraktion des staub-feinen Mehls schüttelten wir 2—3-mal abwechselnd mit Alkohol und mit Benzin. Aus den vereinigten

<sup>6)</sup> P. Karrer u. W. Schlientz, *Helv. chim. Acta* **17**, 55 [1934].

<sup>7)</sup> R. Yamamoto u. S. Tin, *Scient. Papers Inst. phys. chem. Res.* **20**, Nr. 411 bis 413 [1933]; *C.* **1933**, I 3090.

<sup>8)</sup> L. Zechmeister u. P. Tuzson, *B.* **67**, 170 [1934].

<sup>9)</sup> *Helv. chim. Acta* **13**, 1078 [1930]. <sup>10)</sup> A. a. O., Tabelle III, S. 1081.

<sup>11)</sup> H. v. Euler, V. Demole, P. Karrer u. O. Walker, *Helv. chim. Acta* **13**, 1078 [1930].

Auszügen ließen sich durch Verdünnen mit Wasser alle Carotin-Farbstoffe in das Benzin treiben. Die Benzin-Lösungen gaben an 90-proz. Methanol das Zea-xanthin ab, das sich bei spektroskopischer und chromatographischer Prüfung als einheitlich erwies. Die „Kohlenwasserstoff-Fraktion“, die auch das Krypto-xanthin enthält, wurde mit 5-proz. alkohol. Kalilauge 4 Stdn. bei 35° verseift. Bei neuerlicher Entmischung ging kein Farbstoff in 90-proz. Methanol, woraus die Abwesenheit von Estern des Zea-xanthins folgt. Die gereinigten Benzin-Lösungen dienten zur chromatographischen Analyse an aktiviertem Aluminiumoxyd. Entwickelt wurde mit Benzol:Benzin 1:1. Dabei ging eine geringe rote Zone (Carotin) in das Filtrat, während das Krypto-xanthin als allmählich breiter werdende, stark haftende, orange-farbige Zone nur langsam abwärts wanderte. Die colorimetrische Bestimmung der Elutionen erfolgte gegen Azobenzol nach R. Kuhn u. H. Brockmann<sup>12)</sup>.

Die Isolierung der Farbstoffe in krystallisiertem Zustande gelingt aus den Elutionen der Chromatogramme schon mit verhältnismäßig geringen Mengen Ausgangsmaterial. Wir konnten z. B. aus 700 g italienischem Mais 10 mg Zea-xanthin vom Schmp. 206° (Absorptionsbanden in Benzin: 485, 453 m $\mu$ ) und 1 mg Krypto-xanthin vom Schmp. 168° (Absorptionsbanden: 485, 453 m $\mu$ ) darstellen. Beide Farbstoffe waren chromatographisch einheitlich. Krypto-xanthin aus Mais wurde mit der 10-fachen Menge  $\beta$ -Carotin gemischt und ließ sich im Chromatogramm wieder quantitativ davon trennen. Eine andere Probe wurde mit der gleichen Menge Krypto-xanthin aus *Physalis* gemischt. In diesem Falle war weder durch Anwendung verschiedener Lösungsmittel, noch durch Änderung des Adsorbens eine chromatographische Differenzierung zu erzielen.

Die Speicherung von A-Vitamin in der Leber nach Fütterung von Krypto-xanthin wurde an A-vitamin-frei ernährten Ratten festgestellt, die längere Gewichtskonstanz durchgemacht hatten und nach der Analyse von Kontrolltieren keine nennenswerten Mengen A-Vitamin in der Leber enthielten.

Die Bestimmungen des A-Vitamin-Gehaltes erfolgten mit Antimontrichlorid nach H. Brockmann und M. L. Tecklenburg<sup>13)</sup>.

Beispiele: 1) Gewicht der Ratte zu Versuchs-Beginn: 120 g; 1 mg Krypto-xanthin pro Tag; Gewichtszunahme in 20 Tagen: 28 g; Gewicht der Leber: 7.3 g. Gef.: 330 Lovibond-Einheiten. — 2) Anfangsgewicht: 121 g; 1 mg Krypto-xanthin pro Tag; Gewichtszunahme in 17 Tagen: 10 g; Gewicht der Leber: 7.4 g. Gef.: 300 Lovibond-Einheiten.

Die blauen Lösungen zeigten scharfe Absorptionsbanden bei 620 m $\mu$  in Übereinstimmung mit denjenigen, die nach Fütterung von  $\beta$ -Carotin erhalten werden. Unverändertes Krypto-xanthin war in den Lebern nur spurenweise vorhanden. Nach diesen Versuchen vermag die Ratte aus Krypto-xanthin A-Vitamin zu bilden.

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

<sup>12)</sup> Ztschr. physiol. Chem. **206**, 41 [1932].

<sup>13)</sup> Ztschr. physiol. Chem. **221**, 117 [1933].