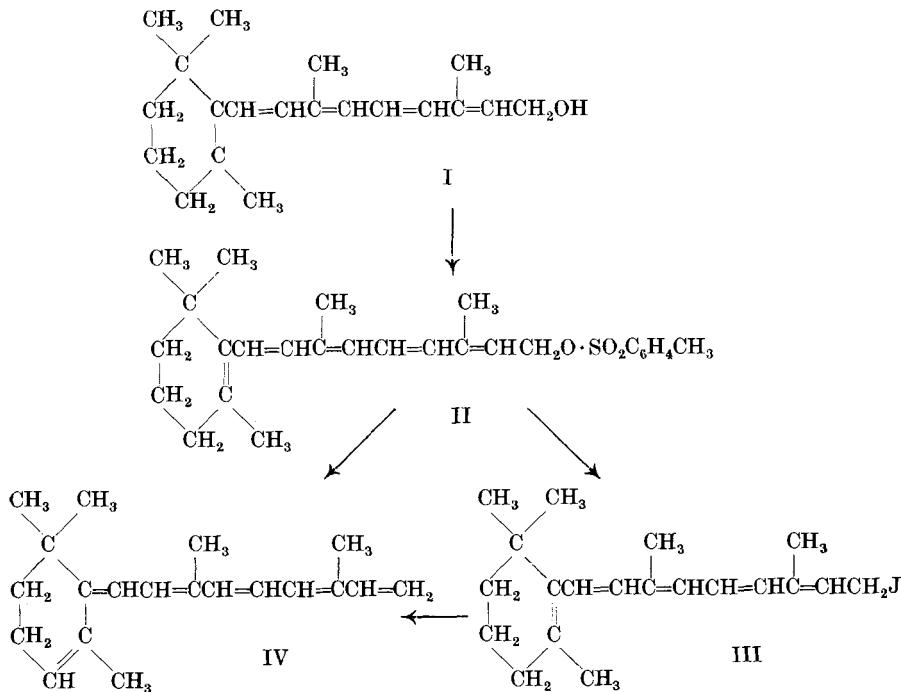


142. Überführung von Vitamin A in Anhydrovitamin A und ein Carotinoid, wahrscheinlich identisch mit β -Carotin

von P. Karrer und R. Schwyzer.

(21. IV. 48.)

Der vorliegenden Untersuchung lag die Absicht zu Grunde, aus Vitamin A (I) durch Ersatz der Hydroxylgruppe durch Jod das Jodid III herzustellen, um dieses für Synthesen zu verwenden. Zu diesem Zweck setzten wir eine Lösung von krystallisiertem Vitamin A in Toluol mit Kalium-tert.-amylalkoholat $KOC(CH_3)_3C_2H_5$ um, wobei sich das Kaliumsalz des Vitamins A bildet, und liessen darauf p-Toluolsulfochlorid bei Zimmertemperatur einwirken. Der erwartete p-Toluolsulfonsäureester des Vitamins A (II) lies sich indessen nicht rein fassen, da er z. T. eine weitere, gleich zu besprechende Veränderung erfährt. Den rohen, uneinheitlichen Ester haben wir hierauf in Aceton gelöst und mit einer Lösung von NaJ in Aceton versetzt. Dabei schied sich im Verlauf einiger Stunden eine kleine Menge von krystallisiertem p-toluolsulfonsaurem Natrium aus, woraus hervorgeht, dass sich der Umsatz II \rightarrow III in dem Umfang vollzogen hatte, in dem noch Vitamin A-toluolsulfonsäureester vorhanden war.



Das Reaktionsprodukt war indessen nicht das Jodid III, sondern als Hauptprodukt wurde Anhydrovitamin A (IV) erhalten, welches seine Entstehung der Abspaltung von HJ aus dem Jodid III verdankt. Die Ausbeute an rohem Anhydrovitamin A war eine sehr gute (ca. 80—90%); dies zeigt, dass seine Bildung nicht nur eine Folge der Abspaltung von Jodwasserstoff aus dem Jodid III ist, sondern in wesentlichem Umfang durch die Abspaltung von p-Toluolsulfonsäure aus II bedingt wird. Dies ist leicht verständlich, da Toluolsulfonsäureester in ihren Reaktionen den Halogenalkylen ähnlich sind.

Bei dieser neuen Darstellungsmethode von Anhydrovitamin A aus Vitamin A werden, im Gegensatz zu den bisher bekannten Verfahren, saure Mittel zur Anhydrisierung vermieden. Da Anhydrovitamin A, wie alle Polyene, gegen Säuren sehr empfindlich ist, liegt in der neuen Darstellungsweise ein Vorteil. Das erhaltene Anhydrovitamin A war dementsprechend schon nach einer einzigen chromatographischen Trennung sehr rein und liess sich aus Pentan bei -80° leicht krystallisieren. Schmelzpunkt der gelben Krystalle 75° .

Neben dem Anhydrovitamin A bildeten sich bei den besprochenen Reaktionen kleine Mengen rotgelber Pigmente, die sich vom Anhydrovitamin A chromatographisch leicht trennen liessen und die nach allen Eigenschaften (Farbe, Carr-Price-Reaktion, adsorptives Verhalten) Carotinoide sind. In der Chromatogrammröhre werden sie oben zurückgehalten. Durch wiederholte chromatographische Trennung an Calciumhydroxyd (Lösungsmittel Petroläther) ist es gelungen, eine Fraktion zu erhalten, welche bei der spektroskopischen Untersuchung in grosser Schärfe die Banden des β -Carotins aufwies.

In Petroläther	Absorp. Max. 483	452 m μ
In Schwefelkohlenstoff	Absorp. Max. 521	486 m μ

Die blaue Lösung, welche β -Carotin mit dem Carr-Price-Reagens gibt, lässt im Absorptionsspektrum eine Bande mit Max. $570\text{ m}\mu$ erkennen¹⁾. Auch in dieser Hinsicht verhielt sich unsere β -Carotinfaktion aus Vitamin A gleich. Die spektrophotometrische Aufnahme des Absorptionsspektrums des Präparates in Hexan ergab ebenfalls die charakteristischen Maxima 482, 453, 432 m μ für β -Carotin; aus der Extinktion liess sich berechnen, dass das Präparat ca. 4% β -Carotin enthielt. Die Begleitsubstanzen bewirken, dass das Präparat im kurzwelligen Bereich totale Absorption aufweist (vgl. Fig. 1).

Herr Prof. H. v. Euler (Stockholm) hatte die Freundlichkeit, dieses synthetische Carotinoidpräparat auf Vitamin A-Wirkung zu prüfen, wofür wir zu bestem Dank verpflichtet sind. Es erwies sich in 200 γ -Dosen (pro Tag) Vitamin A-wirksam. Da der spektrophotometrisch bestimmte β -Carotingehalt des Präparates etwa 4% betrug, würden die 200 γ ca. 8 γ β -Carotin enthalten können. Dies ist die un-

¹⁾ H. v. Euler, E. Klussmann, P. Karrer und R. Morf, Helv. 15, 502 (1932).

gefährliche Tagesdosis, in welcher β -Carotin an der Ratte Vitamin A-wirksam ist.

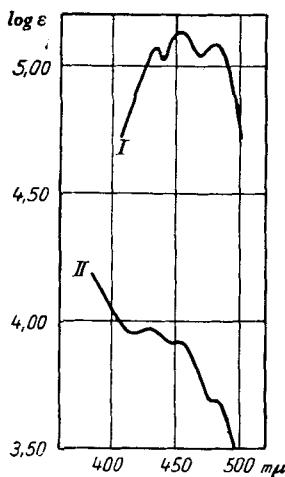


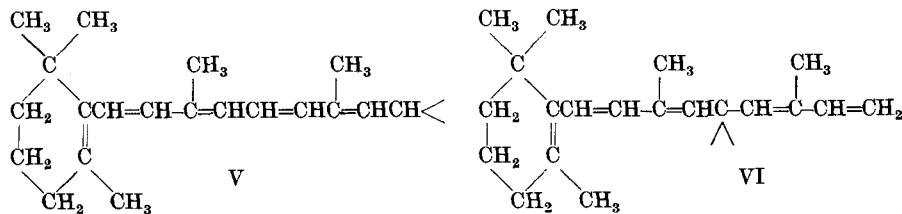
Fig. 1.
 β -Carotin.

- I. Natürliches, krystallisiertes β -Carotin: Maxima bei 435 (5,08), 453 (5,14), 482 (5,08).
II. β -Carotin aus Vitamin A, 2 mal an $\text{Ca}(\text{OH})_2$ chromatographiert: Maxima bei 432 (3,97), 453 (3,92), 482 (3,89).

Logarithmus der Differenz der molaren Extinktionen der Bande 482: ca. 1,4; das Präparat aus Vitamin A enthält somit ca. 4% β -Carotin.

Obwohl die geringe Menge der chromatographisch gereinigten Carotinoidfraktion (ca. 30 mg mit 4% β -Carotin), die uns zu Verfügung stand, eine Krystallisation der Verbindung nicht erlaubte, kann nach den geschilderten Eigenschaften dieses Pigmentes u. E. doch kaum ein Zweifel bestehen, dass es sich um β -Carotin handelt. Daneben entstanden andere Farbstoffe von Carotinoidcharakter, die aber keine scharfen Absorptionsbanden aufwiesen.

Die Bildung des β -Carotins und der anderen Carotinoide ist vermutlich so zu erklären, dass sich aus dem Jodid III und wohl auch aus dem p-Toluolsulfoester II durch Abspaltung von HJ bzw. $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{H}$ neben dem Anhydrovitamin A in kleiner Menge Radikale bilden, insbesondere das Radikal V, welches z. T. in mesomere Formen, wie beispielsweise VI, übergehen wird. Durch Zu-



sammentritt zweier Radikale bildet sich das Carotinoid, β -Carotin durch Vereinigung von zwei Radikal en des Typus V.

Da uns durch die vorbeschriebenen Versuche eine grössere Menge von Anhydrovitamin A zur Verfügung stand, haben wir versucht, die Verbindung katalytisch partiell zu reduzieren. Der Katalysator war Palladium-Calciumcarbonat. Die Reduktion wurde bis zur Aufnahme von 1 Mol H_2 geführt. Das Reduktionsprodukt, ein gelbes Öl, unterwarfen wir der chromatographischen Trennung an Aluminiumoxyd. Die am wenigsten haftende Zone des Chromatogramms enthielt zwei Verbindungen: unverändertes Anhydrovitamin A, sowie Axerophthen, d. h. den dem Vitamin A zu Grunde liegenden Kohlenwasserstoff, den wir in der vorhergehenden Abhandlung näher beschrieben. Für die Zusammensetzung der Mischung sprach das Carr-Price-Spektrum, indem die für Anhydrovitamin A charakteristische Bande $623 \text{ m}\mu$ und die dem Axerophthen eigentümliche Bande $577 \text{ m}\mu$ etwa gleich stark auftraten.

Durch nochmalige chromatographische Trennung konnte eine weitere Reinigung erreicht werden: Anhydrovitamin A bildete den oberen Teil der gelben Adsorptionszone (Carr-Price-Spektrum: Absorptionsbande mit Maximum $623 \text{ m}\mu$), Axerophthen den unteren Teil. Das für Axerophthen charakteristische Absorptionsspektrum dieser Fraktion ist durch Fig. 2 dargestellt (Absorptionsmaxima 331 , 346 , $364 \text{ m}\mu$). Die Fraktion enthielt noch ganz geringe Mengen Anhydrovitamin A, was aus einer leichten Störung der Absorptionskurve bei $390 \text{ m}\mu$ (Absorptionsmaximum des Anhydrovitamins A) hervorgeht.

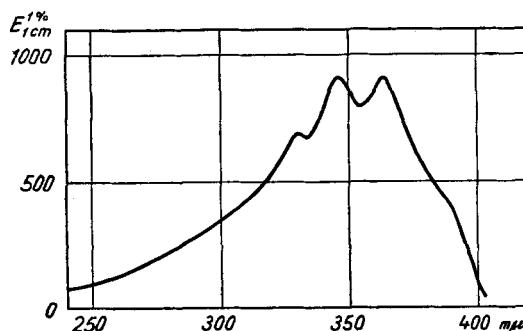


Fig. 2.

Axerophthen aus Anhydro-Vitamin A.

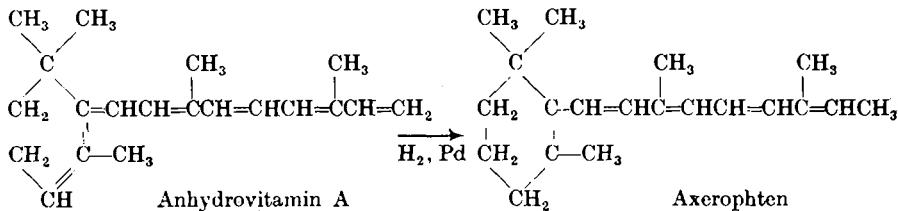
$$c = 4,0 \cdot 10^{-4} \% = 1,47 \cdot 10^{-5} \text{ molar.}$$

Maxima: $331 \text{ m}\mu$, $346 \text{ m}\mu$ ($\lg \epsilon = 4,40$), $364 \text{ m}\mu$.

Die Kurve ist bei ca. $390 \text{ m}\mu$ durch beigemischtes Anhydro-Vitamin A gestört.

Carr-Price Reaktion: scharfe Bande bei $577 \text{ m}\mu$, die Bande des Anhydro-Vitamins A ist nur sehr schwach zu erkennen ($623 \text{ m}\mu$).

Die partielle katalytische Reduktion des Anhydrovitamins A lässt somit, wie wir erwarteten, etwas Axerophthen entstehen:



Experimenteller Teil.

Toluolsulfonsäureester des Vitamins A und Anhydro-Vitamin A.

(Alle in diesem Berichte beschriebenen Operationen wurden in einer Atmosphäre von Stickstoff ausgeführt. Die Lösungen wurden unter Stickstoff, lösungsmittelfreie Substanzen im Hochvakuum eingeschmolzen, bei -15°C aufbewahrt.)

Man löste 140 mg Kalium in 1 cm^3 Amylenhydrat und verdampfte darauf den überschüssigen Alkohol im Vakuum unter Erhitzen des Rückstandes. Die so erhaltenen farblosen Krystalle nahm man in 1 cm^3 Toluol auf und kühlte die Lösung auf -15° . Dazu tropfte man die Lösung von 0,70 g krystallisiertem Vitamin A in 2 cm^3 Toluol. Das Kalium-tertiär-amylat ging dabei in Lösung und es entstand eine tiefrote Farbe. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde tropfte man 650 mg p-Toluolsulfonsäurechlorid in 2 cm^3 Toluol gelöst zu, wobei die Farbe sich stark aufhellte und sofort Kaliumchlorid auszufallen begann. Das Gemisch liess man über Nacht unter Stickstoff bei -10° stehen und erwärmte es am nächsten Morgen während $1\frac{1}{2}$ Stunden auf Zimmertemperatur. Dann verdünnte man es mit peroxydfreiem Äther und wusch die Lösung mit Sodalösung und zuletzt mit Wasser. Die noch Chlor enthaltende Ätherschicht hob man ab und schüttelte sie 3 Stunden lang mit viel festem Kaliumcarbonat. Danach wusch man die Lösung mit Wasser und schüttelte sie gründlich mit einer frisch gefällten Aufschlammung von Silbercarbonat in Wasser, das noch wenig Silbernitrat enthielt, durch. Das in der Ätherschicht vorhandene Silber entfernte man durch Waschen mit verdünntem Ammoniak und Wasser.

Obwohl diese Behandlung des Reaktionsgemisches das Chlor nicht vollständig zu entfernen vermochte, erwies sie sich doch als nützlich, da sie anscheinend Nebenprodukte unterdrückte, die, wie ein Versuch zeigte, die Schärfe der Spektralbanden des nachher erhaltenen β -Carotins beeinträchtigen. Zur vollständigen Entfernung des Chlors verdampfte man die getrocknete Ätherlösung im Vakuum, nahm den Rückstand in Petroläther und Methanol auf und mischte mit zwei Tropfen Ammoniaklösung. Die Petroläterschicht erwies sich nach dieser Behandlung als vollkommen chlorfrei. Man wusch sie noch 2 mal mit Wasser, trocknete sie und verdampfte das Lösungsmittel im Vakuum. Es hinterblieben 800 mg eines Öles, das nach dem Trocknen im Hochvakuum analysiert wurde. Der Schwefelgehalt zeigte, dass etwa 30% des Toluolsulfonsäureesters zugegen sind. Die Hauptmenge des Öles besteht aus Anhydro-Vitamin A. Das Produkt wurde nicht weitergereinigt, sondern für die folgenden Umsetzungen sofort verwendet. Carr-Price-Reaktion blau, $623\text{ m}\mu$: Anhydro-Vitamin A.

Umsatz mit NaJ, Aufarbeitung des β -Carotins.

Das wie oben beschrieben erhaltene Öl (800 mg) löste man in 7 cm^3 trockenem Aceton und trug 300 mg NaJ ein. Die klare Lösung erwärmte man während 45 Minuten auf 60° , wobei sich das Natriumsalz der Toluolsulfonsäure in farblosen, länglichen Blättchen abschied, die nach dem Abfiltrieren und Trocknen 60 mg wogen. Vom Filtrat verdampfte man das Lösungsmittel im Vakuum bei 0° und nahm den Rückstand, der Spuren von elementarem Jod enthielt, in Petroläther auf. In der Lösung war kein organisch

gebundenes Jod nachzuweisen. Man schüttelte sie 2 mal mit ca. 90-proz. Methanol aus, verdampfte den Petroläther und trocknete den Rückstand im Vakuum: 700 mg.

Das erhaltene Öl chromatographierte man aus Petroläther an einer Säule von Calciumhydroxyd (Höhe 11 cm, Durchmesser 2,5 cm).

1. Gelber Durchlauf, β -Carotin enthaltend	{	in Petroläther scharfe Banden bei
2. zu unterst gelb-rote Schicht		485 und 451 $m\mu$
3. orange-rote Zone		in Petroläther Banden bei 486—488
4. breite, rötliche Zwischenzone		und bei 452 $m\mu$
5. roter Ring, oben		keine sichtbaren Banden
6. zu oberst, gelbbraune Schicht		" " "

Zonen 1 und 2 wurden nochmals chromatographiert, wobei die Carotinoide oben in der Säule haften blieben, das Anhydro-Vitamin A (500 mg) dagegen durchgewaschen wurde. Die Carotinzone dieses Chromatogramms haben wir eluiert und zusammen mit den Eluaten der Zonen 3 und 4 des ersten Chromatogramms (zusammen 30 mg Substanz) nochmals adsorbiert (Petroläther, $\text{Ca}(\text{OH})_2$; Höhe der Säule 10 cm, Durchmesser 1,5 cm)

1. oberste braungelbe Zone . . .	—
2. roter Ring	—
3. Zwischenschicht	verwaschene Carotin-Banden
4. rot-oranger Ring (0,5 cm) . .	scharfe Banden bei 451 und 484 $m\mu$, P. Ae., 7,5 mg Substanz
5. gelbroter Ring (schmal) . . .	—
6. rötlich-gelbe Zone	sehr scharfe Banden (453, 484 $m\mu$, P. Ae.) 2,6 mg Substanz

Absorptionsspektren.

Eine Probe der 7,5 mg Substanz aus den Zonen 4 und 5 des letzten Chromatogramms wurde im Beckman-Apparat spektrographisch untersucht und mit reinem β -Carotin verglichen (Fig. 1). Das synthetische Produkt ist mit einem Stoffe verunreinigt, der im Gebiet unterhalb 450 $m\mu$ sehr stark absorbiert (Veränderungsprodukte von Anhydro-Vitamin A ?) und der infolgedessen die relativen Höhen der Maxima gegeneinander verschiebt, wobei die langwelligste Carotinbande bei 482 $m\mu$ am wenigsten beeinflusst zu sein scheint. Aus diesem Grunde wurde die Berechnung des Carotingehaltes an Hand der Extinktionshöhe dieser Bande vorgenommen. Sie ergab einen Gehalt von 4% β -Carotin.

Die 2,6 mg Substanz aus der Zone 6 des letzten Chromatogramms zeigten sehr scharf die charakteristischen Banden des β -Carotins:

Lösungsmittel	Synthetisches Produkt	Natürliches Carotin
Petroläther	453 484	452 484
Schwefelkohlenstoff . .	486 521,5	486 521
Carr-Price Reaktion . .	591	592

Aufarbeitung von Anhydro-Vitamin A.

Die gelben Öle, die sich mit Petroläther sehr leicht durch die Adsorptionssäulen durchwaschen liessen, erwiesen sich an Hand des Absorptionsspektrums und der übrigen Eigenschaften als identisch mit dem bereits beschriebenen¹⁾ Anhydro-Vitamin A. 900 mg des Öles wurden aus Hexan an neutralem Aluminiumoxyd chromatographiert. Im Durchlauf befanden sich 540 mg hellgelbes, relativ leicht bewegliches Öl, das, nach seinem Spektrum zu schliessen, ein schon sehr reines Präparat von Anhydro-Vitamin A dar-

¹⁾ E. M. Shantz, J. D. Cawley, N. D. Embree, Am. Soc. 65, 901 (1943).

stellt. In der Säule blieben 300 mg eines roten, dickflüssigen Öles haften. Ähnliche Produkte waren in der zitierten Arbeit von *Shantz* bereits beobachtet worden.

Das chromatographierte Rohprodukt konnte leicht aus der fünffachen Menge Pentan bei -80° krystallisiert werden (3 Tage). Beim Umkristallisieren wurden orangegelbe Krystallbüschel erhalten, die scharf bei 75° schmolzen.

Katalytische Reduktion des Anhydro-Vitamins A.

180 mg eines 70-proz. Präparates von Anhydro-Vitamin A wurden in 4 cm^3 Alkohol gelöst und zusammen mit 100 mg eines ca. 2-proz. Pd-CaCO₃-Katalysators bei Zimmertemperatur und Atmosphärendruck mit Wasserstoff geschüttelt. Innerhalb von 6 Stunden wurden 10 cm^3 Wasserstoff verbraucht (berechnet für 1 Mol 11 cm^3). Die Lösung filtrierte man vom Katalysator ab, verdunstete das Lösungsmittel und trocknete den Rückstand im Vakuum. Darauf löste man ihn in Hexan und chromatographierte die Lösung an einer Säule von Aluminiumoxyd ($1,5 \times 13 \text{ cm}$). Sobald die vorauswandernde gelbe Zone unten im Rohr angelangt war, begann man Fraktionen von 40 cm^3 aufzufangen.

1. 50 mg Substanz, schwach gelbes Öl. *Carr-Price*: 623 und $578 \text{ m}\mu$ (gleich stark)
2. 40 mg " " " " *Carr-Price*: $606 \text{ m}\mu$
3. 30 mg " " " " "
4. 20 mg " " " " " $608 \text{ m}\mu$ unscharf
5. 10 mg " " " " "

Die 50 mg Substanz der 1. Fraktion chromatographierte man aus Pentan an Aluminiumoxyd ($1,2 \times 10 \text{ cm}$). Gewaschen wurde mit 50 cm^3 Pentan, wobei die gelb gefärbten Substanzen nur sehr langsam wanderten.

1. gelber Ring, oben, $0,7 \text{ cm}$ breit, *Carr-Price*-Reaktion: blau 623 und $577 \text{ m}\mu$.
2. fast farblose Zone $0,5 \text{ cm}$ breit, *Carr-Price*-Reaktion: blaurot $562 \text{ m}\mu$.
3. schwach gefärbte Zone, unten, *Carr-Price*-Reaktion: keine Färbung.

Das Eluat der Zone 1 (ca. 20 mg) wurde wieder aus Pentan an Aluminiumoxyd ($1,2 \times 5 \text{ cm}$) adsorbiert und mit Pentan-Hexan-Gemisch (1:1) gewaschen (100 cm^3). Es bildete sich eine $1,5 \text{ cm}$ breite, gelbe Zone, die oben dunkler als unten war. Sie wurde in zwei Teile geteilt.

1. gelbe Zone oberer Teil, *Carr-Price*-Reaktion: $623 \text{ m}\mu$: Anhydro-Vitamin.
2. " " unterer Teil, " " " $577 \text{ m}\mu$, daneben sehr schwache Bande bei $623 \text{ m}\mu$.
3. unterer, farbloser Teil der Säule, *Carr-Price* Reaktion: $577 \text{ m}\mu$, scharf.

Obwohl das Eluat der Zone 3 bei der *Carr-Price*-Reaktion nur die eine Bande bei $577 \text{ m}\mu$ aufwies, lieferte es kein deutliches Axerophthen-Spektrum, weil Verunreinigungen zugegen waren, die zwar keine Färbung mit Antimontrichlorid gaben, aber im Gebiet unterhalb $360 \text{ m}\mu$ stark absorbierten.

Die Zone 2 zeigte das Spektrum des Axerophthens mit drei Banden (Fig. 2), deren Extinktionsmaxima bei den gleichen Wellenlängen lagen, wie die des synthetischen Produktes¹⁾. Der langwellige Ast scheint durch etwas beigemengtes Anhydro-Vitamin A leicht gestört.

Die Banden der *Carr-Price*-Spektren beider Stoffe liegen bei $577 \text{ m}\mu$.

Zusammenfassung.

Bei der Einwirkung von Toluolsulfonsäurechlorid auf das Kaliumsalz des Vitamins A bildet sich zum kleineren Teil der entsprechende Toluolsulfonsäureester, zum grösseren Teil Anhydrovitamin A. Der Toluolsulfoester des Vitamins A wird durch Natriumjodid ebenfalls in Anhydrovitamin A verwandelt.

¹⁾ Vgl. die Abhandlung von *P. Karrer* und *J. Benz*, Helv. 31, 1048 (1948), wo das Absorptionsspektrum des synthetischen Axerophthens beschrieben ist.

Neben Anhydrovitamin A entstehen in sehr geringen Mengen Verbindungen vom Charakter von Carotinoidfarbstoffen, darunter eine Substanz, welche die charakteristischen Absorptionsbanden, das *Carr-Price-Spektrum* und die biologische Aktivität des β -Carotins besitzt. Es handelt sich daher wahrscheinlich um β -Carotin.

Durch partielle katalytische Reduktion des Anhydrovitamins A wurde neben anderen Produkten Axerophthen gebildet.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

143. Über ein Alkaloid aus Equisetum palustre

von P. Karrer und C. H. Eugster.

(21. IV. 48.)

Der Sumpfschachtelhalm, *Equisetum palustre*, auch Duwock genannt, ist ein bekanntes Weideunkraut. Es soll für Rindvieh giftig sein und Fressunlust, Abmagerung, Durchfall, Rückgang des Milchertrages und Lähmungserscheinungen veranlassen; allerdings wurde diese Toxicität gelegentlich auch bezweifelt.

Verschiedene, meist landwirtschaftlich gerichtete Arbeiten befassen sich mit der Entgiftung¹⁾. In einigen wurde das Vorhandensein von Basen wahrscheinlich gemacht²⁾. Doch erst *E. Glet, Gutschmidt* und *P. Glet*³⁾ isolierten durch Destillation des extrahierten Basengemisches eine annähernd einheitliche Verbindung, die sie Palustrin nannten und der sie die Summenformel $C_{12}H_{24}O_2N_2$ zuerteilten.

Da die Frage der Toxicität des Sumpfschachtelhalms im Zusammenhang mit der Nutzbarmachung eines früheren Sumpfgebietes bei Tuggen (Linthebene) zu landwirtschaftlichen Zwecken erneutes Interesse weckte, haben wir eine Untersuchung dieser Pflanze eingeleitet.

Wir berichten heute über ein darin vorkommendes Alkaloid, mit dem das „Palustrin“ von *Glet, Gutschmidt* und *Glet* wohl identisch ist, wenn es auch von den früheren Bearbeitern nicht ganz rein erhalten wurde. Der Name Palustrin soll für die einheitliche Verbindung beibehalten werden.

¹⁾ Ernst Günther, Entgiftung des Duwocks und Unschädlichmachen des Duwockgiftes Equisetin. Fortschr. d. Landwirtsch. **7**, 9—11 (1932); **8**, 177 (1933).

²⁾ Über frühere Literatur vgl. H. V. Freyberg, Über den Sumpfschachtelhalm, genannt „Duwock“. Hier Literaturzusammenstellung. Biedermann's Zbl. Agrik. chem. ration. Landwirtschaftsbetrieb, Abt. A, allg. ref. Teil **65**, (N. F. 5) 180 (1934). C. **1935**, I, 3488; C. Masimo, G. Farmac. chim. Sci. affini **84**, 142 (1935); C. **1936**, I, 2771.

³⁾ Z. physiol. Ch. **244**, 229 (1936).