

Kations erklären. Bei der Bildung der Cyclodecene aus dem Carbonium-Ion stellt der entsprechende π -Komplex die Zwischenstufe dar. Die Olefinbildung wird demnach umso rascher verlaufen, je weniger sich der räumliche Bau des betreffenden π -Komplexes von demjenigen der stabilen Konformation des Cyclodecyl-Kations unterscheidet. Wenn man annimmt, daß die Konformation des Ringgerüsts im letzteren die gleiche ist wie im Cyclodecan, so braucht man zur Bildung des nicht verzerrten planaren π -Komplexes von trans-Cyclodecen eine Änderung des Torsionswinkels um nur 6° ; für die Bildung seines cis-Stereoisomers ist dagegen eine solche um 26° notwendig. Es folgt daraus, daß das trans-Cyclodecen rasch gebildet und gegenüber dem cis-Cyclodecen bevorzugt sein wird.

Ausblick

Die schmale experimentelle Grundlage, auf der unsere Kenntnisse der Konformationen vielgliedriger Ringe ($n > 7$) steht, soll in der Zukunft durch weitere röntgenographische Untersuchungen erweitert und die chemischen Schlußfolgerungen, die man aus den Ergebnissen ziehen kann, sollen eingehend geprüft werden. Die beiden Forschungsrichtungen ergänzen sich auf wertvolle Art, indem sie auf neue interessante Probleme im komplementären Gebiet hinweisen und so zu Untersuchungen anregen, die unsere noch recht unvollständigen Kenntnisse des Zusammenhangs zwischen dem räumlichen Bau und der Reaktivität organischer Molekülen erweitern helfen.

Eingegangen am 19. September 1960 [A 89]

Neuere Ergebnisse der Carotinoid-Forschung

Von Dr. A. WINTERSTEIN †

Chemische Forschungsabteilung der F. Hoffmann-La Roche & Co. AG., Basel*)

Prof. Dr. Richard Kuhn zum 60. Geburtstag gewidmet

Die Carotinoid-Forschung führt zur Erkenntnis, daß die Natur nach der Synthese des C_{40} -Skelettes dieses in eine sehr große, auch heute noch ganz zu übersehende Zahl von Derivaten und Abbauprodukten umwandelt. Das Beispiel der Carotinoide führt uns einmal mehr vor Augen, wie die Natur unter Zuhilfenahme einiger weniger Grundreaktionen in einer gegebenen Substanzklasse eine überraschende Vielfalt von Vertretern zu bilden vermag. Es ist vorauszusehen, daß noch weitere Carotinoide in der Natur gefunden werden, die heute noch bestehende Lücken in unseren Vorstellungen über die Biogenese dieser natürlichen Pigmente ausfüllen dürften. — Wenn heute die Carotinoid-Synthese ihre Triumphe feiert und die Natur ihre Rolle als Vorbild auf diesem Gebiet wohl weitgehend ausgespielt hat, so bleibt der künftigen Carotinoid-Forschung doch noch ein breites Feld offen; gilt es doch unter Berücksichtigung der enzymatischen Seite des Problems im einzelnen verstehen zu lernen, wie die Natur, ausgehend von Essigsäure, die Vielfalt der Carotinoide bildet.

1. Einleitung

Vor 34 Jahren hat Richard Kuhn — anlässlich der Übernahme des Lehrstuhls für allgemeine Chemie an der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich — dem Verfasser vorgeschlagen, einige Untersuchungen über die Thiele'sche Regel¹⁾ der 1,4-Wasserstoffaddition anzustellen²⁾. Wie so oft in der Forschung sollte aus dieser eher engbegrenzten Problemstellung sehr bald eine überraschende Ausweitung der Forschungsrichtung erwachsen: die Arbeiten führten über die Diphenylpolyene³⁾ zu einer großen Klasse von Naturstoffen, zu den Carotinoiden. 1934 konnten wir über 20 Carotinoide berichten, von denen 12 ihrer Konstitution nach bekannt waren⁴⁾.

Wenn wir dem Jubilar heute einen Aufsatz über moderne Ergebnisse der Carotinoid-Forschung widmen, wenn wir heute eine Gesamtzahl von etwa 80 Carotinoiden übersehen, so gehen unsere Gedanken gleichzeitig um drei Jahrzehnte zurück, in die Frühzeit der exakten Carotinoidforschung, da Richard Kuhn bahnbrechendes schuf, da er die Fundamente legte, auf denen sich auch heute noch die Carotinoidforschung aufbaut. Wir denken dabei vor allem an die „chromatographia rediviva“, wir verdanken es Richard Kuhn, wenn die teils vergessene, teils als unbrauchbar abgelehnte Tswettsche Methodik⁵⁾, im richtigen Mo-

ment adaptiert, für die Carotinoid-Forschung von entscheidender Bedeutung wurde⁶⁾. In ihren verschiedenen Abwandlungen, z. B. im Verfahren nach E. Stahl⁷⁾, hat sich die Chromatographie für das Carotinoid-Gebiet als unentbehrlich erwiesen.

Dank der Tswettschen Methodik und dank eines prachtvoll angelegten Arbeitsteams, an dem Richard Kuhn selbst sehr aktiv mitwirkte, gelang es ihm, ein von R. Willstätter und W. Mieg⁸⁾ beschriebenes Pigment der Zusammensetzung $C_{40}H_{56}$, „das“ Carotin, in eine Vielfalt von Kohlenwasserstoffen aufzulösen, nämlich in α -, β -, γ - und δ -Carotin. An diesen Arbeiten waren 3 Mitglieder des Teams: Brockmann⁹⁾ (γ -Carotin), Lederer¹⁰⁾ (α -Carotin) und der Verfasser¹¹⁾ (δ -Carotin)¹²⁾ in gleichem Ausmaße beteiligt.

Richard Kuhn hat sich sehr frühzeitig mit der Frage nach der Biogenese der Carotinoide befaßt und dabei klar zum Ausdruck gebracht¹³⁾, daß die Vielfalt dieser natürlichen Pigmente zum Teil gegeben ist durch oxydative Abbau von Carotinoiden mit dem C_{40} -Kohlenstoffgerüst.

In den letzten 2 Jahren ist es nun gelungen, die Liste der natürlichen Carotinoidkohlenwasserstoffe um einige Ver-

¹⁾ Am 16. September 1960 ist A. Winterstein in Tokio, wo er einen Hämatologen-Kongreß besuchte, im Alter von 62 Jahren nach kurzer schwerer Krankheit verschieden.

²⁾ J. Thiele u. K. Schleussner, Liebigs Ann. Chem. 306, 198 [1899].

³⁾ R. Kuhn u. A. Winterstein, Helv. chim. Acta 11, 123 [1928]; R. Kuhn u. M. Hoffer, Ber. dtsh. chem. Ges. 65, 170 [1932].

⁴⁾ R. Kuhn u. A. Winterstein, Helv. chim. Acta 11, 87 [1928].

⁵⁾ Siehe hierzu A. Winterstein in G. Klein: Handbuch der Pflanzenanalyse. J. Springer, Wien 1933, Band IV, S. 1403.

⁶⁾ Beim Anblick des ersten Chromatogrammes, das wir 1931 zur Abtrennung des Luteins aus Eigelb angesetzt hatten, erklärte Richard Kuhn spontan und weit vorausschauend: „diese Methode wird für die fernere Forschung von größerer Bedeutung sein als die fraktionierte Kristallisation oder fraktionierte Destillation.“

⁷⁾ Chemiker-Ztg. 82, 323 [1958].

⁸⁾ Liebigs Ann. Chem. 355, 1 [1907].

⁹⁾ R. Kuhn u. H. Brockmann, Naturwissenschaften 21, 44 [1933].

¹⁰⁾ R. Kuhn u. E. Lederer, Ber. dtsh. chem. Ges. 64, 1349 [1931].

¹¹⁾ A. Winterstein, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 219, 249 [1933].

¹²⁾ Die von A. Winterstein seinerzeit für das δ -Carotin vorgeschlagene Konstitution ist von T. E. Kargl u. F. W. Quackenbush (Arch. Biochem. Biophysics 88, 59 [1960]) bewiesen worden.

¹³⁾ J. Soc. chem. Ind. 52, 981 [1933].

treter zu erweitern¹⁴). Gleichzeitig konnte eine ganze Reihe von Carotinoidaldehyden in der Natur nachgewiesen werden¹⁵). Die Auffindung der letzteren bestätigt in weitestem Ausmaß die Auffassung *Richard Kuhns* über die Biogenese dieser Naturstoffe. Unsere neueren Bemühungen auf diesem Gebiete stellen somit tatsächlich nur eine Fortsetzung von Arbeiten dar, die vor 25 Jahren unterbrochen und die nun aus praktischen Erwägungen heraus — gewisse synthetisch heute leicht zugängliche Carotinoide, wie β -Apo-8'-carotinal, stellen wertvolle Nahrungsmittelfarbstoffe¹⁶) dar — wieder aufgenommen wurden.

So erscheint die glückhafte Zeit der Zusammenarbeit mit *Richard Kuhn* nicht als längst entchwunden; sehr frisch und gegenwartsnah steht sie vor Augen — in gleicher Weise erneuern sich Gefühle der Dankbarkeit, die den Verfasser seit jeher mit *Richard Kuhn* verbanden.

2. Carotinoid-Kohlenwasserstoffe

Wie eingangs erwähnt, gelang es *R. Kuhn* und Mitarbeitern zu zeigen, daß in der Natur nicht „ein Carotin“ vorkommt, sondern deren vier, die als α -, β -, γ - und δ -Carotin bezeichnet wurden. Zusammen mit dem von *R. Willstätter* und *H. H. Escher*¹⁷) beschriebenen Lycopin waren zu Beginn der dreißiger Jahre 5 Kohlenwasserstoffe der Carotinoidreihe bekannt geworden. *H. H. Strain* und *W. M. Manning*¹⁸) haben später aus der Diatomee *Navicula torquatum* ein Carotinoid isoliert und als ϵ -Carotin bezeichnet, das höchstwahrscheinlich das gleiche chromophore System aufweist, wie das von *P. Karrer* und *C. H. Eugster*¹⁹) durch Synthese gewonnene sog. ϵ_1 -Carotin. Wir halten die Annahme für durchaus zulässig, daß das ϵ -Carotin die Struktur des ϵ_1 -Carotins besitzt²⁰). Damit wären die 6 Grundkohlenwasserstoffe²¹) dieser Naturstoffklasse bekannt, von denen sich alle anderen Carotinoide zwangsläufig ableiten lassen^{21a)}.

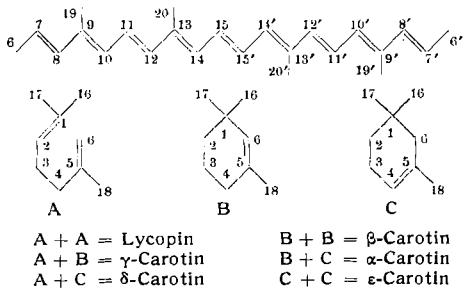


Tabelle 1 zeigt den heutigen Stand der Forschung²²).

	Entdeckt	I. Abs.-Bande in CS ₂ [μ]	Zahl d. konjug. Doppelbdg.	
			aliph.	Ring
α -Carotin	1931	510	9	1
β -Carotin	1831	520	9	2
γ -Carotin	1933	533	10	1
δ -Carotin	1933/1960	526	10	
ϵ -Carotin	1943/1950	501	9	
Lycopin	1873	548	11	
Torulin	1933/1959	563	12	1
Monodehydrolycopin	1959	574	13	
Bisdehydrolycopin ..	1959	601	15	
Isorenieraten	1957	520	9	6
Renieraten	1957	532	10	3(?)
β -Zeacarotin ²³)	1959	490	8	1

Tabelle 1. Carotinoidkohlenwasserstoffe

- ¹⁴) *A. Winterstein, A. Studer u. R. Rüegg, Chem. Ber.*, im Druck.
¹⁵) *A. Winterstein u. B. Hegedüs, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.*, im Druck.
¹⁶) *O. Isler, R. Rüegg u. P. Schudel, Chimia*, im Druck.
¹⁷) *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* 64, 47 [1910].
¹⁸) *J. Amer. chem. Soc.* 65, 2258 [1943].
¹⁹) *Helv. chim. Acta* 33, 1433 [1950].

Bei den hervorragenden Arbeitsmöglichkeiten, die uns das *Kuhnsche Institut* bot, muß man sich fragen, warum das δ -Carotin nicht schon seinerzeit in reiner Form dargestellt worden ist, könnten wir doch damals nach dem einfachen Rezept „man nehme“ verfahren. „Man nehme“ z. B. 5000 frische Eier, oder 10000 Physaliskelche, 10 kg Hummereier oder 10 kg Safran usw. Tatsächlich hatte zur Zeit, als sich *Richard Kuhn* mit den Carotinoidkohlenwasserstoffen befaßte, die Genetik noch nicht Einzug in dieses Forschungsgebiet gehalten. Es war vor 25 Jahren noch nicht bekannt, daß z. B. für die Bildung der Tomatencarotinoide die Gene R. T. und B erforderlich sind²⁴). Das Rezept, gemäß welchem es amerikanischen Forschern gelang, eine größere Menge δ -Carotin herzustellen und die von uns vorgeschlagene Formel zu beweisen, lautet etwa folgendermaßen: „man nehme“ den handelsüblichen Tomatenstamm Indiana Baltimore, kreuze mit dem durch besondere Zucht gewonnenen *Lycopersicum hirsutum* P. I. 126445, wobei man zum Stamm 2079-6003 gelangt, der nun mit dem durch Kreuzung von *Maryglobe suprene* und *Lycopersicum hirsutum* 127827 erhaltenen Stamm weiter gekreuzt wird (letztere zeichnet sich durch hohe Produktion von γ -Carotin aus). Dieser wird nun mit der F₁-Variante von *Baltimore* + *Lycopersicum* P. I. 126951 gekreuzt — und schon liegt das gesuchte Ausgangsmaterial vor, eine Tomate, die pro kg Frischgewicht nicht weniger als 40 mg δ -Carotin enthält. Dieses Pigment ist damit leichter zugänglich geworden als α - oder γ -Carotin. Dieses Rezept ist von *J. W. Porter* und *R. E. Lincoln*²⁵) in jahrelangen Bemühungen erarbeitet worden, die zu folgenden höchst bemerkenswerten

farbige Carotinoide	mg/kg Tomate	farblose Carotinoide	mg/kg Tomate
Lycopin*) ...	90/120	Phytoen	43
Lycopin	300/400	Phytofluen	50
α -Carotin ...	9	ζ -Carotin	85
β -Carotin **)	120		
γ -Carotin ...	11		
δ -Carotin ...	40***)		

*) Handelsübliche Frucht.

**) 15-mal mehr als die handelsübliche Frucht.

***) 50 % d. ges. Carotinoide.

Tabelle 2. Produktion von Carotinoid-Kohlenwasserstoffen durch verschiedene *Lycopersicum*-Arten

Ergebnissen führten: Durch Züchtung verschiedener *Lycopersicum*-Arten gelingt es, wie aus Tabelle 2 ersichtlich ist, Tomaten zu produzieren, die z. B. 3- bis 4-mal mehr Lycopin enthalten als die handelsüblichen Arten, oder auch solche, die den für die Tomate charakteristischen Carotinoidkohlenwasserstoff, das Lycopin, nur noch in Spuren führen und an Stelle des letzteren fast ausschließlich β -Carotin (95 % der Gesamtcarotinoide) enthalten.

Nach Auffassung von *Porter* und *Lincoln* dürfte es möglich sein, zu Tomatenvarietäten zu gelangen, die ausschließlich δ -Carotin produzieren, nicht aber zu solchen, die nur α - oder γ -Carotin zu synthetisieren vermögen.

²⁰) Die Möglichkeit, daß es sich bei dem von *Strain* isolierten Carotin um einen Vertreter der sog. Neurosporinklasse, bzw. um ein Gemisch von α -Carotin mit z. B. β -Zeacarotin handelt, können wir auf Grund unserer Erfahrungen über die R_f-Werte der Carotinoid-Kohlenwasserstoffe ausschließen.

²¹) Daraunter wären die Kohlenwasserstoffe zu verstehen, welche zwischen den Kohlenstoffatomen 7 und 7' des C₄₀-Skelettes 9 konjugierte Doppelbindungen aufweisen.

^{21a)} Eine Ausnahme macht z. B. Escholzxanthin.

²²) Die verschiedenen cis-trans-Isomeren wurden hier nicht berücksichtigt.

²³) Als Vertreter der sog. Neurosporinklasse. Hierher wären das β -Zeacarotin, α -Zeacarotin und auch Neurosporin selbst zu zählen.

²⁴) Siehe hierzu *R. E. Lincoln u. J. W. Porter, Genetics* 35, 206 [1950]; *L. Rosen, A. L. Went u. L. Zechmeister, Proc. nat. Acad. Sci. USA* 37, 113 [1946].

²⁵) *Arch. Biochemistry* 27, 390 [1950].

Von den in Tabelle 1 aufgeführten Carotinoid-Kohlenwasserstoffen ist das Torulin schon früher beobachtet, aber als Dimethoxy-Derivat eines Carotinoids angesprochen worden. Biogenetisch leitet sich das Torulin offenbar vom γ -Carotin ab, aus dem es durch Elimination von 2 Wasserstoffatomen entstehen kann. Das von uns aus einem Mikroorganismus erhaltene Torulin stimmt in seinen Eigenschaften mit einem synthetisch gewonnenen Präparat überein¹⁴⁾. Von diesem neuen Kohlenwasserstofftyp lassen sich weitere natürliche Carotinoide, z. B. das Torularhodin, ein C_{40} -Aldehyd sowie ein C_{37} -Aldehyd ableiten.

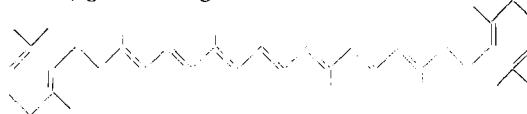
Vorstellungen über die Biogenese der Carotinoidkohlenwasserstoffe haben uns veranlaßt, auch nach Dehydrierungsprodukten in der Lycopinreihe zu fahnden. Tatsächlich fanden wir Monodehydrolycopin in einem Mikroorganismus, Bisdehydrolycopin in spanischen Orangen (Valencia). Beide Pigmente waren nur in Spuren vorhanden, ließen sich jedoch einwandfrei durch Vergleich mit den synthetisch gewonnenen Verbindungen identifizieren¹⁴⁾.

Durch den Nachweis dieser beiden Kohlenwasserstoffe in der Natur erfahren unsere Vorstellungen über die Biogenese der Carotinoid-Kohlenwasserstoffe²⁶⁾, bei der Dehydrierungsreaktionen offenbar von entscheidender Bedeutung sind, eine wertvolle Ergänzung. Die Annahme, daß sich das C_{40} -Kohlenstoffgerüst der Carotinoide durch Dimerisierung

von 2 Geranylgeraniol-pyrophosphat-(C_{20})-Einheiten zu einem ungefärbten aliphatischen Terpen, dem Lycopersen (C_{40}) bildet, ist sehr naheliegend. Lycopersen, das schon von P. Karrer und H. Kramer²⁷⁾ synthetisiert worden ist, findet sich nach neuesten Befunden sehr wahrscheinlich auch in der Natur²⁸⁾.

Aus dem Lycopersen (C_{40}), das acht nicht-konjugierte Doppelbindungen enthält, gelangen wir durch stufenweise Dehydrierung über das Lycopin mit 11 konjugierten und zwei nicht-konjugierten Doppelbindungen sowie über das Monodehydrolycopin zum Bisdehydrolycopin, das mit seinen 15 konjugierten Doppelbindungen das am stärksten ungesättigte aller natürlichen Carotinoide ist²⁹⁾. Ob sich diese Dehydrierungen genau im Sinne der in Tabelle 3 angegebenen Reaktionsfolge abspielen, steht im einzelnen noch nicht fest³⁰⁾.

Die an sich naheliegende Annahme, daß z. B. ζ -Carotin einen symmetrischen Aufbau besitzt, indem die sieben konjugierten Doppelbindungen, von der Mitte des Moleküls aus betrachtet, gleichmäßig verteilt sind:



scheint fraglich. Es liegen verschiedene Anhaltspunkte dafür vor, daß die Dehydrierung zuerst an einem Ende des Moleküls bis zur Lycopinstufe verläuft und erst in einer zweiten Phase am anderen Ende³¹⁾, so daß ein asymmetrisch gebautes Dehydrierungsprodukt entsteht.

Unsere Vorstellungen über das Vorkommen von Carotinoid-Kohlenwasserstoffen erfahren dank der Forschung von E. N. Petzold, F. W. Quackenbush und Marilyn McQuistan³²⁾ eine sehr wesentliche Ausweitung. Diese Forscher haben aus gelbem Mais die sog. Zeacarotine isoliert, näher untersucht und für das β -Zeacarotin die in Schema 1 angegebene Struktur festgelegt.

Dieser neue Provitamin-A-Typ ist heute durch Synthese leicht zugänglich: es werden Ausgangsmaterialien verwendet, die von anderen Carotinoidsynthesen her in reichlichen Mengen zur Verfügung stehen. Dehydro- β -apo-12'-carotinal (C_{25}) wird nach Wittig³³⁾ mit Farnesyliden-triphenylphosphoran kondensiert, partialhydriert und in üblicher Weise zur all-trans-Verbindung isomerisiert. Wir erhielten auf diese Weise einen in glänzenden, bei 96–97 °C schmelzenden, orange-roten Blättchen kristallisierenden Carotinoid-Kohlenwasserstoff, der in seinem Adsorptions-, Absorptions- sowie in seinem chemischen Verhalten (Dehydrierung mit Bromsuccinimid) mit dem von F. W. Quackenbush beschriebenen Naturprodukt übereinstimmt³⁴⁾. Das α -Zeacarotin stellt offenbar einen weiteren Vertreter der δ -Carotinreihe dar, von denen sich vermutlich wesentlich mehr in der Natur vorfinden, als bisher angenommen wurde.

Im Schema 1 sind die zwischen den Carotinoid-Kohlenwasserstoffen bestehenden Beziehungen aufgezeichnet. Wir dürfen wohl annehmen, daß α - und γ -Carotin nicht aus β -Carotin entstehen, sondern aus Vorstufen, bei denen die Cyclisierung den α -Jonenring liefert.

²⁷⁾ Helv. chim. Acta 27, 1301 [1944].

²⁸⁾ Arch. Biochem. Biophysics 88, 68 [1960].

²⁹⁾ Synthetisch wurde in unseren Laboratorien (O. Isler u. Mitarbeiter, Verhandl. Schweiz. Naturf. Ges. Basel 1956, 101) Decapreno- β -carotin (C_{50}) mit 15 konjugierten Doppelbindungen, neuerdings auch das entsprechende Lycopin-analoge mit 17 Doppelbindungen dargestellt.

³⁰⁾ Siehe hierzu L. F. Krzeminiski u. F. W. Quackenbush (Arch. Biochem. Biophysics 88, 287 [1960]).

³¹⁾ B. C. L. Weedon, Privatmitteilung.

³²⁾ Arch. Biochem. Biophysics 82, 117 [1959].

³³⁾ G. Wittig, Chem. Ber. 87, 1318 [1954]; 88, 1654 [1955].

³⁴⁾ Der direkte Vergleich unseres synthetischen β -Zeacarotins mit dem Naturprodukt steht noch aus.

	Zahl der Doppelbindungen		
	konj.	isol.	total
2 × Geranyl-geraniol-pyrophosphat	—	8	8
Lycopersen [$\sim C_{40}$ -Squalen]	3	6	9
Phytoen	5	5	10
Phytofluen	7	4	11
ζ -Carotin	9	3	12
Neurosporin	11	2	13
Lycopin	13	1	14
Monodehydro-lycopin	15	—	15
Bisdehydro-lycopin			

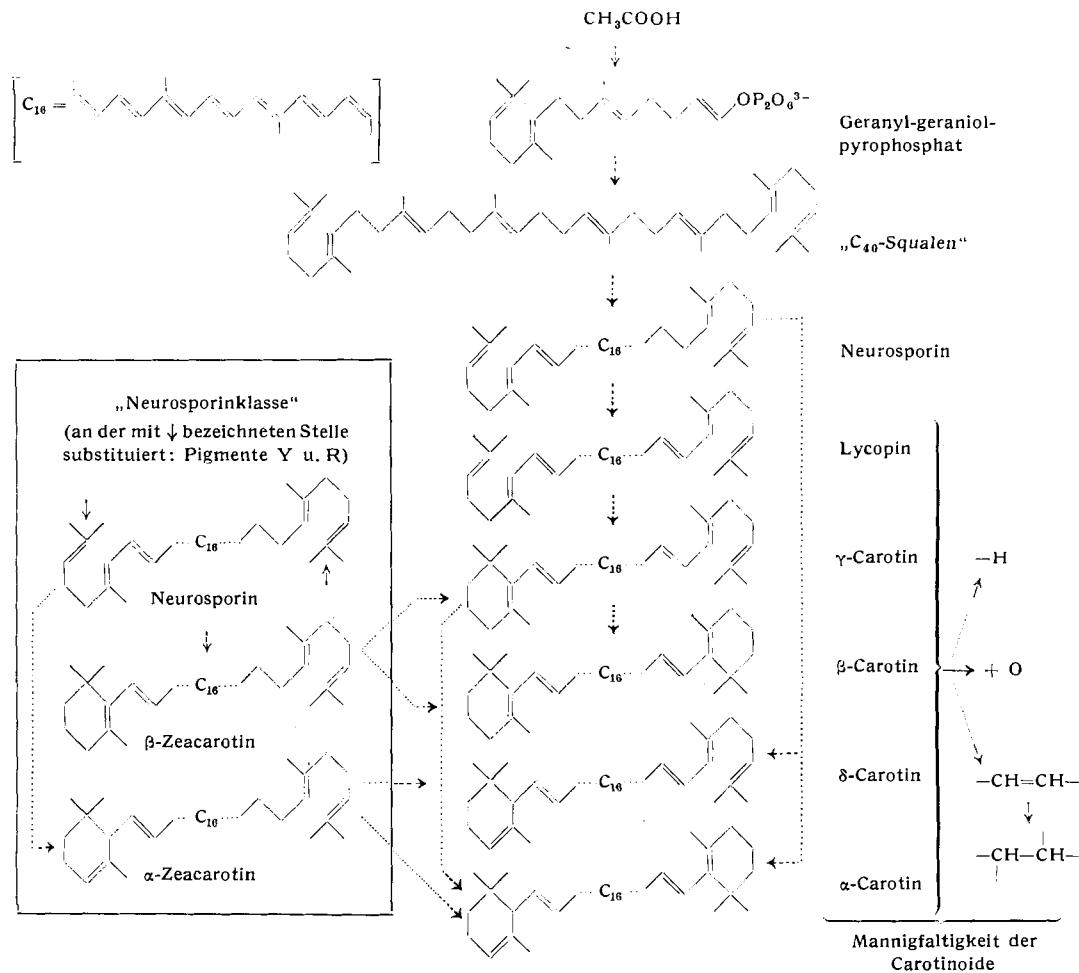
Tabelle 3. Biogenese der Carotinoid-Kohlenwasserstoffe

²⁶⁾ Siehe hierzu E. C. Grob: Ciba Foundation Symposium on Biosynthesis of Terpenes and Sterols. Verlag J. & A. Churchill, London 1959, S. 267.

Wird die Zahl der natürlichen Carotinoid-Kohlenwasserstoffe einerseits durch die im Vergleich zu Carotin bzw. Lycopin stärker hydrierten Zeacarotine erweitert, so verdanken wir andererseits den Arbeiten von *M. Yamaguchi*³⁵⁾ die Erkenntnis, daß auch in der Carotinreihe — ebenso wie in der Lycopinreihe — wasserstoffärmere Verbindungen in der Natur vorkommen. Das von den japanischen Forschern aus *Reniera japonica*, einem gelb gefärbten Schwamm, gewonnene Isorenieraten, dessen Konstitution von *M. Koshla* und *P. Karrer*³⁶⁾ durch Synthese bewiesen wurde, besitzt

halten worden³⁷⁾, so war bis in die neueste Zeit neben dem Vitamin-A₁-Aldehyd (Retinen, C₂₀), dem wir eine Sonderstellung einräumen dürfen, als natürlich vorkommender Carotinoid-Aldehyd nur das von *L. Zechmeister* und *P. Tuzson*³⁸⁾ beschriebene β-Citraurin, das 3-Hydroxy-β-apo-8'-carotinal (C₃₀), bekannt gewesen.

Wir standen vor der Aufgabe, den Nachweis zu erbringen, daß das für die Färbung gewisser Lebensmittel besonders wertvolle und synthetisch leicht zugängliche β-Apo-8'-carotinal (C₃₀) auch als Naturprodukt angesprochen werden



Schema 1. Entstehung der Carotinoide

zwei aromatische Ringe und damit das gleiche chromophore System wie die Diphenylpolyene. Es ist damit eine direkte Brücke geschlagen zwischen den ersten Synthesever suchen auf diesem Gebiet und den Naturprodukten. Wie erwartet, besitzt Isorenieraten keine Vitamin-A-Wirkung; seine Absorptionsbanden sind fast identisch mit denjenigen des β-Carotins. Dies ist theoretisch in der Weise zu deuten, daß die in den Kernen sitzenden Methylgruppen den auxochromen Effekt der aromatischen Doppelbindungen aufheben. Renieraten stellt möglicherweise das γ-Carotin-Analoge des Isorenieratens dar.

3. Carotinoid-Aldehyde

Waren dank der Arbeiten von *R. Kuhn* und Mitarbeitern sowie *P. Karrer* und Mitarbeitern eine größere Zahl von Carbonylverbindungen der Carotinoid-Reihe als Abbauprodukte von α- und β-Carotin sowie Lycopin u. a. in vitro er-

dürfe. Nach einigen vergeblichen Versuchen, diesen Aldehyd in der Darmschleimhaut des Pferdes oder des Rindes nachzuweisen³⁹⁾, gingen wir dazu über, Citrusfrüchte als Ausgangsmaterial zu verwenden, von denen bekannt war, daß sie über ein Fermentsystem verfügen, welches imstande sein sollte, aus entsprechenden Vorstufen C₃₀-Aldehyde, d. h. neben β-Citraurin auch den nicht hydroxylierten Aldehyd zu produzieren. Diese Vermutung erwies sich als richtig. Es gelingt, aus gewissen Orangen- bzw. Manderinensorten ohne allzu große Mühe das gesuchte β-Apo-8'-carotinal in Form seines Semicarbazons zu fassen. In diesem Falle erwies sich der Einsatz ¹⁴C-markierten Semicarbazids für die Identifizierung als besonders wertvoll¹⁴⁾. Wir waren einigermaßen überrascht, als wir bei unseren Bemühungen, in verschiedenen Naturprodukten β-Apo-8'-carotinal nachzuweisen, fanden, daß die Carotinoid-Aldehyde eine große bisher unbeachtete Klasse von natürlichen Pigmenten dar-

³⁵⁾ Siehe hierzu *P. Karrer* u. *E. Jucker*: Carotenoids. Elsevier Publ. Co., Amsterdam 1950, S. 118–157.

³⁶⁾ Ber. dtsch. chem. Ges. 69, 1878 [1936]; 70, 1966 [1937].

³⁷⁾ *J. Glover* u. *E. R. Redfearn*, Biochem. J. 58, XV [1954].

stellen, die als Spurencarotinoide in der Natur offenbar ebenso weit verbreitet sind, wie z. B. die Carotinoid-Kohlenwasserstoffe. In Tabelle 4 sind diese neu gefundenen Carotinoid-Aldehyde zusammengestellt.

	C-Atome	I. Abs.-Bande in CS ₂ [μ]	Vorkommen
3',4'-Dehydro-17'-oxo-γ-carotin	40	594	Mikroorganismen
β-Apo-2'-carotinal	37	579	Citrusfrüchte
Apo-6'-lycopinal	32	569	Tomaten
Apo-8'-lycopinal	30	546	Tomaten
Aldehyd unbek. Konst.	?	541	Citrusfrüchte, Spinat, Grünkohl
Aldehyd, OH-Verb.	?	541	Citrusfrüchte
β-Apo-8'-carotinal	30	526	Citrusfrüchte, grüne Gemüse, Gras, Hagebutte, Leber, Darmmucosa
β-Apo-10'-carotinal	27	505	wie β-Apo-8'-carotinal
Azafrinaldehyd	27	489	Azafranwurzel
Retinen	20	—	wie β-Apo-8'-carotinal

Tabelle 4. Natürliche Carotinoidalaldehyde

Einschließlich des β-Citraurins umfaßt die Gruppe der natürlichen Carotinoid-Aldehyde nunmehr insgesamt 11 Vertreter

Sehr förderlich für den Fortgang der Arbeiten war die Ausnutzung der Carbonylfunktion zur Identifizierung der Aldehyde. Dabei erwies sich die Verwendung von Rhodanin in einzelnen Fällen als besonders wertvoll¹⁵⁾. Dieses Reagens liefert mit den Carotinoid-Aldehyden Kondensationsprodukte, deren Absorptionsbanden (CS₂) im Vergleich zu denjenigen der Aldehyde selbst um etwa 100 μμ nach dem Langwelligen verschoben sind.

Ohne jede Schwierigkeit gelingt der Nachweis von Apo-6'-(C₃₂) und Apo-8'-lycopinal (C₃₀) in Tomaten. Es ist schon mit der klassischen Methode der Säulenchromatographie möglich, in Tomatenextrakten das Vorhandensein von 4 Carotinoiden nachzuweisen, die bisher nicht beachtet worden sind. Nach Abtrennung der Hauptmenge des Lycopins durch Kristallisation¹⁶⁾ liefern die Mutterlaugen in den obersten Schichten der Säule 5 gut ausgeprägte Zonen, von denen wir 2 orange-farbene dem Lycopinepoxyd, bzw. Lycocanthinepoxyd¹¹⁾ zuschreiben möchten, während 2 weitere, durch ihre rot-violette Farbe auffallende Zonen, von den beiden Lycopinalen gebildet werden.

Für den Nachweis der Carotinale hat sich die Plattenchromatographie nach E. Stahl⁷⁾ als nützlich erwiesen. Bei einiger Erfahrung gelingt es, auf derselben Platte z. B. in einem vorgereinigten Spinatextract vier Aldehyde zu erkennen: β-Apo-8'-carotinal (C₃₀), β-Apo-10'-carotinal (C₂₇), Retinen (C₂₀) sowie Pigment 541 (I. Absorptionsbande in CS₂ = 541), dessen Konstitution noch unbekannt ist.

Vom biogenetischen Gesichtspunkt aus ist der Nachweis des 3',4'-Dehydro-17'-oxo-γ-carotins (C₁₀) in einem Mikroorganismus, ebenso derjenige des β-Apo-2'-carotinals (C₃₇) besonders interessant.

Von den niedrigeren Apo-carotinalen gibt sich das β-Apo-10'-carotinal (C₂₇) dank der leuchtenden rot-violetten Farbe seines Rhodanin-Kondensationsproduktes im Dünnenschichtchromatogramm gut zu erkennen. Diesen Aldehyd haben wir in allen bisher untersuchten Ausgangs-

¹⁰⁾ Das so gewonnene Rohlycopin enthält stets noch kleine Mengen Lycopinale.

¹¹⁾ Versuche, diese bisher unbekannten Epoxyde durch Synthese zu gewinnen, sind bisher gescheitert.

materialien nachweisen können, z. B. auch in gelbem Mais, in dem uns der Nachweis von β-Apo-8'-carotinal nicht gelang.

Recht eingehend haben wir uns mit den Carotinoiden der Citrusfrüchte (*Citrus aurantium*, *Citrus madurensis*, hier mit der tieforange-rot gefärbten Varietät, die als „Clementine“ bezeichnet wird) befaßt. Wie schon L. Zechmeister und P. Tuzson³⁸⁾ gezeigt haben, hängt der β-Citrauringehalt der Citrusfrüchte stark von der Varietät bzw. vom Reifezustand ab. Diesen Schwankungen folgt auch das β-Apo-8'-carotinal. Am meisten, nämlich 100–200 γ/kg fanden wir in Clementinen, sehr wenig in den hellorange gefärbten sizilianischen Orangen der Januarernte. Für das Vorhandensein von β-Apo-12'-carotinal (C₂₅) bzw. β-Apo-6'-carotinal (C₃₂) haben wir keine Anhaltspunkte gewonnen. Dagegen konnten wir – zunächst im epiphasischen Anteil von Clementinenextrakten, später auch in anderem Pflanzenmaterial – das Vorhandensein eines weiteren Aldehydes – Pigment 541 – nachweisen, der zweifellos eine einheitliche Verbindung und nicht z. B. ein Gemisch zweier nahe verwandter Aldehyde ist. Den Absorptionsbanden nach könnte er z. B. das chromophore System des α-Apo-6'-carotinals besitzen.

Nachdem sich unsere Vorstellungen, daß in Citrusfrüchten das Aldehydpaar 3-Hydroxy-β-apo-8'-carotinal/β-Apo-8'-carotinal vorkommen könnte, als richtig erwiesen hatte, lag es nahe, auch an das Vorkommen des entsprechenden Paars von Pigment 541 zu denken. Tatsächlich gelang es, aus dem von ca. 1000 kg Citrusfrüchten gewonnenen hypophasischen Anteil 120 mg eines Aldehydes in kristallisierter Form zu gewinnen, der in all seinen Eigenschaften einer Monohydroxyverbindung von Pigment 541 entspricht. Offenbar produzieren gewisse Citrusarten 2 Paare von Carbonylverbindungen: β-Citraurin (C₃₀) und β-Apo-8'-carotinal (C₃₀) einerseits, Pigment 541 und dessen Monohydroxyverbindung andererseits.

Lange Zeit war man der Auffassung, daß der Vitamin-A₁-Aldehyd (C₂₀) ausschließlich im Auge vorkommt, wo er bekanntlich eine wichtige Rolle beim Sehprozeß spielt. P. A. Plack, S. K. Kon und S. Y. Thompson⁴²⁾ haben dann in neuester Zeit als erste den Nachweis erbracht, daß Retinen auch in anderen Geweben, nämlich in den Eiern von Fischen und Hühnern vorkommt. Wir fanden Retinen in allen bisher untersuchten grünen Pflanzen wie Klee, Gras, Spinat, Grünkohl, Kresse und Ackersalat, ferner in Citrusfrüchten, Hagebutte und gelbem Mais. In den Lebern verschiedener Tiere findet es sich in wechselnden Mengen – bis zu 2 mg/kg Leber¹⁵⁾. Man braucht heute nicht mehr anzunehmen, daß das für den Sehprozeß benötigte Retinen im Auge selbst gebildet werden muß.

In den Wurzeln von *Escobedia scabrifolia* konnten wir neben dem Hauptcarotinoid sowie kleinen Mengen Carotin und Carotinmonoepoxyd einen weiteren Aldehyd nachweisen, der mit dem Azafrinaldehyd (C₂₇) identisch sein dürfte. Ebenso wie beim Retinen erwies sich hier die Verwendung von Rhodanin zum Aldehydnachweis als sehr nützlich.

In den Samen von *Bixa orellana* ließen sich keine Aldehyde nachweisen, wohl aber ein Lycopinderivat, was den Schluß erlaubt, daß die Muttersubstanz des Bixin, wie theoretisch zu erwarten, Lycopin ist.

Im Zusammenhang mit der Frage, auf welchem Wege β-Carotin im Organismus in Vitamin A umgewandelt wird, sind Versuche in vitro durchgeführt worden. R. F. Hunter und N. E. Williams⁴³⁾ erhielten bei der Behandlung von β-Carotin mit H₂O₂ Retinen in einer Ausbeute von 0,5%. P. Meunier und Mitarb.⁴⁴⁾ verzeichneten bei Verwendung

⁴²⁾ Biochem. J. 71, 467 [1959]; Nature [London] 186, 234 [1960].

⁴³⁾ J. chem. Soc. [London] 1945, 554.

⁴⁴⁾ C. R. hebld. Séances Acad. Sci. 231, 117 [1950].

von MnO_2 + Luft als Oxydationsmittel die hohe Ausbeute von über 40% Retinen, während *N. L. Wendler, C. Rosenbaum und M. Tishler*⁴⁵⁾ bei der Oxydation des β -Carotins mit H_2O_2 in Gegenwart von OsO_4 neben Retinen größere Mengen β -Jonylidenacetaldehyd (C_{15}) erhielten.

Es schien von Interesse, zu untersuchen, ob β -Carotin unter sehr milden Bedingungen nicht auch zu höheren Aldehyden abgebaut wird. Dies ist tatsächlich der Fall. Bei der Oxydation von β -Carotin mit MnO_2 unter Luftauschluß erhielten wir — bezogen auf eingesetzte Carotinmenge — etwa 10% Retinen, 2% β -Apo-10'-carotinal sowie etwas β -Apo-8'-carotinal und einen weiteren, noch nicht näher untersuchten, gefärbten Aldehyd. Unter den gleichen Versuchsbedingungen liefert Lycopin eine kleine Menge Apo-8'-lycopinal.

Ohne synthetisch gewonnene Vergleichssubstanzen war es unmöglich, die Aldehyde zu identifizieren. Abb. 1 gibt einen Ausschnitt aus den Arbeiten von *O. Isler und Mitarb.*⁴⁶⁾, dank deren uns eine große Zahl solcher Vergleichssubstanzen zur Verfügung stand.

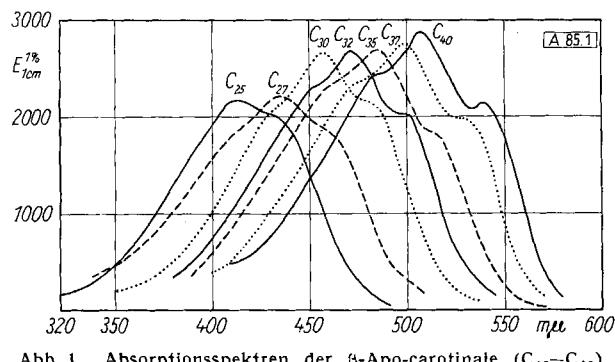
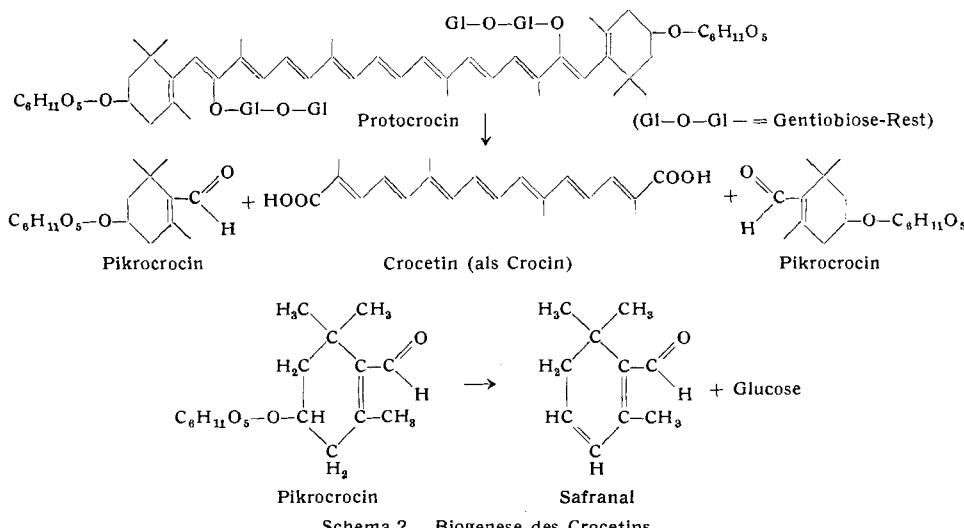


Abb. 1. Absorptionsspektren der β -Apo-carotinale (C_{25} – C_{40}) in Petroläther

	Fp [°C]	Fp [°C]	
C_{25}	88–89	C_{35}	146–147
C_{27}	97–99	C_{37}	160–161
C_{30}	138–139	C_{40}	166–168
C_{32}	133–134		

4. Biogenese der Carotinoide

Für die Biogenese der Carotinoidcarbonsäuren hatte *Richard Kuhn*⁴⁷⁾ schon frühzeitig experimentell wohl begründete Angaben gemacht.



Schema 2. Biogenese des Crocetins

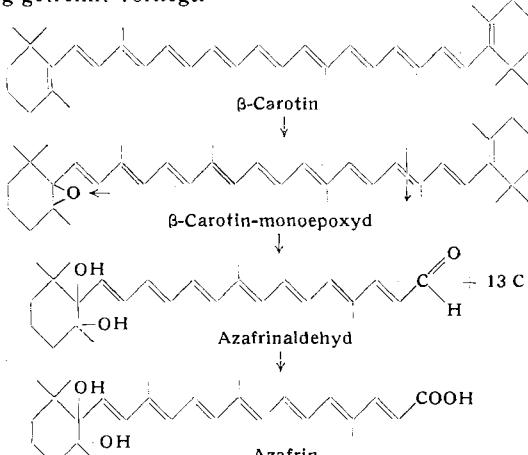
⁴⁵⁾ J. Amer. chem. Soc. 72, 234 [1950].

⁴⁶⁾ Helv. chim. Acta 42, 854 [1959].

⁴⁷⁾ R. Kuhn u. A. Winterstein, Naturwissenschaften 21, 527 [1932]; Ber. dtsch. chem. Ges. 67, 344 [1934].

Für den Fall des Crocetins nimmt man an, daß β -Carotin bzw. Zeaxanthin in der Zelle der Safrannarbe zunächst in ein labiles Tetraglykosid übergeführt wird. Dieses enthält noch das aus 40 C-Atomen bestehende Grundskelett der Carotinoide. Durch Spaltung bildet sich aus dem aliphatischen Teil des Moleküls das aus 20 C-Atomen aufgebaute Crocetin, die beiden hydroaromatischen Reste mit je 10 C-Atomen liefern den Geschmackstoff des Safrans, das Pikrocacin. Für gewisse Betrachtungen über die Biogenese der Carotinoide ist die Beobachtung, daß Pikrocacin sehr leicht in Safranal übergehen kann, von Interesse: die Abspaltung von Zucker kommt im Endeffekt einem Dehydrierungsprozeß gleich.

Versuche, mit verbesserter Methodik auch für die Biogenese des Bixin Anhaltspunkte zu gewinnen, waren insofern erfolgreich, als wir zeigen konnten, daß in den Bixasamen ein Carotinoid mit dem chromophoren System des Lycopins enthalten ist. Aldehyde dagegen, z. B. Bixinaldehyde, konnten wir nicht nachweisen. Daß im übrigen die Verhältnisse nicht immer ganz einfach sind, ergibt sich aus der Tatsache, daß Bixin in der Natur in Form einer Mono-cis-Verbindung vorkommt, wobei nach Untersuchungen von *B. C. L. Weeden*⁴⁸⁾ die cis-Bindung weder in der Mitte noch benachbart dem Carboxyl, sondern von diesem durch eine Doppelbindung getrennt vorliegt.



Schema 3. Biogenese des Azafrins

Mehr Erfolg hatten wir bei der Untersuchung der Begleitcarotinoide des Azafrins, die früher bei dessen Darstellung verworfen wurden. Die Extrakte der Wurzeln von *Escobedia scabrifolia* enthalten im Neutralteil kleine Mengen β -Carotin, β -Carotin-monoepoxid sowie den Azafrinaldehyd (C_{27}). Die Bildung des Azafrins dürfte nach diesen Befunden gemäß Schema 3 vor sich gehen.

Der vierten der bisher näher beschriebenen natürlichen Carotinoidcarbonsäuren⁴⁹⁾, dem Torularhodin, war bis vor kurzem ein C_{37} -Kohlenstoffskelett zugeschrieben worden, d. h. es mußte angenommen werden, daß dieses Carotinoid durch Abspaltung von drei C-Atomen aus einem C_{40} -Carotinoid

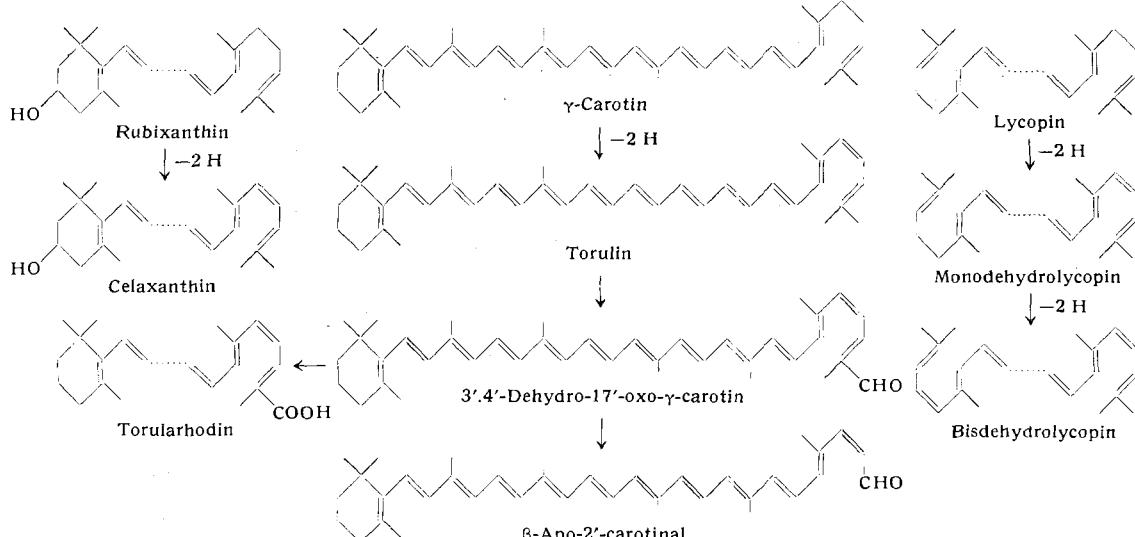
⁴⁸⁾ Privatmitteilung.

⁴⁹⁾ Wir konnten in Citrusfrüchten das Vorhandensein einer Carotinoidcarbonsäure nachweisen, die möglicherweise mit der dem Citraurin entsprechenden Säure identisch ist.

entstanden sei. Es schien damit so, als ob alle vier Carotinoidcarbonsäuren nach dem gleichen Prinzip gebildet würden, d. h. durch Oxydation eines doppelt gebundenen C-Atoms zum Carboxyl. Wie wir gefunden haben, ist der Bildungsweg jedoch ein anderer: es wird eine endständige Methylgruppe zum Carboxyl oxydiert, wobei das C₄₀-Skelett erhalten bleibt. R. Kuhn und K. Livada⁵⁰⁾ haben für die Bildung der Hildebrandtsäure aus Geranumsäure im Organismus ein Analogiebeispiel erbracht.

Oxydation des Torulins führt offensichtlich einerseits über den C₄₀-Aldehyd zum Torularhodin, andererseits zum β-Apo-2'-carotinal (C₃₇), aus welchem sich weitere niedrigere Aldehyde, wie β-Apo-8', Apo-10'- bzw. Retinen, bilden können.

Aus dem Vorkommen des Vitamins A₂ in der Natur durfte geschlossen werden, daß – ebenso wie in der Lycopin- bzw. in der γ-Carotinreihe – auch in der β-Carotinreihe Dehydrierungsreaktionen ablaufen können. Diese Vorstellung wurde durch das Auffinden des Isoreniaretens



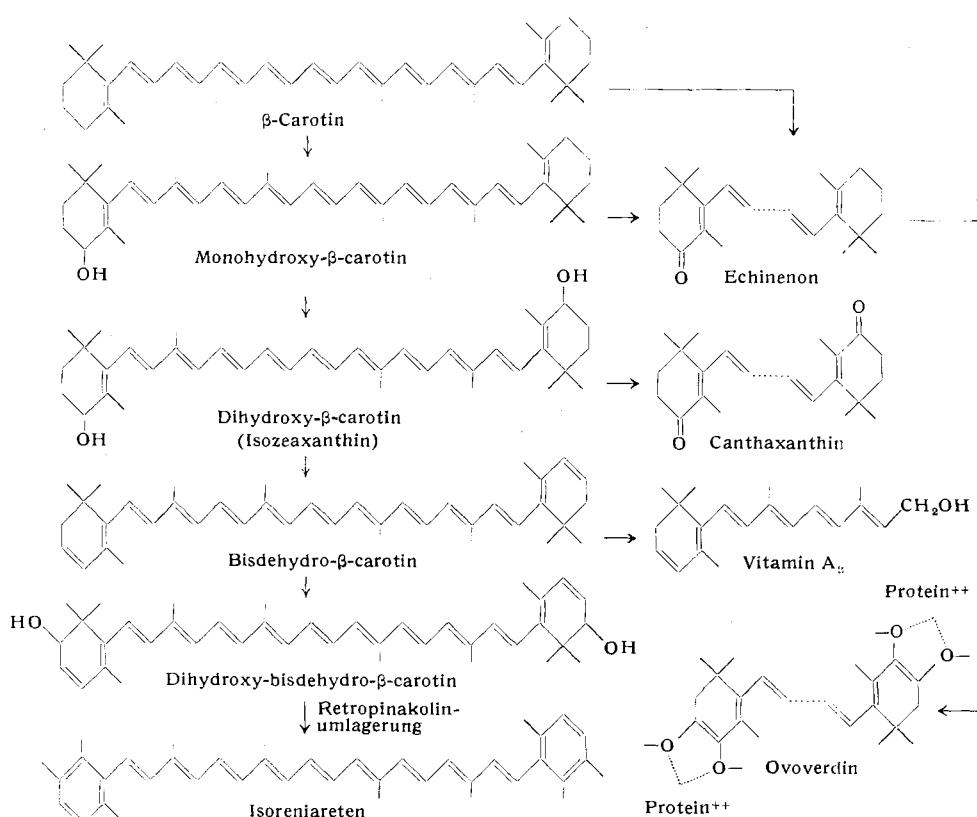
Schema 4. Biogenese einiger natürlicher Carotinoide

Die Annahme der oben erwähnten Dehydrierungsreaktionen erlaubt, das Vorkommen einer ganzen Reihe von Carotinoiden in der Natur zwanglos zu erklären. Wie aus Schema 4 ersichtlich ist, läßt sich der Dehydrierung des γ-Carotins, die zum Torulin führt, die des Rubixanthins, das in Celaxanthin übergehen kann, an die Seite stellen. Die

in der Natur ergänzt und erweitert. Im Schema 5 ist eine diskutable Hypothese über die Biogenese des Isoreniaretens wiedergegeben. Dabei ist zu bemerken, daß sich nach den Befunden von B. C. L. Weedon⁵¹⁾ Echinon durch Luftoxydation von β-Carotin, Astazin in gleicher Weise aus Echinon gewinnen läßt. Bemerkenswerterweise sind Vitamin A₂, Echinon, Astazin sowie Isoreniareten ausschließlich in Meerestieren, bzw. Süßwassertieren, das Canthaxanthin in einem Pilz sowie in einem Mikroorganismus nachgewiesen worden. Die Hydroxyverbindungen könnten wir als Vorstufen des Echinons bzw. des Canthaxanthins denken. Die vollständige Aromatisierung der beiden Ringe dürfte durch eine Retropinakolin-Umlagerung – Einführung einer Doppelbindung unter gleichzeitiger Wanderung einer Methylgruppe – erfolgen.

Vitamin A₂, Echinon, Astazin sowie Isoreniareten ausschließlich in Meerestieren, bzw. Süßwassertieren, das Canthaxanthin in einem Pilz sowie in einem Mikroorganismus nachgewiesen worden. Die Hydroxyverbindungen könnten wir als Vorstufen des Echinons bzw. des Canthaxanthins denken. Die vollständige Aromatisierung der beiden Ringe dürfte durch eine Retropinakolin-Umlagerung – Einführung einer Doppelbindung unter gleichzeitiger Wanderung einer Methylgruppe – erfolgen.

Die Anlagerung von Sauerstoff an eine Doppelbindung, die zur großen Klasse der Carotinoidepoxyde führt, ist insbesondere von P. Karrer und Mitarbeitern näher erforscht worden⁵²⁾. Es darf angenommen werden, daß diese Epoxyde Vorstufen für die weitere Abwandlung der Carotinoidmoleküle darstellen – man kann sich wohl denken, daß die Bil-

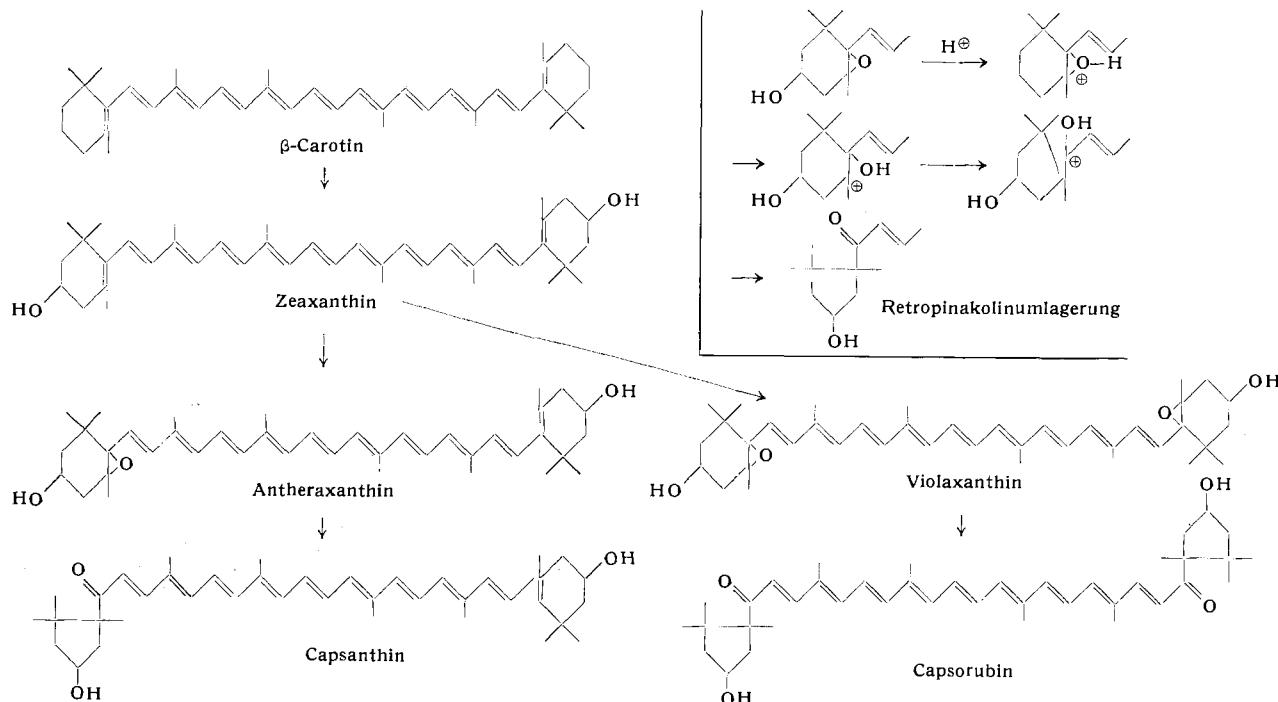


Schema 5. Biogenese des Isoreniaretens

⁵⁰⁾ Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 220, 235 [1933].

⁵¹⁾ Privatmitteilung.

⁵²⁾ Siehe hierzu E. Jucker, Angew. Chem. 71, 253 [1959].



Schema 6. Biogenese von Capsanthin und Capsorubin

dung der Aldehyde und der Säuren über diese Zwischenstufen verläuft. Ein besonders interessanter Fall einer Carotinoid-Biogenese, die offensichtlich über ein Epoxyd verläuft, liegt bei den Paprikafarbstoffen Capsanthin und Capsorubin vor. Die richtige Konstitution der beiden Paprikafarbstoffe ist erst in neuester Zeit erkannt worden. Dabei waren die Kernresonanzspektren⁵³⁾ sowie biogenetische Überlegungen wertvoll: Für Capsorubin wurde bisher eine rein aliphatische Struktur angenommen, wobei sich an den beiden Enden des Moleküls Methylgruppen befinden sollten. Im Kernresonanzspektrum waren die Protonen dieser Methylgruppen nicht sichtbar.

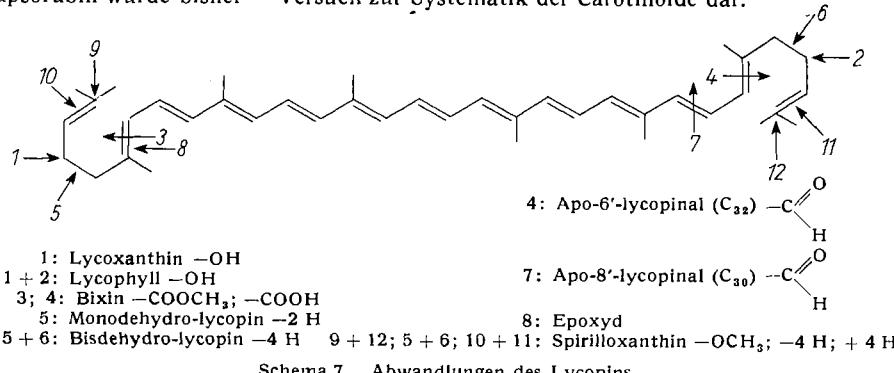
Im Schema 6 sind unsere heutigen Vorstellungen über die Biogenese von Capsanthin und Capsorubin wiedergegeben.

Die zu den beiden Paprika-pigmenten führenden Zwischenstufen, nämlich Zeaxanthin, Antheraxanthin sowie Violaxanthin sind in mehr oder weniger großen Mengen als Begleitcarotinoide nachgewiesen worden. Es gibt Paprikaarten, die sich nicht rot färben, diesen fehlt offenbar die „Retropinakolinase“ welche die hellgelb gefärbten Epoxyde in die tiefroten Paprika-pigmente umwandelt. Bei Lilien sehen wir etwas ähnliches: es gibt eine Species, die das gelbe Antheraxanthin in Capsanthin verwandeln kann, während eine andere Species diese Fähigkeit nicht besitzt⁵⁴⁾.

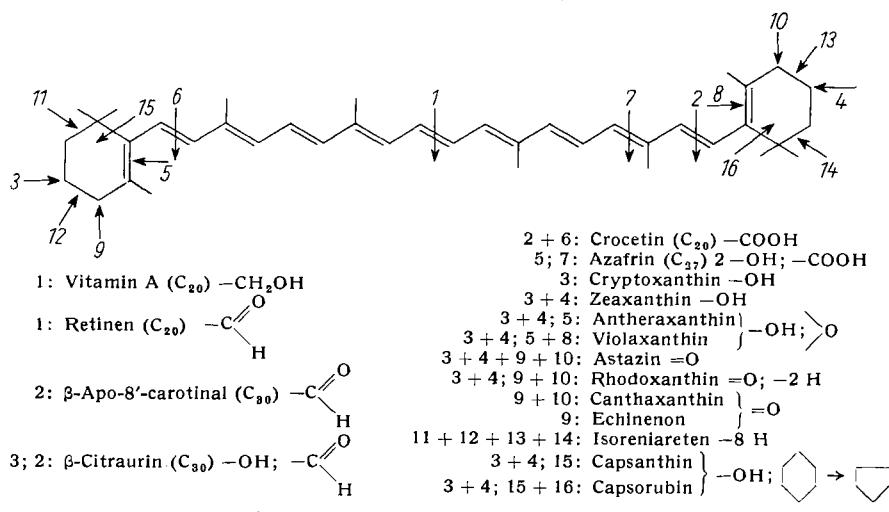
⁵³⁾ M. S. Barber, L. M. Jackman, C. K. Warren u. B. C. L. Weedon, Proc. chem. Soc. [London] 1960, 19.

5. Zur Systematik der Carotinoide

Von den 6 Grundtypen der Carotinoide, d. h. dem α -, β -, γ -, δ - und ϵ -Carotin sowie dem Lycopin gelangen wir durch Entzug von Wasserstoff, Einführung von Sauerstoff, Spaltung von Doppelbindungen, Retropinakolinumlagerungen bzw. durch Kombination dieser Reaktionen zur Vielzahl der natürlichen Carotinoide. Die Schemata 7–9 stellen einen Versuch zur Systematik der Carotinoide dar.



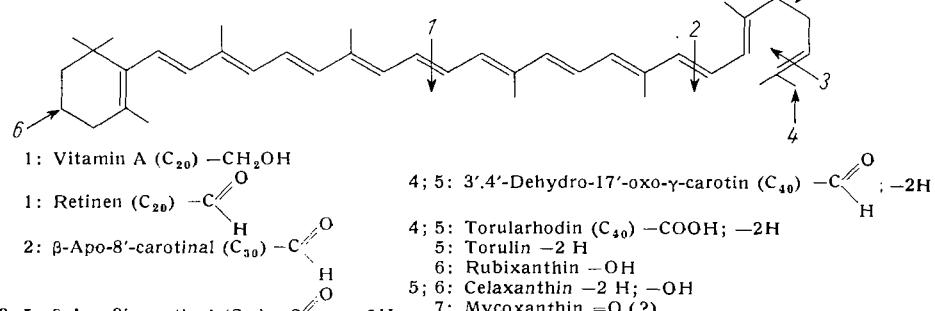
Schema 7. Abwandlungen des Lycopins



Schema 8. Abwandlungen des β -Carotins

⁵⁴⁾ G. Tappi u. P. Karrer, Helv. chim. Acta 32, 50 [1949].

Noch ungenügend erforscht sind die theoretisch zu erwartenden Abwandlungen des α -, δ - und ϵ -Carotins. Hier dürften in Zukunft noch einige Vertreter gefunden werden. Gleichermaßen dürfte für die Carotinoidcarbonsäuren zutreffen, von denen sich viele der neu gefundenen Aldehyde ableiten könnten. Wir verweisen in diesem Zusammenhang auf das Vorkommen von Torularhodin und dem C₄₀-Aldehyd in Mikroorganismen⁴⁹.



Schema 9. Abwandlungen des γ -Carotins

6. Bemerkungen zur Arbeitsmethodik

Für die Erfassung der Begleit- bzw. Spurencarotinoide sind vor allem die folgenden Erfordernisse zu berücksichtigen:

1. Verwendung synthetischer Vergleichssubstanzen
2. Einsatz der Plattenchromatographie nach E. Stahl
3. Verwendung des Spektroskopes, Messungen in CS₂
4. Rhodanin zum Nachweis der Aldehyde
5. Tracermethodik (radioaktive Semicarbazone usw.).

Dazu kommt die klassische Methode der Vorreinigung der Fraktionen im Säulenchromatogramm, durch Entmischung usw.

Ein Musterbeispiel für die Anwendung der Säulenchromatographie zur Isolierung von Carotinoiden geben in neuester Zeit E. N. Petzold, F. W. Quackenbush und Marilyn McQuistan³²). Die von diesen Forschern entdeckten Zeacarotinoide besitzen Adsorptionsaffinitäten, die denjenigen des β -Carotins sehr ähnlich sind. So lassen sich β -Zeacarotin, und β -Carotin im Dünnschichtchromatogramm z. B. mit Ca(OH)₂ + Kieselgel als Adsorptionsmittel und Benzol-Petroläther-Gemischen als Entwicklungsflüssigkeit nicht trennen. Den amerikanischen Forschern gelang aber die Abtrennung der Zeacarotinoide von β -Carotin aus vorgereinigten Extrakten von gelbem Mais in 3 Säulenchromatogrammen, wobei zuerst MgO, dann Al₂O₃ und schließlich Ca(OH)₂ als Adsorptionsmittel verwendet wurde. In Nacharbeitung dieser Vorschrift kommen wir zum Er-

gebnis, daß das Vorhandensein von β -Zeacarotin in der β -Carotinzone eines Chromatogramms sehr leicht übersehen werden kann. Wir halten es für möglich, daß β -Zeacarotin in der Natur weit verbreitet ist.

Die Menge der Begleitcarotinoide ist häufig derart gering, daß ihre Isolierung praktisch fast unmöglich ist. Man muß sich damit begnügen, den Nachweis mit einer „an

Sicherheit grenzenden Wahrscheinlichkeit“ zu führen. Für einen solchen Nachweis sind synthetische Vergleichssubstanzen, wie sie uns in immer größerer Zahl zur Verfügung stehen, unerlässlich. Die Zusammenarbeit zwischen Analyse und Synthese muß vollkommen sein. Befunde über Spurencarotinoide, die nicht gestützt sind durch Einsatz der entsprechenden Vergleichssubstanzen, sind mit Vorsicht zu interpretieren.

Für die Konstitutionsaufklärung gewisser Carotinoide erweist sich, wie erwähnt, die Aufnahme von Protonenresonanzspektren als wertvoll⁵⁵). Die Spektren von β -Carotin

und β -Apo-8'-carotinal sind in Abb. 2 und 3 wiedergegeben. Im Bereich von 324 Hz sieht man in beiden Fällen die Doppelbindungsprotonen, im Falle des β -Apo-

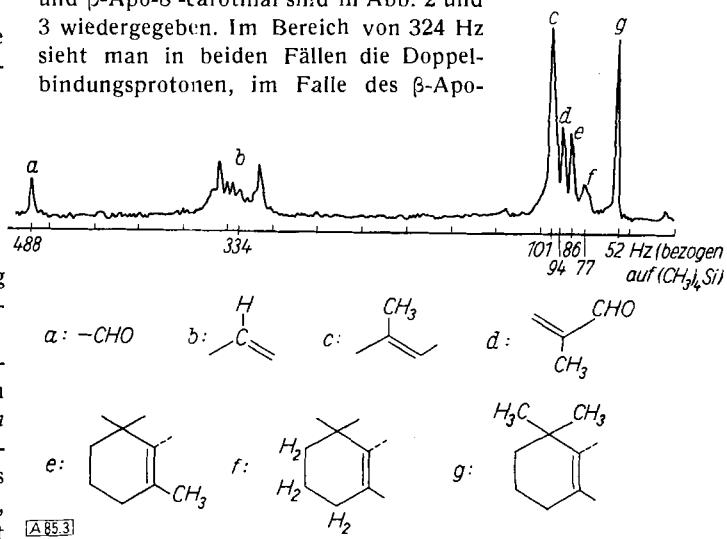


Abb. 3. Protonenresonanzspektrum von β -Apo-8'-carotinal

8'-carotinals bei 488 Hz das Aldehydproton, bei 52 Hz die Protonen der geminalen Methylgruppen des Ringsystems. Im Falle des β -Carotins erhält man für die Methylgruppen

[A 85.4]

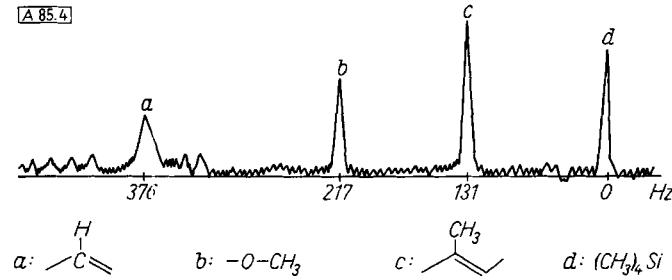


Abb. 4. Protonenresonanzspektrum von Methylbixin

der aliphatischen Kette eine einzige Resonanz bei 99 Hz, während im asymmetrischen β -Apo-8'-carotinal diese Resonanz in zwei Banden aufgespalten ist. Ein wesentlich einfacheres Spektrum liefert das Methylbixin (Abb. 4), da hier keine Resonanzen des alicyclischen Kerns auftreten.

Eingegangen am 18. August 1960 [A 85]

⁵⁵⁾ Dr. C. von Planta danken wir verbindlichst für diese Aufnahmen.

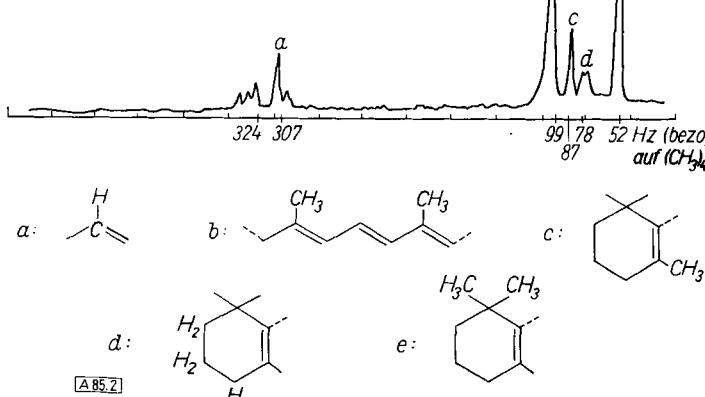


Abb. 2. Protonenresonanzspektrum von trans- β -Carotin