

Tabelle 9.

## Hydrolyse von Clupein mit Carboxy-Polypeptidase und Proteinase und enzymatischer Wirkungsbereich.

(2.0 g Clupein-Sulfat, luft-trocken, im Gesamtvolumen von 100 ccm; Enzym-Einwirkung vorgenommen bis zur Konstanz des Aciditäts-Zuwachses und durch erneute Enzym-Zugabe kontrolliert; pH = 8.4, 35°; Angaben beziehen sich auf die in der Analysenprobe enthaltene Menge von 0.10 g Clupein-Sulfat entspr. 0.071 g wasser- und asche-freies Clupein)

| Vers. Nr. | Angew. Enzym  | Angew. Einh. (insges.) | Zeit Std. | Aciditäts-Zuwachs ccm 0.05-n. |
|-----------|---|------------------------|-----------|-------------------------------|
| 1a        | Proteinase (aktiviert) .....                                      | 12 T.-(e.)             | 7         | 3.13                          |
| 1b        | Carboxy-Polypeptidase (akt.)<br>nach Proteinase (akt.) .....      | 0.1133<br>C.-Pol.-E.   | 38        | 3.30                          |
| 2         | Proteinase (akt.) + Carboxy-Polypept. (akt.) <sup>18)</sup> ..... | —                      | 24        | 6.30                          |
| 3         | Carboxy-Polypeptidase (aktivator-frei) <sup>19)</sup> .....       | —                      | 8         | 1.80                          |

Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft danken wir ergebenst für die zur Verfügung gestellten Mittel.

### 359. L. Zechmeister und P. Tuzson: Zur Kenntnis des Xanthophylls (II. Mittel.).

[Aus d. Chem. Institut d. Universität Pécs, Ungarn.]  
(Eingegangen am 2. August 1929.)

In der I. Mitteilung<sup>1)</sup> ist gezeigt worden, daß Xanthophyll, ein typischer Polyen-Farbstoff, bei der katalytischen Hydrierung, wie Carotin, 22 Wasserstoff-Atome bindet. Aus dem Verlauf der colorimetrischen Hydrierungskurve wurde auf die Gleichheit der ungesättigten Systeme in den beiden gelben Blattfarbstoffen geschlossen. Unabhängig von uns sind auch R. Pummerer und seine Mitarbeiter<sup>2)</sup> zur Überzeugung gelangt, daß die beiden Chromogene identisch sind; die nahe Struktur-Verwandtschaft zwischen Carotin und Xanthophyll wird auch durch die von ihnen mitgeteilten Absorptionskurven schön illustriert. Der Beobachtung von R. Pummerer und L. Rebmann, daß Benzopersäure nur 8 Doppelbindungen des Carotin- oder Xanthophyll-Moleküls erfaßt, können die untenstehenden Versuche angereicht werden, wonach Brom in Chloroform-Lösung gleichfalls 8 Doppelbindungen sättigt. Erst sekundär machen sich Umwandlungen geltend, die mit einer Abgabe von Bromwasserstoff verknüpft sind.

<sup>18)</sup> Zuzolge E. Waldschmidt-Leitz, A. Schöffner und W. Grassmann, Ztschr. physiol. Chem. **156**, 68, u. zw. S. 91 [1926].

<sup>19)</sup> Zuzolge E. Waldschmidt-Leitz, A. Schöffner und W. Grassmann, a. a. O., u. zw. S. 89. <sup>1)</sup> B. **61**, 2003 [1928].

<sup>2)</sup> R. Pummerer und L. Rebmann, B. **61**, 1090 [1928]; mit W. Reindel, B. **62**, 1411 [1929].

Zur Isolierung von Xanthophyll haben wir zunächst die grundlegende Methode von R. Willstätter und A. Stoll<sup>3)</sup> angewandt, die von Aceton-Extrakten der Brennessel ausgeht und die Gewinnung aller vier Komponenten des Blattgrüns in guter Ausbeute gestattet. Später versuchten wir, eine vereinfachte Arbeitsweise zu finden, zwecks rascher Darstellung von größeren Xanthophyll-Mengen, bei möglichster Sparsamkeit an teuren Lösungsmitteln, unter Verzicht auf Chlorophyll und Carotin. Wie unten beschrieben wird, ziehen wir das Mehl mit wasserhaltigem Alkohol aus und befolgen dann einen Weg, der schon von R. Willstätter und W. Mieg<sup>4)</sup> vorgezeichnet und nur noch näher auszuarbeiten war. Die genannten Forscher haben 12 g Xanthophyll aus Chlorophyllin-Mutterlaugen von 100 kg Brennesseln als Nebenprodukt gewonnen und halten diese Ausbeute für verbesserungsfähig. In der Tat kann mit mäßigem Zeit- und Kostenaufwand mindestens die Hälfte des colorimetrisch ermittelten Xanthophyll-Gehaltes analysenrein gewonnen werden.

Mit den neuen Präparaten wurden zunächst die jüngst veröffentlichten Versuche bestätigt. Bei der katalytischen Hydrierung trat nach Aufnahme von 8 H<sub>2</sub> Farblosigkeit ein, und das Zwischenprodukt besaß die Zusammensetzung eines Hexadekahydro-xanthophylls. Bei der Untersuchung des Perhydro-Körpers zeigte sich indessen eine neue Erscheinung. Während wir Perhydro-xanthophyll als linksdrehend beschrieben haben ( $[\alpha]_D = -9$  bis  $10^0$ , in Chloroform), drehen die neuen Präparate alle nach rechts z. B. ist  $[\alpha]_D = +28^0$ . Auch das Aceton-Verfahren liefert mit unserem jetzigen Pflanzenmaterial Xanthophylle, deren Perhydro-Körper zwar schwächer, aber immerhin nach rechts drehen ( $[\alpha]_D = +21^0$ ). Daß uns kein Irrtum betr. Drehungsrichtung unterlaufen ist, ging aus dem unmittelbaren Vergleich der alten und neuen Präparate im Polarimeter hervor, sowie aus der analytischen Kontrolle der verschiedenen Farbstoffproben.

Es war aber auch zu prüfen, ob Perhydro-xanthophyll zur Racemisierung neigt, oder gar zur Umkehr seiner Drehungsrichtung, unter Einfluß von äußeren Faktoren. Dies ist nicht der Fall; denn ein linksdrehendes Präparat, das mehrere Stunden auf  $80^0$  erwärmt und dann ein Jahr stehen gelassen wurde, wies ein unverändertes Rotationsvermögen auf:  $[\alpha]_D = -10^0$ ,  $[\alpha]_C = -7.5^0$  (in Chloroform).

Durch diese Erscheinungen wurde für uns die öfters erörterte, pflanzenphysiologisch nicht unwichtige Frage betr. Einheitlichkeit oder zusammengesetzte Natur des Xanthophylls wieder aufgerollt. Während es bisher nur gelang, ein chemisch definiertes, krystallinisches Blatt-Xanthophyll zu isolieren, kam schon M. Tswett<sup>5)</sup> auf Grund von chromatographischen Adsorptions-Analysen zur Überzeugung, daß mindestens drei, vielleicht vier Xanthophylle im Blatte vorliegen. Ähnliche Beobachtungen wurden auch später, z. B. von L. S. Palmer und C. Eckles gemacht<sup>6)</sup>. R. Willstätter und A. Stoll<sup>7)</sup> lassen (1913) die Frage nach der Einheitlichkeit des Xanthophylls noch offen und urteilen über die Tswettschen

<sup>3)</sup> Untersuchungen über Chlorophyll, Berlin [1913].

<sup>4)</sup> A. 355, 1, u. zw. S. 13—14 [1907].

<sup>5)</sup> Ber. Botan. Ges. 24, 316, 384 [1906].

<sup>6)</sup> Zitiert nach L. S. Palmer, Carotinoids and related pigments, New York [1922].  
Dort auch weitere Literatur.

<sup>7)</sup> Ann. 3, S. 235.

Befunde: „Es ist nicht unmöglich, daß die Annahme des verdienten Botanikers, wie so viele seiner Beobachtungen zutrifft. Wenn wir die außerordentliche Ähnlichkeit des Xanthophylls der Blätter mit dem . . . Xanthophyll aus dem Hühner-Eidotter — nur der Schmelzpunkt ist unterscheidend — berücksichtigen, so können wir die Möglichkeit nicht ausschließen, daß die Krystalle des Xanthophylls der Chloroplasten aus sehr ähnlichen isomorphen und isomeren Körpern bestehen, für deren Trennung wir keine präparativen Methoden haben. Indessen wäre es auch möglich, daß bei der chromatographischen Analyse Xanthophyll durch Oxydation, der es in adsorbiertem Zustande besonders leicht unterliegt, Veränderungen erlitten hat.“ Neuerdings haben P. Karrer, H. Salomon und H. Wehrli<sup>8)</sup> Zweifel an der Einheitlichkeit des Blatt-Xanthophylls geäußert, nachdem es ihnen gelungen ist, den Schmelzpunkt durch häufiges Umkrystallisieren aus Methylalkohol in überraschendem Maße, bis in die Nähe des Lutein-Schmelzpunktes, nämlich auf 186–187<sup>0</sup> (unkorr.), zu steigern. Auch uns sind ausnahmsweise höhere Schmelzpunkte als üblich (172–174<sup>0</sup>, korr.) vorgekommen, bis zu 179–180<sup>0</sup> (korr., im Ölbad bestimmt).

Der skizzierte Sachverhalt regte dazu an, den Farbstoff selbst polarimetrisch zu prüfen. Xanthophyll ist relativ farbschwach und so stark optisch aktiv, daß man nur eine passende Wellenlänge auf Grund des Spektrums zu wählen braucht, um die Messung, unter Benutzung eines Monochromators als Lichtquelle, auf einige Procente genau ausführen zu können. Unsere Präparate drehen alle nach rechts. Während aber die spezif. Drehung nach Anwendung des Aceton-Verfahrens z. B.  $[\alpha]_D = +137^0$  betrug, ergab dasselbe Pflanzenmaterial, mit Alkohol extrahiert und wie unten beschrieben verarbeitet, gleichfalls analysenreine Präparate mit viel stärkerem Rotationsvermögen, bis zu  $[\alpha]_D = +192^0$  hinauf. Als wir dann in einer zweiten Versuchsreihe von selbstgesammelten Brennesseln ausgingen, waren die Unterschiede geringer, lagen aber merkwürdigerweise in der umgekehrten Richtung. Gefunden wurde nach Anwendung des Verfahrens von R. Willstätter und A. Stoll:  $[\alpha]_D = +162.5^0$  und nach der Alkohol-Methode:  $[\alpha]_D = +139^0$ .

Um dem Einwand zu begegnen, daß das Rotationsvermögen durch die Lösungsmittel beeinflusst werde, haben wir das nach der Alkohol-Methode gewonnene Xanthophyll in Aceton-Lösung aufbewahrt und gleichzeitig ein aus dem Aceton-Extrakt stammendes Präparat in alkoholischer Lösung stehen gelassen. In beiden Fällen blieb der Drehungswinkel (nach Zurückführung in Chloroform) praktisch unverändert.

Das heute mitgeteilte Versuchsmaterial deutet also darauf hin, daß das Xanthophyll des grünen Blattes aus einander sehr ähnlichen, aber ungleich drehenden Komponenten besteht, die sich während der dauernden Beschäftigung mit dem Farbstoff mehr zufällig verraten haben und deren — jedenfalls schwierige — planmäßige Trennung (sowie der optische Vergleich von Xanthophyll-Präparaten verschiedener Herkunft) späteren Versuchen vorbehalten werden muß. Die vorliegende Notiz möge auf die Nützlichkeit der Polarimetrie auf dem Gebiete der Pflanzen-Polyene aufmerksam machen.

<sup>8)</sup> Helv. chim. Acta 12, 790 [1929].

### Beschreibung der Versuche.

#### I. Isolierung von Xanthophyll aus Brennesseln.

Je 2 kg an der Luft bei 30–35° getrockneten Brennessel-Mehls werden behufs Auflockerung  $\frac{1}{2}$  Tag mit 2 l 90-proz. Äthylalkohol in einer geschlossenen Pulverflasche vorbehandelt und dann auf einer großen Nutsche (Durchmesser 50 cm)<sup>9)</sup> extrahiert. Man übergießt mit 1 l des Alkohols, wartet, saugt gelinde und wiederholt diese Operationen etwa 5-mal, bis die Droge fast erschöpft ist. Zum Schluß wird scharf abgesaugt. Der filtrierte, tiefgrüne Auszug (etwa 5 l) wird mit 4 l Äther vermergt und mit 7 l Wasser entmischt, das man literweise, zunächst rascher, dann bei Beginn der Trennung sehr vorsichtig, unter schwachem Schwenken zufließen läßt. Die Oberschicht soll jetzt mit 75 ccm 30-proz. methylalkoholischem Kali 1 Stde. an der Maschine geschüttelt werden. Nun erneuert man die Lauge und läßt die Flüssigkeiten in einer breiten Flasche  $\frac{1}{2}$ –1 Tag stehen. Die ätherische Schicht wird dann abgehoben und die alkalische 1-mal mit Äther extrahiert.

Die vereinigten Äther-Lösungen wäscht man alkali-frei, trocknet sie mit Natriumsulfat und engt auf 40–50 ccm ein, gegen Ende gelinde saugend. Die dicke, rote Flüssigkeit, die bereits zum Krystallisieren neigt, wird mit etwas Äther in einen Erlenmeyer-Kolben gespült und mit 300 ccm Petroläther versetzt, wobei das zinnoberrote, pulvrige Rohprodukt (meist 50–65% Farbstoff enthaltend) sofort ausfällt. Man saugt nach kurzem Stehen ab<sup>10)</sup>, kocht mit soviel reinem Methylalkohol (z. B. mit 200 ccm), daß noch eine Spur Substanz ungelöst bleibt, und filtriert rasch. Bereits in der warmen Lösung erscheinen glänzende Täfelchen, die sich alsbald vermehren.

Aus der Mutterlauge kann noch etwas Xanthophyll gewonnen werden, wenn man sie im Vakuum stark konzentriert, das ausgeschiedene, ziemlich unreine Material durch Behandlung mit warmem Petroläther von farblosen Beimengungen befreit und das zurückgebliebene Präparat 1–2-mal aus Holzgeist umkrystallisiert.

#### II. Zur katalytischen Hydrierung von Xanthophyll.

Die Perhydrierung der neuen Präparate ergab z. B.: 0.7429 g Sbst. in 250 ccm Eisessig nahmen 360 ccm Wasserstoff bei 21° und 737 mm (korr.) auf, entspr. 324 ccm bei 0°, 760 mm; ber. 322 ccm.

Bei anderen Versuchen wurde die Hydrierung nach Aufnahme von 8 H<sub>2</sub> unterbrochen: a) 0.7560 g Xanthophyll haben 269 ccm Wasserstoff bei 23°, 737.5 mm (korr.) aufgenommen und b) 0.7319 g Sbst. 255 ccm, bei 17°, 730 mm. Von der ursprünglichen Farbstärke waren dann a) 99.8% bzw. b) 99.5% verloren gegangen.

Die Reaktionsflüssigkeit wurde in Wasser gegossen, ausgeäthert und mit Tierkohle von Farbstoff-Spuren befreit. Die getrocknete Lösung hinterließ ein farbloses, dickes, rechtsdrehendes Öl, das etwas intensiver als Perhydro-xanthophyll riecht und die Zusammensetzung eines Hexadekahydro-xanthophylls besitzt.

0.1944 g Sbst.: 0.5827 g CO<sub>2</sub>, 0.2128 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>40</sub>H<sub>72</sub>O<sub>2</sub>. Ber. C 82.11, H 12.42. Gef. C 81.75, H 12.25.

$[\alpha]_D^{18} = (100 \times 1.45) : (4 \times 1.366) = +26.5^\circ$  (in Benzol).

$[\alpha]_D^{18} = (100 \times 0.64) : (2 \times 1.379) = +23.2^\circ$  (in Chloroform).

<sup>9)</sup> Abgebildet bei Willstätter und Stoll, l. c. S. 75.

<sup>10)</sup> Aus der Mutterlauge kann Sitosterin gewonnen werden: Ztschr. physiol. Chem. 183, 74 [1929].

## III. Drehungsvermögen von Xanthophyll.

## Erste Versuchsreihe.

a) Nach dem Aceton-Verfahren gewonnenes Xanthophyll (Schmp. 175—176°, korr.)<sup>11)</sup> ergab folgende Zahlen:

0.1675 g Sbst.: 0.5171 g CO<sub>2</sub>, 0.1496 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>40</sub>H<sub>56</sub>O<sub>2</sub>. Ber. C 84.44, H 9.93. Gef. C 84.19, H 9.99.

$[\alpha]_D^{18} = (100 \times 0.24) : (2 \times 0.0874) = +137^\circ$  (in Chloroform).

Die katalytische Hydrierung führte zu einem Präparat mit nachstehenden Daten:

0.1549 g Sbst.: 0.4607 g CO<sub>2</sub>, 0.1826 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>40</sub>H<sub>78</sub>O<sub>2</sub>. Ber. C 81.27, H 13.31. Gef. C 81.12, H 13.19.

$[\alpha]_D^{18} = (100 \times 0.67) : (4 \times 0.7972) = +21^\circ$  (in Chloroform).

$[\alpha]_D^{18} = (100 \times 0.89) : (4 \times 0.7972) = +28^\circ$  (in Chloroform).

Die Differenz zwischen dem spez. Drehungsvermögen von Farbstoff und Perhydro-Derivat beträgt **116°**.

b) Ein nach dem Alkohol-Verfahren isoliertes Xanthophyll-Präparat (aus derselben Droge, Schmp. wie oben) ergab:

0.1418 g Sbst.: 0.4381 g CO<sub>2</sub>, 0.1280 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>40</sub>H<sub>56</sub>O<sub>2</sub>. Ber. C 84.44, H 9.93. Gef. C 84.26, H 10.10.

$[\alpha]_D^{18} = (100 \times 0.40) : (1 \times 0.2083) = +192^\circ$  (in Chloroform).

Eine zweite, davon unabhängig bereitete Xanthophyll-Probe lieferte folgende Zahlen:

0.1853 g Sbst.: 0.5725 g CO<sub>2</sub>, 0.1646 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>40</sub>H<sub>56</sub>O<sub>2</sub>. Ber. C 84.44, H 9.93. Gef. C 84.26, H 9.94.

$[\alpha]_D^{18} = (100 \times 0.45) : (2 \times 0.1290) = +174^\circ$  (in Chloroform).

Mit dem 192° drehenden Präparat wurde die Hydrierung durchgeführt und das Perhydro-Derivat untersucht:

0.1388 g Sbst.: 0.4125 g CO<sub>2</sub>, 0.1637 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>40</sub>H<sub>78</sub>O<sub>2</sub>. Ber. C 81.27, H 13.31. Gef. C 81.05, H 13.20.

$[\alpha]_D^{18} = (100 \times 0.53) : (4 \times 0.8084) = +16.4^\circ$  (in Chloroform).

$[\alpha]_D^{18} = (100 \times 0.68) : (4 \times 0.8084) = +21^\circ$  (in Chloroform).

Die Drehungsdifferenz von Farbstoff und Perhydro-Verbindung beträgt rund **176°**.

## Zweite Versuchsreihe.

a) Reines Xanthophyll nach dem Aceton-Verfahren bereitet (Schmp. 175.5° bis 176.5°, korr., im Ölbad) drehte:

$[\alpha]_D^{27} = (100 \times 0.34) : (2 \times 0.1058) = +161^\circ$ .

Ein zweites, von der obigen vollkommen getrennt, aus der gleichen Brennessel-Probe erhaltene Präparat (Schmp. 176—177°, korr.) ergab:

$[\alpha]_D^{27} = (100 \times 0.33) : (2 \times 0.1006) = +164^\circ$ . Mittelwert: **+162.5°**.

b) Aus der gleichen Droge wurden zwei voneinander unabhängige Xanthophyll-Proben nach der Alkohol-Methode isoliert (Schmp. 175.5—176.5°, korr.):

$[\alpha]_D^{27} = (100 \times 0.28) : (2 \times 0.0984) = +142^\circ$ .

$[\alpha]_D^{27} = (100 \times 0.30) : (2 \times 0.1102) = +136^\circ$ . Mittelwert: **+139°**.

Die Ablesungen waren scharf, die Fehler im Drehungswinkel müssen unter 0.01° liegen.

<sup>11)</sup> Im Ölbad bestimmt; im Kupferblock nach E. Berl finden wir um etwa 3° niedrigere Schmelzpunkte. Bekanntlich ist die Art des Erhitzens von Einfluß, da der geschmolzene Farbstoff bereits etwas zersetzt ist.

## IV. Einwirkung von Brom in Chloroform auf Carotin und Xanthophyll.

Die Umsetzung mit unverdünntem Brom ist bereits von R. Willstätter und H. H. Escher<sup>12)</sup> studiert worden. Die Farbstoffe lösen sich in dem Halogen, worauf eine lebhaftere Reaktion, unter reichlicher Abgabe von Bromwasserstoff, einsetzt. Carotin lieferte ein Produkt von der Zusammensetzung  $C_{40}H_{36}Br_{22}$ , Xanthophyll eine gleichfalls sauerstoff-freie Substanz  $C_{40}H_{40}Br_{22}$ .

Wir untersuchten das Verhalten der beiden Pigmente gegenüber verdünnten Bromlösungen in Chloroform, u. a. um die aufgenommene Halogen-Menge zu ermitteln und den Additionsvorgang von sekundären, mit HBr-Entwicklung verbundenen Vorgängen, soweit möglich, zeitlich zu trennen. Daß Carotin und Xanthophyll unter solchen Bedingungen mit großer Geschwindigkeit farblose Additionsprodukte liefern, geht schon aus folgendem Reagensglas-Versuch hervor: Man versetzt die Farbstoff-Lösung (wenige mg in 5 ccm  $CHCl_3$ ) mit überschüssiger 0.1-n. Brom-Lösung (in  $CHCl_3$ ), schwenkt um, fügt Thiosulfat-Lösung zu und schüttelt kurz, aber kräftig; beide Schichten werden vollkommen farblos. Erst beim Stehen tritt allmählich eine rötlichbraune Nuance auf und entweicht langsam Bromwasserstoff. Durch einen weiteren Halogen-Zusatz wird die Farbe nicht mehr beeinflusst.

Fügt man zu den verd. Farbstoff-Lösungen allmählich 4, 6, 8 und 10 Mole Brom (0.1-n.), so kann folgendes beobachtet werden: Nach Zusatz von 4  $Br_2$ : Carotin bräunlich-rot, Tinktion sehr geschwächt, Xanthophyll dunkelgrünlich, sehr schwach tingierend; Zusatz von 6  $Br_2$ : Carotin wie beschrieben, Xanthophyll in der Aufsicht grünlichschwarz, in der Durchsicht grünlichbraun; Zusatz von 8  $Br_2$ : beide Lösungen fast entfärbt, die Carotin-Lösung besitzt einen bräunlichen Stich, die Xanthophyll-Lösung ist eben wahrnehmbar grünlich. Mit mehr Brom tritt die Farbe des freien Halogens auf.

Die beiden Farbstoffe können qualitativ unterschieden werden: Man löst 3 mg Substanz in 3 ccm Chloroform und versetzt bei 10–20° mit etwa 0.5 ccm einer 0.1-n. Brom-Lösung (in  $CHCl_3$ ). Nur beim Xanthophyll tritt übergangsweise eine schöne olivgrüne Farbe auf, die später in bräunlich umschlägt. Nie konnten wir diese grüne Phase mit Carotin hervorrufen; dagegen haben R. Kuhn und A. Winterstein<sup>13)</sup> eine analoge Farberscheinung bei synthetischen Polyenen beobachtet.

Eine ähnlich intensive olivgrüne Färbung tritt übrigens auch auf, wenn man etwas Xanthophyll in der ungefähr erforderlichen Menge Methylalkohol heiß löst und zur orangegelb tingierenden Flüssigkeit  $\frac{1}{2}$  Tropfen einer verd. Ferrichlorid-Lösung fügt. Die Farbe ist auch nach 1-tägigem Stehen nicht abgebläßt; fällt man das Eisen mit 1 Tropfen Ammoniak, so wird keine Xanthophyll-Lösung regeneriert, sondern eine blaßgelbe Flüssigkeit, ohne Tingiervermögen.

Zur quantitativen Bestimmung des addierten Broms wurde eine abgewogene Farbstoffmenge in sorgfältig gereinigtem, auch mit Brom vorbehandeltem Chloroform gelöst, mit einem Überschuß der 0.1-n. Bromlösung bei 5–10° vermengt und nach Ablauf der beabsichtigten Reaktionsdauer, nachdem Jodkalium-Lösung zugefügt worden ist, mit 0.1-n. Thiosulfat unter andauerndem Schütteln titriert (gegen Ende Stärke-Zusatz).

<sup>12)</sup> Ztschr. physiol. Chem. **64**, 47 [1910]; H. H. Escher, Zur Kenntnis des Carotins und des Lycopins, Dissertat., Zürich [1909].

<sup>13)</sup> Helv. chim. Acta **11**, 123, u. zw. S. 142 [1928].

Beträgt die Einwirkungsdauer nicht über 1–2 Stdn., so liegen die gefundenen Werte in der Nähe von 8 Br<sub>2</sub>. Allerdings ist der Brom-Verbrauch bei verschiedenen Versuchsreihen der Zeit nicht proportional, offenbar, weil die Addition mit großer Geschwindigkeit verläuft, die sekundären Reaktionen aber, infolge kleiner Zufälligkeiten, mehr oder weniger rasch eintreten. Auch ist die Titration mit gewissen Fehlern behaftet. Im allgemeinen scheint Carotin etwas träger zu reagieren. Beispiele:

| Farbstoff        | g<br>Sbst. | Dauer<br>Min. | verbraucht ccm<br>o. i. n. Brom | addiert<br>Mole Br <sub>2</sub> |
|------------------|------------|---------------|---------------------------------|---------------------------------|
| Carotin .....    | 0.0551     | 2             | 15.92                           | 7.7                             |
| „ .....          | 0.0425     | 5             | 12.13                           | 7.7                             |
| „ .....          | 0.0456     | 30            | 13.42                           | 7.9                             |
| Xanthophyll..... | 0.0400     | 15            | 11.12                           | 7.9                             |
| „ .....          | 0.0400     | 60            | 11.84                           | 8.4                             |
| „ .....          | 0.0400     | 180           | 11.96                           | 8.5                             |

### 360. L. Zechmeister und V. Vrabély: Zur Deutung der colorimetrischen Hydrierungskurve von Carotinoiden.

[Aus d. Chem. Institut d. Universität Pécs, Ungarn.]

(Eingegangen am 2. August 1929.)

In einem Beitrag zum Konstitutionsproblem des Carotins wurde untersucht, in welcher Weise die Farbintensität der Lösung bei fortschreitender katalytischen Hydrierung sinkt<sup>1)</sup>. Stellt man die jeweilige Farbstärke in Abhängigkeit von der Gasaufnahme graphisch dar, so entsteht eine für Carotin und Xanthophyll<sup>2)</sup> sehr ähnliche, charakteristische Kurve. Aus ihrem weitgehend geradlinigen Verlauf und der völligen Entfärbung der Flüssigkeit in einem Zeitpunkte, als noch die Aufnahme von 3 Mol. Wasserstoff aussteht, wurde gefolgert, daß sich das ungesättigte System in zwei Gruppen scheiden läßt, nämlich in 8 konjugierte, leicht hydrierbare und in 3 schwerer reduzierbare Doppelbindungen. Dazu mußte allerdings der folgende Vorbehalt gemacht werden: „Es sei . . . hervorgehoben, daß die gegebene Deutung der beiden Kurven voraussetzt, daß der von R. Kuhn und A. Winterstein für konjugierte Systeme festgestellte Verlauf der katalytischen Hydrierung (der graphisch eine durchlaufende Gerade ergibt) auch für die vorliegenden komplizierten Gebilde streng gilt. Sollte sich dies in der Folge nicht bewahrheiten, so wird dem in der Theorie natürlich Rechnung zu tragen sein.“<sup>3)</sup>

Zur Gewinnung einer kritischen Grundlage für die Beurteilung derartiger Kurven schien es uns nützlich, einen konstitutionell geklärten Polyen-Farbstoff mit der gleichen Methode zu untersuchen. Wir wählten dazu das Bixin, C<sub>25</sub>H<sub>30</sub>O<sub>4</sub> (in Form seines leichter löslichen Methylesters), dessen Strukturformel von R. Kuhn und A. Winterstein<sup>4)</sup> aufgestellt wurde. Von den 25 Kohlenstoff-Atomen des natürlichen Pigments liegen bekanntlich 3 in COOH- bzw. COOCH<sub>3</sub>-Gruppen vor, weitere 4 wurden als Methyl-Seitenketten ermittelt<sup>5)</sup>, so daß 18 C-Atome 9 Doppelbindungen tragen müssen, an deren ununterbrochenen Konjugation nicht zu zweifeln ist.

<sup>1)</sup> B. 61, 1534 [1928].

<sup>2)</sup> B. 61, 2003 [1928].

<sup>3)</sup> B. 61, 2005 [1928].

<sup>4)</sup> Helv. chim. Acta 11, 427 [1928].

<sup>5)</sup> R. Kuhn, A. Winterstein und L. Karlovitz, Helv. chim. Acta 12, 64 [1929].