

126. Richard Kuhn und Edgar Lederer: Iso-carotin (Über das Vitamin des Wachstums, III. Mitteil.).

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizin. Forschung, Heidelberg, Institut für Chemie.]
(Eingegangen am 17. Februar 1932.)

Die erste Mitteilung über die Fraktionierung des Carotins und über die Isolierung des α -Carotins in reinem Zustand¹⁾ enthält bereits die kurze Beschreibung eines dritten Carotins, das aus dem Tetrajodid durch Zerlegung mit Thiosulfat oder Quecksilber erhältlich ist und sich durch viel langwelligere Absorptionsbanden auszeichnet. Dieser Farbstoff, dem wir den Namen Iso-carotin gaben, ist kein Bestandteil des natürlichen Karotten-Farbstoffs, sondern ein Umwandlungsprodukt desselben. Die nähere Untersuchung hat ergeben, daß sich das Iso-carotin ausschließlich aus dem optisch inaktiven β -Carotin bildet, während aus dem aktiven α -Carotin unter denselben Bedingungen kein entsprechender Farbstoff erhalten werden konnte.

Im Gegensatz zu α - und β -Carotin ist Iso-carotin an A-vitamin-frei ernährten Ratten, auch in verhältnismäßig großen Mengen, ohne Einfluß auf das Wachstum. Dieser scharfe biologische Unterschied, über den die II. Mitteilung dieser Untersuchungsreihe berichtet²⁾, hat sich in weiteren Versuchen bestätigt. Die Untersuchung des Iso-carotins gewinnt dadurch an Bedeutung, weil sie die strukturellen Eigentümlichkeiten hervortreten lassen wird, mit denen die Wirksamkeit der Provitamine $A\alpha$ und $A\beta$ zusammenhängt.

Für die Umwandlung von β -Carotin in Iso-carotin ist es nach unseren Erfahrungen am besten, ein Tetrajodid des Carotins darzustellen. Löst man dieses Jodid in Methyl- oder Äthylalkohol, worin es sehr leicht mit brauner Farbe löslich ist, so wird durch Schütteln mit Thiosulfat-Lösung in der Hauptsache unverändertes β -Carotin zurückgewonnen. Auch aus der Lösung in Pyridin wird durch Abspaltung des Jods mit Thiosulfat kein Iso-carotin erhalten. Löst man aber das Carotin-tetrajodid in Benzol, Schwefelkohlenstoff oder Aceton und läßt die Lösung einige Zeit stehen, so ist nach dem Umsatz mit Thiosulfat³⁾ das Spektrum des Iso-carotins zu erkennen. Der auffallende Einfluß des Lösungsmittels beruht nicht darauf, daß ein und dasselbe Jodid in verschiedener Richtung Jod abspaltet, sondern darauf, daß in den zuletzt genannten Lösungsmitteln eine Umwandlung des Carotin-jodides stattfindet. Setzt man nämlich das Carotinjodid sofort nach dem Lösen in Aceton mit Thiosulfat um, so wird nur β -Carotin zurückerhalten. Wartet man aber 10—20 Min., so erhält man nach dem Aufarbeiten die Hauptmenge des Farbstoffs als Iso-carotin. Aus methyl- oder äthylalkohol. Lösungen ist auch nach mehrstündigem Stehen nur β -Carotin zu gewinnen.

Die angenommene Umlagerung des Carotin-tetrajodides läßt sich in Schwefelkohlenstoff-Lösung unmittelbar spektroskopisch verfolgen. Lösungen von Carotin-jodid⁴⁾ in Schwefelkohlenstoff zeigten sofort nach der Darstellung das Spektrum des Carotins: 518 m μ . Nach 1—2 Min. wurden die Banden unscharf, nach 5—10 Min. traten die Banden wieder schärfer, aber viel langwelliger auf: 536 m μ . Für die präparative Darstellung benützen wir Aceton, das sich merkwürdigerweise nicht durch Methyl-äthyl-keton, wohl aber durch

¹⁾ R. Kuhn u. E. Lederer, Naturwiss. 19, 306 [1931].

²⁾ R. Kuhn u. H. Brockmann, B. 64, 1859 [1931].

³⁾ oder nach dem Schütteln mit Quecksilber.

⁴⁾ Aus 30 mg α,β -Carotin und 18 mg Jod in Benzin-Lösung dargestellt.

Acetophenon ersetzen ließ, wie folgende spektroskopische Befunde (nach Zersetzung) in Schwefelkohlenstoff (Absorptionsmaxima in $\text{m}\mu$) zeigen:

Aceton	Methyl-äthyl-keton	Acetophenon
539	501	510 477

Für die Gewinnung von Iso-carotin ist die Anwendung von genau definiertem Tetrajodid (48.6 % J) keineswegs Voraussetzung. Man kann vielmehr Jodide von etwa 28–55 % J auf Iso-carotin verarbeiten, doch kommt es dann gelegentlich vor, daß die gewünschte Umwandlung ausbleibt.

Das Iso-carotin⁵⁾ krystallisiert aus Benzol-Methanol in violetten, metallglänzenden, abgeschrägten Prismen und schmilzt unt. Zers. bei $180-181^{\circ}$ (korrig., Berl.). Es läßt in 0.05-proz. Benzol-Lösung keine Drehung der roten Cadmiumlinie erkennen. Die Elementaranalysen stimmen auf $C_{40}H_{56}$, schließen aber nahe verwandte Formeln, wie $C_{40}H_{54}$, nicht aus. Das Iso-carotin erweist sich bei der chromatographischen Analyse als einheitlich. Es steht spektroskopisch dem Lycopin sehr nahe:

Schwefelkohlenstoff			Benzin (Sdp. 70—80°)		
Iso-carotin	543	504	504	475	447
Lycopin ..	548	507.5	477	506	475.5

und nimmt bei der katalytischen Hydrierung wie dieses 13 Mole Wasserstoff auf⁶⁾. Es war daher ein eingehender Vergleich mit Lycopin erforderlich, der folgendes ergab: Der Schmp. von Lycopin liegt bei 172° (korrig., Berl.). Ein Gemisch von Lycopin mit Iso-carotin (Schmp. $177-178^{\circ}$) schmilzt bei $161-164^{\circ}$. Die blaue Lösung in Chloroform, die man auf Zusatz von Antimontrichlorid erhält, zeichnet sich beim Iso-carotin durch sehr große Beständigkeit aus. Die Absorptionsbande bei $590 \text{ m}\mu$ bleibt viele Stunden bestehen. Im Falle des Lycopins verschwindet die Absorptionsbande im Gelb ($588 \text{ m}\mu$) viel rascher.

Die Löslichkeit in Hexan bei 0° beträgt:

α -Carotin	I : 300	Iso-carotin	I : 3300
β -Carotin	I : 1000	Lycopin	I : 14000

Beim Abbau mit Ozon gibt Lycopin nach P. Karrer, A. Helfenstein, B. Pieper und A. Wettstein⁷⁾ 2 Mole Aceton. Dieser Befund wurde unter abgeänderten Bedingungen von Hrn. Ch. Grundmann an unserem Institut bestätigt. Die vergleichende Analyse von Iso-carotin

⁵⁾ Eine Mikro-photographie von Krystallen und eine Absorptionskurve der Lösung in Schwefelkohlenstoff ist wiedergegeben bei R. Kuhn, Preparation of isomeric carotenes and their biological effects, Chemistry at the centenary (1931) meeting of the British Association, S. 108, W. Heffer & Sons, Cambridge.

⁶⁾ Die katalytischen Hydrierungen des Iso-carotins wurden vergleichend mit α -Carotin, β -Carotin und Lycopin von Hrn. E. F. Möller ausgeführt. Die Angaben der Literatur über die Hydrierung von Lycopin sind widersprüchsvoll. Nach P. Karrer u. R. Widmer, Helv. chim. Acta 11, 751 [1928], werden bei der Hydrierung mit Platin 13 Mole Wasserstoff aufgenommen. Im Gegensatz dazu beschreiben P. Karrer u. R. Morf, Helv. chim. Acta 14, 845 [1931], ein Dihydro-lycopin, das 10 Mole Wasserstoff aufnimmt. Danach könnte Lycopin nur 11 Doppelbindungen enthalten. Daß die Absorptionsbanden von Dihydro-lycopin mit denen des Lycopins praktisch übereinstimmen sollen, ist nach allen Erfahrungen über die Hydrierung von Polyenen mit Amalgam unverständlich.

⁷⁾ Helv. chim. Acta 14, 435 [1931].

ergab keine Spur von Aceton. Dieser konstitutive Unterschied ist besonders bemerkenswert.

Wenn die beabsichtigte Fortführung der Untersuchung die Formel $C_{40}H_{56}$ bestätigt und das Ergebnis der katalytischen Hydrierung im Sinne des Vorliegens von 13 Äthylen-Bindungen zu deuten ist⁸⁾, so wird man die Schlußfolgerung nicht umgehen können, daß sich bei der Bildung des Iso-carotins eine Öffnung der Kohlenstoffringe im β -Carotin vollzieht. Sollte die Bildung des Iso-carotins unter Dehydrierung verlaufen, so würden auch im Iso-carotin Kohlenstoffringe vorliegen.

Darstellung von Iso-carotin.

Eine Lösung von 500 mg Carotin⁹⁾ in 500 ccm Benzin¹⁰⁾ wird auf -10^0 gekühlt und unter starkem Rühren in 250 ccm Benzin von -10^0 , das 400 mg Jod¹¹⁾ enthält, im Laufe von 1 Min. eingegossen. Man röhrt noch 2 Min., filtriert das ausgeschiedene schwarze Jodid so rasch wie möglich ab, wäscht mit Benzin¹²⁾ und löst in 1.5 l Aceton von Zimmer-Temperatur. Die dunkelbraune Lösung bleibt 10–15 Min. stehen. Die Entstehung des Iso-carotins kann durch Entnahme von Proben spektroskopisch verfolgt werden. Dann wird mit einer Lösung von 5 g Natrium-thiosulfat in 200 ccm Wasser gut durchgeschüttelt, wobei sich die Farbe stark aufhellt und nach rot umschlägt. Durch Schütteln mit 200 ccm Benzin und 800 ccm Wasser wird entmischt und die Benzin-Schicht, die allen Farbstoff enthält, noch mehrmals mit Wasser gewaschen und im Vakuum zur Trockne verdampft. Den Rückstand nimmt man in 5 ccm Benzol auf und fällt in der Hitze mit Methanol (Ausbeute: 160–180 mg)¹³⁾. Nach wiederholtem Umkristallisieren aus Benzol-Methanol erhält man das Iso-carotin in violetten, glitzernden Krystallen, die bei $180-181^0$ (korrig., Berl.) schmelzen.

Für die Elementaranalysen dienten Präparate verschiedener Herstellung.

2.323 mg Sbst.: 7.65 mg CO_2 , 2.220 mg H_2O . — 3.371 mg Sbst.: 11.08 mg CO_2 , 3.10 mg H_2O . — 3.194 mg Sbst.: 10.50 mg CO_2 , 2.94 mg H_2O .

$C_{40}H_{56}$. Ber. C 89.48, H 10.52.
Gef., 89.80, 89.48, 89.65, , 10.70, 10.30, 10.30.

Die Formel $C_{40}H_{56}$ würde C 89.80 und H 10.20 verlangen.

α -Carotin ($[\alpha]_{D}^{20} = +350^0$ in Benzol) wurde in genau gleicher Weise verarbeitet. Die spektroskopische Prüfung nach Abspaltung des Jods (503 und 471 m μ in Schwefelkohlenstoff) ließ keine Anwesenheit von Iso-carotin erkennen. Die Bildung von Iso-carotin gestattet, recht geringe Mengen von β -Carotin in α -Carotin-Präparaten spektroskopisch festzustellen.

⁸⁾ Über Ringöffnungen bei der katalytischen Hydrierung von Terpenen vergl. F. Richter, W. Wolff u. W. Presting, B. 64, 871 [1931].

⁹⁾ Aus Karotten, etwa 20 % α - und 80 % β -Carotin enthaltend. ¹⁰⁾ Sdp. $70-80^0$.

¹¹⁾ Die für das Tetrajodid des vorhandenen β -Carotins berechnete Menge.

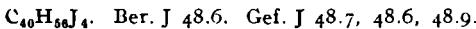
¹²⁾ Über die Gewinnung von α -Carotin aus dem Filtrat vergl. R. Kuhn u. E. Lederer, B. 64, 1349 [1931].

¹³⁾ Die Absorptionsbanden dieser ersten Krystallisation liegen, wenn die Umlagerung gut verlaufen ist, bei 540 und 502 m μ (CS_2)

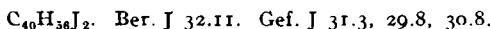
Carotin-jodide.

Das unter den angegebenen Bedingungen ausfallende schwarze Jodid des β -Carotins ist seiner Zusammensetzung nach ein Tetrajodid.

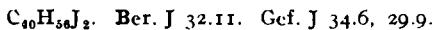
5.655 mg Sbst.: 5.095 mg AgJ. — 5.646 mg Sbst.: 5.070 mg AgJ. — 4.060 mg Sbst.: 3.67 mg AgJ.



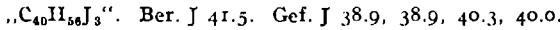
Man erhält mitunter auch jod-ärmere Produkte, die sich zur Darstellung von Iso-carotin ebenfalls eignen. Bei Anwendung von 4 Atomen Jod kann der Jod-Gehalt bis zu dem für Dijodid berechneten Wert fallen:



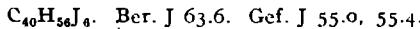
Unter den von R. Willstätter¹⁴⁾ zur Darstellung des Dijodids angegebenen Bedingungen erhielten wir Präparate folgender Zusammensetzung:



Zwei Präparate von Carotin-trijodid nach den Angaben von H. H. Escher¹⁵⁾, gaben bei der Analyse:



Bei Versuchen, ein Hexajodid zu erhalten, gelang es, den Jodgehalt über den des Tetrajodids zu steigern, ohne den für $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{J}_6$ berechneten Wert zu erreichen:



Es ist wahrscheinlich, daß die Mehrzahl der beschriebenen Jodide Gemische nicht nur von Isomeren, sondern auch von verschiedenen Jodierungsstufen darstellen, zu deren Trennung geeignete Methoden noch nicht ausfindig gemacht sind.

Trennung von β -Carotin und Iso-carotin.

Bevor die Isomerisierungs-Bedingungen näher bekannt waren, haben wir das Iso-carotin von unverändertem β -Carotin durch Adsorption getrennt. Dies gelingt im Chromatogramm¹⁶⁾ mit einem Gemisch von 1 Tl. Fasertonerde (E. Merck, nach Wislicenus) und 2—4 Tlh. Aluminiumoxyd (E. Merck) unter den für die Trennung von Carotin und Lycopin¹⁷⁾ angegebenen Bedingungen. Iso-carotin verhält sich dabei dem Lycopin, das viel besser adsorbierbar ist, recht ähnlich.

¹⁴⁾ R. Willstätter u. W. Mieg, A. **350**, 20 [1906].

¹⁵⁾ Ztschr. physiol. Chem. **83**, 198 [1913].

¹⁶⁾ Entsprechend der Trennung von α - und β -Carotin nach R. Kuhn u. E. Lederer, B. **64**, 1349 [1931].

¹⁷⁾ R. Kuhn u. H. Brockmann, Ztschr. physiol. Chem., im Druck [1932].