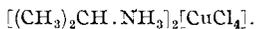


stallen aus, die oberhalb 60° rostbraun wurden und bei etwa 190° , anscheinend unt. Zers., zu einer fast schwarzen Flüssigkeit schmolzen.



Ber. Cu 27.63, Cl 46.24, $[(\text{CH}_3)_2\text{CH.NH}_3]$ 26.13.
 Gef. „ 27.79, 27.77, „ 46.29, 46.36, „ 26.11, 26.08.

Aus einer alkohol. Lösung mit dem Mengen-Verhältnis 1:2 der Komponenten wurden durch Äther hellgelblichgrüne Krystalle erhalten, die oberhalb 55 — 60° dunkelgelb wurden und bei ca. 154° schmolzen. Es handelt sich um das Isopropylammonium-tetrachlorocuproat.



Ber. Cu 19.52, Cl 43.56, $[(\text{CH}_3)_2\text{CH.NH}_3]$ 36.92.
 Gef. „ 19.69, 19.44, „ 43.42, 43.47, „ 37.93, 37.11.

Bei dem Mengen-Verhältnis 1:1 der Komponenten wurde aus der alkohol. Lösung durch Äther-Zusatz ein Gemisch der beiden vorstehend beschriebenen Verbindungen erhalten. Da die beiden Isopropylammoniumdoppelsalze des Kupfer(II)-chlorides sich als ungemein hygroskopisch erwiesen, wurde von Versuchen, sie auch aus wäßrigen Lösungen darzustellen, abgesehen.

80. Richard Kuhn und Hans Brockmann: γ -Carotin (Über das Vitamin des Wachstums, IV. Mittel.).

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für medizin. Forschung Heidelberg, Institut für Chemie.]
 (Eingegangen am 30. Januar 1933.)

Unterwirft man das in üblicher Weise dargestellte Carotin der chromatographischen Analyse an Aluminiumoxyd, wie sie zur Isolierung des α -Carotins beschrieben wurde¹⁾, so beobachtet man, daß etwas Farbstoff noch leichter adsorbiert wird als β -Carotin. Der in der obersten Zone des Chromatogramms festgehaltene Farbstoff wurde durch Wiederholung der Adsorption und anschließende Krystallisationen aus Benzol-Methanol in chromatographisch einheitlichem, schön krystallisiertem Zustand (Fig. 1) erhalten und γ -Carotin benannt²⁾. Die Isolierung dieses Kohlenwasserstoffs aus einem Gemisch mit der 1000-fachen Menge isomerer Farbstoffe gibt ein Bild von der Leistungsfähigkeit der chromatographischen Methoden. Die durchschnittliche Zusammensetzung der untersuchten Carotin-Präparate ist — von Farbstoffen, die noch nicht in reiner Form vorliegen, abgesehen — durch folgende annähernde Zahlen auszudrücken:

15% α -Carotin, 85% β -Carotin, 0.1% γ -Carotin.

γ -Carotin liefert bei der Elementaranalyse wie α - und β -Carotin auf $\text{C}_{40}\text{H}_{56}$ stimmende Werte. Im Gegensatz zu α -Carotin und in Übereinstimmung mit β -Carotin läßt es kein optisches Drehungsvermögen erkennen. Von den bekannten Carotinen unterscheidet es sich vor allem dadurch, daß es bei der katalytischen Hydrierung nicht 11, sondern 12 Mole Wasserstoff aufnimmt, also nur 1 Kohlenstoffring enthält, und daß es beim Abbau mit Ozon Aceton (0.85 Mole) liefert. Hierin und in einer Reihe weiterer Eigenschaften, nämlich im Schmp., in der Lage der Absorp-

¹⁾ R. Kuhn u. E. Lederer, B. 64, 1349 [1931].

²⁾ R. Kuhn u. H. Brockmann, Naturwiss. 21, 44 [1932/33].

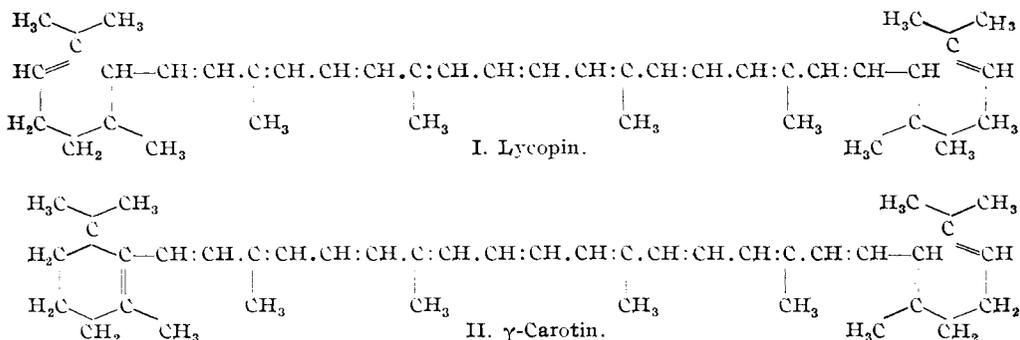
tionsbanden und im Adsorptionsverhalten³⁾ kommt seine Mittelstellung zwischen β -Carotin und Lycopin zum Ausdruck:

Farbstoff	Schmp. (korr.)	Doppelbindung	Mole Aceton	Absorptionsbanden (Benzin, Sdp. 70—80°)		
β -Carotin	183°	11	0.0	483.5	452	426
γ -Carotin	178°	12	0.85	495	462	431
Lycopin	175°	13	1.60	506	475.5	447

Die in Fig. 2 dargestellten Absorptionskurven sind im Institut von Hrn. K. W. Hausser durch licht-elektrische Photometrie ermittelt worden. Die optischen Schwerpunkte der Banden (Gittermeß-Spektroskop Löwe-Schumm, Kupferoxyd-Ammoniak-Filter) zeigen in verschiedenen Lösungsmitteln folgende Lagen in μ :

Schwefelkohlenstoff	533.5	496	463
Chloroform	508.5	475	446
Benzol	510	477	447
Benzin	495	462	431
Hexan	494	462	431

Nachdem für das Lycopin die Strukturformel I feststeht⁴⁾ und für das β -Carotin von P. Karrer⁵⁾ und von R. Pummerer⁶⁾ das Vorliegen von β -Jonon-Ringen erwiesen wurde, läßt sich die Gesamtheit der angeführten Beobachtungen am besten zum Ausdruck bringen, wenn man dem γ -Carotin Formel II zuordnet. Diese Formel haben bereits A. Winterstein und



U. Ehrenberg⁷⁾ für einen Carotin-Farbstoff erörtert, den sie als Mittelfraktion zwischen Carotin und Lycopin in den reifen Früchten von *Convallaria majalis* chromatographisch aufgefunden haben. Einen damit sehr nahe verwandten, möglicherweise identischen Farbstoff hatte V. Lubimenko⁸⁾ spektroskopisch in den Früchten von *Gonocarium*-Arten (Java) beobachtet.

³⁾ Dieses erinnert viel mehr an Lycopin als an β -Carotin; vergl. die chromatographische Trennung von Lycopin und β -Carotin nach R. Kuhn u. H. Brockmann, Ztschr. physiol. Chem. **206**, 41 [1932].

⁴⁾ R. Kuhn u. Chr. Grundmann, B. **65**, 1880 [1932].

⁵⁾ P. Karrer, A. Helfenstein, H. Wehrli u. A. Wettstein, Helv. chim. Acta **13**, 1084 [1930]; P. Karrer u. R. Morf, Helv. chim. Acta **14**, 1033 [1931].

⁶⁾ R. Pummerer, L. Rebmann u. W. Reindel, B. **64**, 492 [1931].

⁷⁾ Ztschr. physiol. Chem. **207**, 25 [1932]. ⁸⁾ Rev. gen. botan. **25**, 474 [1914].

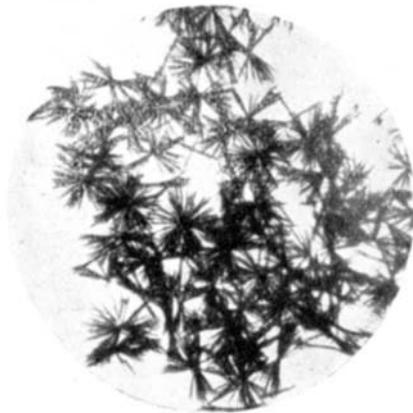


Fig. 1. γ -Carotin aus Benzol-Methanol, 120 \times .

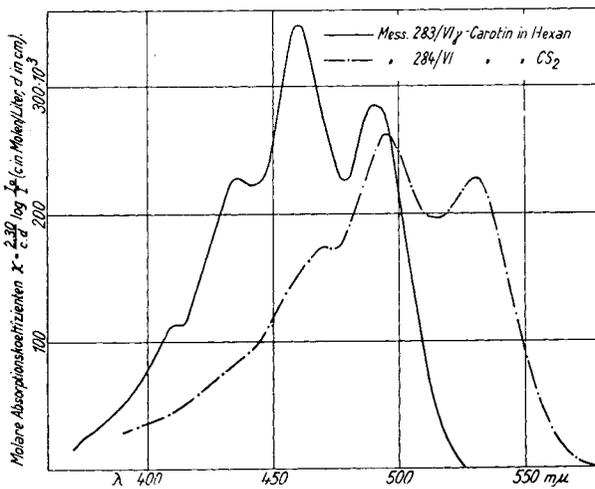


Fig. 2. Abszissen: Wellenlängen in $m\mu$.

Ordinaten: Molare Absorptionskoeffizienten $x = \frac{2.30}{c \cdot d} \log \frac{I_0}{I}$ (c in Molen/Liter, d in cm).

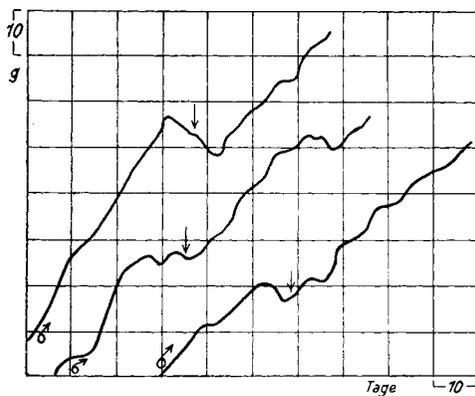


Fig. 3. 0.005 mg γ -Carotin.

Aus diesen gelang es A. Winterstein⁹⁾, nach chromatographischer Abtrennung von Lycopin, α -Carotin, sowie etwas β -Carotin, den fraglichen Farbstoff in geringer Menge krystallisiert zu erhalten. Nach der Lage der Absorptionsbanden (529 gegenüber 533.5 μ in CS_2) scheint es sich nicht um das hier beschriebene γ -Carotin zu handeln, sondern um einen weiteren monocyclischen Kohlenwasserstoff der Carotin-Reihe, der nach seinem Vorkommen zum α -Carotin in Beziehung stehen könnte. Identisch mit γ -Carotin ist ein neben β -Carotin und Lycopin aus Aprikosen isolierter Farbstoff¹⁰⁾. Da beim Umkrystallisieren γ -Carotin in die schwerst löslichen Anteile des β -Carotins übergeht, dürften frühere Carotin-Präparate, die nicht durch Adsorption gereinigt waren, diesen Farbstoff enthalten haben.

An A-vitamin-frei ernährten Ratten zeigt γ -Carotin starke Wachstumswirkung¹¹⁾. In Figur 3 sind als Beispiel einige Versuche angeführt, bei denen die Tiere pro Tag 0.005 mg erhielten. Die Wirkung stimmt mit derjenigen gleicher Mengen von α - oder β -Carotin nahe überein¹²⁾. Ein quantitativer Vergleich mit kleineren Mengen ist in Gang. Es bestätigt sich somit, daß die Wachstumswirkung nicht streng spezifisch ist, sondern einer engeren Gruppe von Carotin-Farbstoffen zukommt, die bisher mindestens 3 natürliche Vertreter zählt. Innerhalb dieser Gruppe sind gewisse chemische Veränderungen der Molekeln möglich, bei denen die Vitamin-Wirkung erhalten bleibt. Diese am β -Oxy-carotin¹³⁾ gewonnene Erkenntnis ist neuerdings durch die Auffindung eines biologisch wirksamen Oxyds des β -Carotins¹⁴⁾ bereichert worden. Maßgebend für die Wirksamkeit der Kohlenwasserstoffe $\text{C}_{40}\text{H}_{56}$ und der eben angeführten Derivate erscheint nicht die Zahl der Doppelbindungen, die 10, 11 und 12 beträgt, sondern die Anwesenheit mindestens eines Kohlenstoffringes vom Jonon-Typus. Die Unwirksamkeit des monocyclischen Iso-carotins¹⁵⁾ zeigt, daß noch speziellere Bedingungen erfüllt sein müssen, die vorerst unbekannt sind. Der Annahme, daß ein β -Jonon-Ring vorliegen muß, steht entgegen, daß aus dem wirksamen α -Carotin keine Geronsäure erhalten werden konnte¹⁶⁾, die aus β -Carotin und A-Vitamin-Präparaten beim oxydativen Abbau entsteht.

Beschreibung der Versuche.

Das verwendete Carotin war 3-mal aus Benzol-Methanol und 1-mal aus Benzol-Benzin umkrystallisiert. Vor jeder Umkrystallisation wurde 2-mal mit Methanol (über KOH destilliert) unter Rückfluß ausgekocht. Das so erhaltene Carotin gab richtige Analysen-Zahlen und zeigte $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +45^{\circ}$ (Benzol). Eine sorgfältige Vorreinigung des Carotins ist notwendig, um es von farblosen Begleitstoffen zu befreien, die bei der Adsorption das γ -Carotin begleiten und von diesem nur schwer und unter Verlusten durch Umkrystallisieren entfernt werden können. Ausgangsmaterial für den im folgenden beschriebenen Versuch war 70-proz. Carotin von F. Hoffmann-La Roche.

⁹⁾ Ztschr. physiol. Chem., im Druck [1933].

¹⁰⁾ H. Brockmann, Ztschr. physiol. Chem., im Druck [1933].

¹¹⁾ R. Kuhn u. H. Brockmann, Naturwiss. **21**, 44 [1932/33].

¹²⁾ vergl. R. Kuhn u. H. Brockmann, B. **64**, 1859 [1931].

¹³⁾ R. Kuhn u. H. Brockmann, B. **65**, 894 [1932]; Ztschr. physiol. Chem. **213**, 1 [1932].

¹⁴⁾ H. v. Euler, P. Karrer u. O. Walker, Helv. chim. Acta **15**, 1507 [1932].

¹⁵⁾ R. Kuhn u. E. Lederer, Naturwiss. **19**, 306 [1931]; B. **65**, 637 [1932]. — P. Karrer, K. Schöpp u. R. Morf, Helv. chim. Acta **15**, 1158 [1932].

¹⁶⁾ P. Karrer, R. Morf, E. v. Krauss u. A. Zubrys, Helv. chim. Acta **15**, 490 [1932].

Die Abtrennung des γ -Carotins erfolgte durch Adsorption an aktiviertem Aluminiumoxyd: Je 3 g Carotin wurden in 300 ccm Benzol (Merck, pro anal.) gelöst. Nachdem mit 900 ccm Benzin (Merck, 70–80°, 4-mal mit destilliertem Wasser gewaschen und dann getrocknet) verdünnt worden war, wurde die Lösung durch eine Säule von Aluminiumoxyd (17 cm Länge, 5 cm Durchmesser, Gewicht 500 g) filtriert und solange mit Benzol-Benzin-Gemisch (1:4) nachgewaschen (etwa 1 l), bis sich eine deutlich abgegrenzte, rötliche Zone von γ -Carotin ausgebildet hatte und das Aluminiumoxyd unterhalb dieser Zone nur noch schwach angefärbt war. Dann wurde die rotgelbe Schicht, die das neue Carotin enthielt, unter Verwerfung des oberen und unteren Randes aus dem Chromatogramm-Rohr entfernt und sofort in methanol-haltiges Benzin gegeben, um den Farbstoff zu eluieren. Die Farbstoff-Lösung wurde nach Abtrennung vom Aluminiumoxyd durch gründliches Waschen mit dest. Wasser vom Methanol befreit und einer erneuten Adsorption in einem kleineren Chromatogramm-Rohr unterworfen, wobei wiederum die oberen und unteren Schichten der Hauptzone verworfen wurden. Nachdem noch ein 3. Mal in der gleichen Weise adsorbiert worden war, wurde die Elutions-Flüssigkeit durch ein enges Glas-Sinterfilter filtriert und im Vakuum zur Trockne verdampft. Der Rückstand wurde 2-mal mit Methanol ausgekocht und aus wenig Benzol-Methanol (1:1) umkrystallisiert. Ausbeute: 34 mg aus 35 g Carotin. Dieses Rohprodukt war noch mit farblosen Begleitstoffen verunreinigt und wurde 3-mal aus Benzol-Methanol (2:1) umkrystallisiert. Größere Methanol-Mengen brachten Begleitstoffe mit zur Ausfällung. Vor jeder Krystallisation wurde mit Methanol ausgekocht, die abgeschiedenen Krystalle wurden mit Petroläther gewaschen. Vor dem letzten Umkrystallisieren wurde die Benzol-Lösung gründlich mit Wasser gewaschen und nochmals durch ein sehr enges Glas-Sinterfilter filtriert, um asche-freie Präparate zu erhalten. Das so erhaltene γ -Carotin krystallisierte beim langsamen Abscheiden in derben, dunkelroten Prismen mit bläulichem Oberflächenglanz. Es ist in dieser Form deutlich verschieden von Lycopin, α -Carotin und β -Carotin. Beim schnellen Abscheiden kommt es in Büscheln von feinen Nadeln heraus (Fig. 1) und hat dann eine etwas hellere Farbe. Schmp. im Hochvakuum 178°, korr.

3.652 mg Sbst.: 11.985 mg CO₂, 3.365 mg H₂O.

C₄₀H₅₆. Ber. C 89.48, H 10.52. Gef. C 89.50, H 10.33.

Aceton-Bestimmung¹⁷⁾: 13.792 mg Sbst.: 2.53 ccm *n*₂₀-Jodlsg. — 7.380 mg Sbst.: 1.49 ccm *n*₂₀-Jodlsg.

Ber. 7.95%. Gef. 6.43, 7.07% C₃H₆, entspr. 0.81, 0.89 Mol. Aceton.

Katalytische Hydrierung¹⁸⁾: 2.661 mg Sbst. gegen 3.178 mg Sorbinsäure in Dekalin-Eisessig:

Gef. 12.11 Doppelbindungen für C₄₀H₅₆.

Der Deutschen Forschungs-Gemeinschaft sprechen wir für überlassene Apparate unseren besten Dank aus.

¹⁷⁾ R. Kuhn u. H. Roth, B. **65**, 1285 [1932].

¹⁸⁾ Differentialmethode von R. Kuhn u. E. F. Möller, unveröffentlicht.