

### 355. Richard Kuhn und Christoph Grundmann: Über Krypto-xanthin, ein Xanthophyll der Formel $C_{40}H_{56}O$ (Über das Vitamin des Wachstums, V. Mitteil. <sup>1)</sup>).

Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizin, Forschung Heidelberg, Institut für Chemie.  
(Eingegangen am 24. Oktober 1933.)

Unter den Xanthophyllen waren bis vor kurzem nur Verbindungen mit einer paaren Zahl von Sauerstoffatomen bekannt, nämlich Lutein (Xanthophyll) und Zea-xanthin,  $C_{40}H_{56}O_2$ , Viola-xanthin und Taraxanthin,  $C_{40}H_{56}O_4$ , sowie Fuco-xanthin,  $C_{40}H_{56}O_6$ . Das erste Xanthophyll mit einer unpaaren Zahl von Sauerstoffatomen, Flavo-xanthin,  $C_{40}H_{56}O_3$ , ist aus *Ranunculus acer* isoliert worden<sup>2)</sup>. Im folgenden wird über ein Xanthophyll  $C_{40}H_{56}O$  berichtet, das die vorliegende Gruppe natürlicher Farbstoffe in bemerkenswerter Weise ergänzt.

Der neue Farbstoff findet sich in sehr bedeutenden Mengen in den roten Kelchen und Beeren der *Physalis*-Arten, aus denen vor 4 Jahren das Physalien dargestellt wurde<sup>3)</sup>, das sich als Dipalmitinsäure-ester des Zea-xanthins erwiesen hat<sup>4)</sup>. Der neue Farbstoff, für den wir den Namen Krypto-xanthin vorschlagen, ist ebenfalls in der Pflanze verestert, seine Anwesenheit im rohen Physalien und rohen Zea-xanthin blieb bisher verborgen, obwohl er fast ein Drittel des gesamten Farbstoffs der Kelche und Beeren ausmacht. Bei einer analytischen Untersuchung<sup>5)</sup> wurde das Krypto-xanthin als Carotin verzeichnet. Es ist in der Tat von  $\beta$ -Carotin kaum zu unterscheiden, wenn nur das Verhalten bei der Entmischung und die Absorptionsbanden zur Identifizierung herangezogen werden. Die Unterscheidung und Isolierung ist uns auf chromatographischem Wege gelungen.

Krypto-xanthin krystallisiert aus Benzol-Alkohol oder Benzol-Methanol in schmetterlings-artig verwachsenen, zugespitzten Prismen (Abbild. 1) oder in regelmäßigen, gerade abgeschnittenen Prismen (Abbild. 2), die zwischen gekreuzten Nicols gerade Auslöschung und vielfach die für  $\beta$ -Carotin charakteristische, briefkuvert-artige Zeichnung erkennen lassen<sup>6)</sup>. Solche Präparate zeigen außerordentlich lebhaften, hellen Metallglanz und enthalten selbst nach Trocknung im Hochvakuum (110°, 45 Min.) noch etwa 0.5 Mole Krystall-Alkohol. Dieser läßt sich durch wiederholtes Abdampfen mit Benzol völlig entfernen. Der Schmp. liegt bei 169° (korr., Berl., evakuiertes Röhrchen) übereinstimmend für die krystall-alkoholhaltigen und alkoxy-freien Präparate.

Spektroskopisch ist Krypto-xanthin von  $\beta$ -Carotin und von Zea-xanthin nicht zu unterscheiden. Die Übereinstimmung der Absorptionsbanden ist bei direktem Vergleich in den verschiedensten Lösungsmitteln eine vollkommene.

<sup>1)</sup> IV. Mitteil.: B. **66**, 407 [1933].

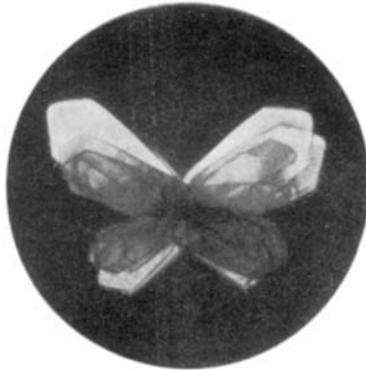
<sup>2)</sup> R. Kuhn u. H. Brockmann, Ztschr. physiol. Chem. **213**, 192 [1932].

<sup>3)</sup> R. Kuhn u. W. Wiegand, Helv. chim. Acta **12**, 499 [1929].

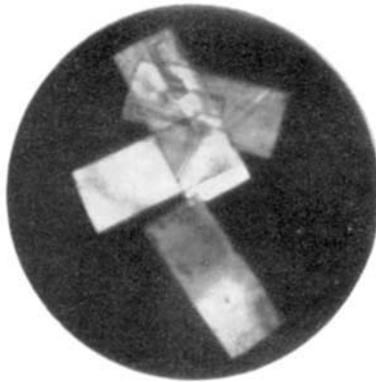
<sup>4)</sup> R. Kuhn, A. Winterstein u. W. Kaufmann, Naturwiss. **18**, 418 [1930]; B. **63**, 1489 [1930]; L. Zechmeister u. L. v. Cholnoky, Ztschr. physiol. Chem. **189**, 159 [1930].

<sup>5)</sup> R. Kuhn u. H. Brockmann, Ztschr. physiol. Chem. **206**, 41 [1932].

<sup>6)</sup> vgl. die Abbildung bei R. Kuhn u. E. Lederer, B. **64**, 1349 [1931].



Abbild. 1.  
Krypto-xanthin aus Benzol-Methanol,  
225-fach, zwischen gekreuzten Nicols.



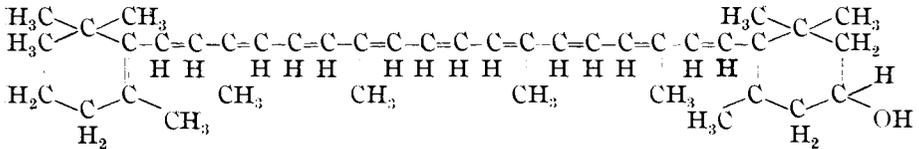
Abbild. 2.  
Krypto-xanthin aus Benzol-Methanol,  
225-fach, zwischen gekreuzten Nicols.

Schwerpunkte der Absorptionsbanden von Krypto-xanthin in  $\mu$ ; Gitter-Spektroskop LÖwe-Schumm; Kupferoxyd-Ammoniak-Filter.

Schwefelkohlenstoff .....	519.0	483.0	452
Chloroform .....	497.0	463.0	433
Alkohol (absol.) .....	486.0	452.0	424
Benzin (Sdp. 70—80°) .....	485.5	452.0	424
Hexan .....	484.0	451.0	423

Das Sauerstoffatom des Krypto-xanthins gehört einer Hydroxylgruppe an. Mit Methyl-magnesiumjodid wird genau 1 Mol Methan entwickelt. mit Essigsäure-anhydrid in Pyridin wird die Acetylverbindung erhalten ( $C_{40}H_{55} \cdot O \cdot CO \cdot CH_3$ ), die in granatroten Blättchen vom Schmp. 117—118° kristallisiert.

Bei der katalytischen Hydrierung werden 11 Mole Wasserstoff aufgenommen, woraus die Anwesenheit von 2 Kohlenstoffringen hervorgeht. Es ist sehr wahrscheinlich, daß im Krypto-xanthin,  $C_{40}H_{56}O$ , ein Hydroxy- $\beta$ -carotin der folgenden Formel vorliegt, das sich aus je einer



Hälfte des  $\beta$ -Carotins,  $C_{40}H_{56}$ , und des Zea-xanthins,  $C_{40}H_{56}O_2$ , zusammensetzt. Diese Mittelstellung kommt auch im Farbwert zum Ausdruck, ferner im Adsorptions-Verhalten: An Calciumcarbonat wird Krypto-xanthin aus Benzin eben noch adsorbiert, während  $\beta$ -Carotin überhaupt nicht und Zea-xanthin sehr viel stärker festgehalten wird. An Aluminiumoxyd wird Zea-xanthin am stärksten, Krypto-xanthin weniger,  $\beta$ -Carotin am schwächsten adsorbiert. Die Entwicklung des  $Al_2O_3$ -Chromatogramms mit Benzol-Benzin-Gemischen ist zur Trennung und Reindarstellung der 3 genannten Farbstoffe sehr geeignet. Von Lycopin ist Krypto-xanthin mit Hilfe von Aluminiumoxyd nicht scharf trennbar. Beim Analysengang nach R. Kuhn und H. Brockmann<sup>7)</sup> wäre die Abtrennung von Carotin und Lycopin chromatographisch mittels Calciumcarbonats vorzunehmen. Bei der Oxydation mit Chromsäure treten 4.85 Mole Essigsäure auf, während aus  $\beta$ -Carotin 5.4 Mole und aus Zea-xanthin 4.1 Mole unter gleichen Bedingungen erhalten werden.

Bei der Verteilungs-Probe (Benzin/90-proz. Methanol) verhält sich Krypto-xanthin wie  $\beta$ -Carotin rein epiphasisch. In 95-proz. Methanol geht aber Krypto-xanthin aus Benzin deutlich (Gegensatz zu  $\beta$ -Carotin).

Bisher ist uns nur eine Eigenschaft des Krypto-xanthins bekannt, die nicht ohne weiteres zur angenommenen Mittelstellung zwischen  $\beta$ -Carotin und Zea-xanthin paßt. Nachdem  $\beta$ -Carotin optisch inaktiv<sup>8)</sup> und Zea-xanthin linksdrehend<sup>9)</sup> ist, sollte man auch für Krypto-xanthin gemäß dem asym-

<sup>7)</sup> Ztschr. physiol. Chem. **206**, 41 [1932].

<sup>8)</sup> R. Kuhn u. E. Lederer, Naturwiss. **19**, 306 [1931]; B. **64**, 1349 [1931].

<sup>9)</sup> P. Karrer, H. Salomon u. H. Wehrli, Helv. chim. Acta **12**, 790 [1929], **13**, 268 [1930]; R. Kuhn, A. Winterstein u. W. Kaufmann, B. **63**, 1489 [1930].

metrischen Kohlenstoffatom, das die Hydroxylgruppe trägt, optische Aktivität erwarten. Das Drehungsvermögen einer 0.16-proz. Lösung in Benzol für die rote Cadmium-Linie ist jedoch unmeßbar gering:  $[\alpha]_{643.5}^{18} = \pm 6^{\circ}$ .

Am Beispiel des  $\gamma$ -Carotins<sup>10)</sup> und des Semi- $\beta$ -carotins<sup>11)</sup> ist gezeigt worden, daß von den beiden Ringsystemen des  $\beta$ -Carotins eines für die biologische Aktivität ausreicht. Nach R. Kuhn und H. Brockmann<sup>12)</sup> kann aus solchen Verbindungen noch immer 1 Mol A-Vitamin im Tierkörper entstehen, während aus  $\beta$ -Carotin nach der Gleichung  $C_{40}H_{56} + 2H_2O \rightarrow 2C_{20}H_{30}O$  2 Mole A-Vitamin gebildet werden. Nachdem Zeaxanthin keine Wachstums-Wirkung besitzt<sup>13)</sup>, ist nach der mutmaßlichen Konstitution des Krypto-xanthins biologische Wirksamkeit zu erwarten, die etwa halb so stark wie diejenige des  $\beta$ -Carotins sein könnte.

Die Prüfung des Krypto-xanthins an A-vitamin-frei ernährten Ratten, die mit Hrn. H. Brockmann in Angriff genommen ist, zeigt bisher, daß 20 $\gamma$  pro Tag und Ratte ausgezeichnete Wachstums-Wirkung und Heilung der Xerophthalmie bewirken. Im Krypto-xanthin liegt somit das erste Xanthophyll vor, das A-Vitamin-Wirkung zeigt. Nach  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Carotin ist Krypto-xanthin das vierte, natürlich vorkommende Pro-vitamin A. Es ist zu erwarten, daß gewisse Wachstums-Wirkungen, die man bisher auf Carotine zurückgeführt hat, dem Krypto-xanthin zuzuschreiben sein werden. Das Krypto-xanthin ist auch in der Antimontrichlorid-Reaktion leicht mit  $\beta$ -Carotin zu verwechseln. Wie dieses, gibt es eine tiefblaue Lösung mit der für  $\beta$ -Carotin charakteristischen<sup>14)</sup> Absorptionsbande bei 590  $\mu$ .

### Beschreibung der Versuche.

Analyse der Kelche: 1 frischer, hochroter Kelch von *Physalis Franchetti* (1.25 g) wurde mit absol. Alkohol entwässert, wobei fast kein Farbstoff in Lösung ging, und darauf mit Benzin erschöpfend extrahiert. Die Entmischung erfolgte in der üblichen Weise und ergab die Abwesenheit von freien Xanthophyllen. Nach der Verseifung (3 Stdn. mit 5-proz. äthylalkohol. Kalilauge bei 37<sup>o</sup>) wurde erneut entmischt. Die Benzin-Schicht unterwarfen wir der Adsorption an Aluminiumoxyd. Das Chromatogramm wurde mit Benzol:Benzin 1:4 entwickelt. Dabei traten nur Spuren von Carotin auf. Die Hauptmenge war Krypto-xanthin, das mit alkohol-haltigem Benzin eluiert und gegen Azobenzol colorimetriert wurde: 0.69 mg.

Der Farbstoff der Methanol-Schicht wurde in Benzin getrieben und im Rohr an Calciumcarbonat adsorbiert. Er bestand fast ausschließlich aus reinem Zea-xanthin (1.54 mg). Eine sehr geringfügige oberste Zone des Chromatogramms gab mit 25-proz. Salzsäure in Äther schwache Blaufärbung.

Analyse der Beeren: 7.85 g frische Beeren von *Physalis Franchetti* wurden in gleicher Weise verarbeitet. Wir fanden 0.39 mg Krypto-xanthin,

<sup>10)</sup> R. Kuhn u. H. Brockmann, B. **66**, 407 [1933].

<sup>11)</sup> R. Kuhn u. H. Brockmann, B. **66**, 1319 [1933].

<sup>12)</sup> Klin. Wochenschr. **12**, 972 [1933].

<sup>13)</sup> R. Kuhn, H. Brockmann, mit A. Scheunert u. M. Schieblich, Ztschr. physiol. Chem. (im Druck) [1933].

<sup>14)</sup> R. Kuhn u. E. Lederer, Naturwiss. **19**, 306 [1931].

0.93 mg Zea-xanthin, sowie 0.40 mg „zersetztes Zea-xanthin“, das im Chromatogramm an Calciumcarbonat ganz oben hängen blieb und sich mit Benzin nicht tiefer waschen ließ. Freie Xanthophylle fehlten auch hier, und Carotin war wieder höchstens in Spuren vorhanden.

#### Darstellung von Krypto-xanthin.

1600 frische Kelche (*Physalis Franchetti* und *Alkekengi*) wurden 2 Tage bei 40° getrocknet, fein gemahlen (Gewicht 380 g) und mit 1.5 l reinem Methanol 2 Tage stehen gelassen, wobei nur harzige Farbstoffe in Lösung gingen. Nach dem Absaugen wurde mit 1 l reinem Benzol über Nacht stehen gelassen. Das fast farblose Kelch-Mehl wurde auf der Nutsche 2-mal mit je 200 ccm Benzol gewaschen. Die Benzol-Lösung wurde im Vakuum auf 100 ccm eingeengt und mit dem gleichen Volumen 5-proz. Äthylalkohol. Kalilauge 12 Stdn. verseift. Etwa ausfallender Farbstoff ist durch Zusatz von Benzol wieder in Lösung zu bringen. Nach der Verseifung verdünnten wir mit 500 ccm Benzin und gaben im Scheidetrichter vorsichtig so lange Wasser zu, bis das in der Grenzschicht ausfallende Zea-xanthin anfang, harzig zu werden. Das Krypto-xanthin bleibt dabei fast vollkommen in der Benzol-Benzin-Schicht gelöst. Man erhält 1.85 g rohes Zea-xanthin in goldglänzenden Kryställchen vom Schmp. 196°. Durch Zusatz von mehr Wasser zur alkoholisch-alkalischen Schicht lassen sich weitere 0.3 g rohes Zea-xanthin (Schmp. 190°) abscheiden. Die Ausbeute an Rohprodukt erreicht nahezu den colorimetrisch ermittelten Zea-xanthin-Gehalt.

Die Benzol-Benzin-Schicht wurde wiederholt mit Wasser gewaschen und durch ein Rohr von 12 cm Länge und 5 cm Durchmesser mit Aluminiumoxyd (standardisiert nach H. Brockmann, E. Merck) gesaugt. Das Chromatogramm wurde mit Benzol-Benzin 1:1 entwickelt, wobei langsam 2 scharf getrennte, braunrote Zonen auftraten. Aus der oberen wurden durch Elution mit Alkohol 44 mg Zea-xanthin vom Schmp. 196° erhalten, aus der unteren durch Eluieren mit Benzin, das 1% Äthylalkohol enthielt, das Krypto-xanthin, welches nach Krystallisation aus Benzol-Methanol (1:3) 293 mg wog. Die Mutterlauge lieferte weitere 60 mg. Ein erheblicher Teil des Farbstoffs (60% des colorimetrisch ermittelten) konnte nicht zur Krystallisation gebracht werden.

Das rohe Krypto-xanthin (293 mg) wurde mit 30 ccm absol. Alkohol und etwas Benzin ausgekocht und aus Benzol-Methanol (1:3) umkrystallisiert. Die erhaltenen 161 mg wurden erneut mit 20 ccm Methanol ausgekocht und aus Benzol-Methanol (1:2) umkrystallisiert (137 mg). Eine dritte und vierte, in gleicher Art vorgenommene Krystallisation lieferte schließlich 95 mg Krypto-xanthin vom konstanten Schmp. 169° (Berl).

Zur Analyse wurde 45 Minuten bei 110° unter 0.002 mm getrocknet. — 3.777 mg Sbst.: 11.94 mg CO<sub>2</sub>, 3.37 mg H<sub>2</sub>O. — 3.352 mg Sbst.: 10.585 mg CO<sub>2</sub>, 3.015 mg H<sub>2</sub>O. — 4.112 mg Sbst.: 0.505 mg AgJ.

Gef. C 86.21, 86.13, H 9.99, 10.07, CH<sub>3</sub>.OH 1.67.

C<sub>40</sub>H<sub>56</sub>O (552.4). Ber. C 86.89, H 10.22.

Für HO.CH<sub>3</sub>-freie Sbst. Gef. „ 87.03, 86.95, „ 9.97, 10.03.

$[\alpha]_D^{18}(\text{Benzol}) = (\pm 0.020 \times 100) : (0.16 \times 2) = \pm 6^\circ$  (in Benzol).

Isopropyliden-Gruppen<sup>15)</sup>: 10,587 mg Sbst. verbraucht, 0,57 ccm  $n_{D}^{20}$ -Jod-Lösung. Gef. 1,89%  $C_3H_6 = 0,25$  Mole Aceton. Dieser Wert entspricht dem für Zea-xanthin gefundenen.

C-Methyl-Gruppen<sup>16)</sup>: 9,147 mg Sbst.: 8,01 ccm  $n_{D}^{100}$ -NaOH. Gef. 4,85 Mole Essigsäure. Dieser Wert liegt zwischen dem für  $\beta$ -Carotin (5,4 Mole) und dem für Zea-xanthin (4,1 Mole) gefundenen.

Aktive H-Atome<sup>17)</sup>: Zur Analyse wurde ein krystall-methanol-haltiges Präparat wiederholt in Benzol gelöst und im Vakuum zur Trockne verdampft. Der krystallisierte Rückstand wurde gründlich mit kaltem Hexan gewaschen und über Nacht unter 0,001 mm bei Zimmer-Temperatur getrocknet. Nach dieser Behandlung war das Krypto-xanthin methoxyl-frei. Lösungsmittel: Anisol.

14,062 mg Sbst.:  $v_0 = 0,56$  ccm  $CH_4$  (18°);  $v_0 = 0,62$  ccm  $CH_4$  (95°). — 11,425 mg Sbst.:  $v_0 = 0,44$  ccm  $CH_4$  (18°);  $v_0 = 0,50$  ccm  $CH_4$  (95°).

$C_{40}H_{55}.OH$  (552,4). Ber. OH 1,00. Gef. OH 0,98, 0,95 (18°).

Gef. OH 1,09, 1,07 (95°).

Katalytische Hydrierung<sup>18)</sup> in Eisessig gegen Sorbinsäure: Gef. 11,02 Mole  $H_2$ .

Colorimetrische Bestimmung: Die 0,145-proz. Lösung von Azobenzol in Alkohol<sup>19)</sup> ist farbgleich mit einer Lösung, die 0,00242 mg Krypto-xanthin in 1 ccm Benzin enthält. Der Farbwert liegt somit in der Mitte zwischen  $\beta$ -Carotin (0,00235 mg) und Zea-xanthin (0,00252 mg in 1 ccm Benzin).

### Acetyl-kryptoxanthin.

55 mg Krypto-xanthin wurden in 5 ccm reinem Pyridin gelöst und 2 ccm Essigsäure-anhydrid pro analysi zugegeben. Nach  $\frac{1}{2}$ -stdg. Erwärmen auf dem Wasserbade wurde mit 50 ccm Benzin verdünnt, mit Wasser gründlich gewaschen und im Vakuum eingedampft. Man löst den öligen Rückstand in wenig heißem absol. Alkohol und läßt sehr langsam erkalten, wobei 37 mg Acetyl-kryptoxanthin in granatrotten, dünnen Blättchen ausfallen. Das Präparat schmilzt nach dem Umkrystallisieren aus Benzol-Methanol 1:4 bei 117–118° (korr.). Es stimmt spektroskopisch mit Krypto-xanthin überein, wird aber im Gegensatz zu diesem von Calciumcarbonat nicht adsorbiert und bleibt bei der Entmischung zwischen Benzin und 95-proz. Methanol quantitativ in der oberen Schicht.

Der Deutschen Forschungs-Gemeinschaft sind wir für die Überlassung von Apparaten, der Justus-Liebig-Gesellschaft für die Gewährung eines Stipendiums zu aufrichtigem Dank verpflichtet.

<sup>15)</sup> Nach R. Kuhn u. H. Roth, B. **65**, 1285 [1932].

<sup>16)</sup> Nach R. Kuhn u. H. Roth, B. **66**, 1274 [1933].

<sup>17)</sup> Nach H. Roth, Mikro-chemie, **11**, 140 [1932].

<sup>18)</sup> Nach E. F. Möller, unveröffentlicht.

<sup>19)</sup> R. Kuhn u. H. Brockmann, Ztschr. physiol. Chem. **206**, 41 [1932].