

222. L. Zechmeister und P. Tuzson: Umkehrbare Isomerisierung von Carotinoiden durch Jod-Katalyse.

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

(Eingegangen am 17. Mai 1939.)

Vor vier Jahren haben A. E. Gillam und M. S. El Ridi¹⁾ mitgeteilt, daß chromatographisch einheitliches β -Carotin bei mehrmals wiederholter Adsorption an Aluminiumoxyd eine Isomerisierung erleidet, die sich durch das Auftreten einer zweiten, tieferliegenden Farbschicht in der Tswettschen Säule kundgibt. Aus dieser neuen Zone wurde Pseudo- α -carotin gewonnen; weiterhin wurde aus α -Carotin Neo- α -carotin isoliert²⁾. Inzwischen beobachteten L. v. Cholnoky und der eine von uns³⁾, daß auch rote Paprikafarbstoffe zu einer Isomerisierung neigen.

Während in der wichtigen Arbeit von Gillam für die partielle, umkehrbare Umwandlung der chromatographische Versuch selbst verantwortlich gemacht wird, haben wir am Beispiel des Lycopins, β -Carotins und Kryptoxanthins gezeigt⁴⁾, daß es sich um einen spontanen, bereits in der Lösung eintretenden Vorgang handelt, welcher den bisherigen Beobachtern entgangen war. Dieser setzt nach dem Auflösen der Krystalle unverzüglich ein und verläuft beim Kochen viel rascher. Das Pigmentgemisch strebt einem Gleichgewicht zu. Den Beweis für die Nichtbeteiligung des Adsorptionsmittels lieferte uns die Tatsache, daß die Umwandlung auch ohne Zuhilfenahme der Säule, mit Hilfe von colorimetrischen und spektroskopischen Messungen verfolgt werden kann. In der Kolonne, die nur ein besonders bequemer Analysenbehelf ist, erweisen sich reine, frische Carotinoid-Lösungen als homogen, lange stehen gelassene oder 5—30 Min. gekochte als mehrschichtig. Es gilt allgemein, daß die Gestalt von Polyenmolekülen in passenden Lösungsmitteln viel leichter Veränderungen unterliegt, als bisher stillschweigend angenommen wurde.

Wir beobachten nun, daß die Tendenz zur umkehrbaren Isomerisierung von Vertretern der C_{40} -Reihe schon bei Raumtemperatur von Jod katalytisch gesteigert wird, was sich z. B. folgendermaßen zeigen läßt: Versetzt man eine frische Lösung von 1 mg chromatographisch einheitlichem Lycopin in 100 ccm Benzol mit 10 γ Jod (in 1 ccm Benzol), so wird am Gitterspektroskop die folgende Verschiebung der optischen Schwerpunkte beobachtet:

Nach	0 Min.	522	487	456 $\mu\mu$	
	1	521	486.5	455 „	
	3	519	484	454 „	
	5	517.5	483	453 „	} Verschommenheit der Banden zeitlich fortschreitend.
	15	(516)	(482.5)	(453) „	
	240	(516)	(482.5)	(453) „	

Analoge Beobachtungen, aber in umgekehrter Richtung, werden gemacht, wenn man von Isomerisierungsprodukten ausgeht und Jod zusetzt.

¹⁾ Nature [London] **136**, 914 [1935]; Biochem. Journ. **30**, 1735 [1936].

²⁾ Biochem. Journ. **31**, 1605 [1937] [mit S. K. Kon]. ³⁾ A. **530**, 291 [1937].

⁴⁾ L. Zechmeister u. P. Tuzson, Nature [London] **141**, 249 [1938]; Biochem. Journ. **32**, 1305 [1938].

Über die Adsorptionsanalyse, Rückverwandlung und Beschreibung der aus verschiedenen Carotinoiden entstandenen Farbstoffgemische teilen wir aus einem umfassenden Versuchsmaterial das Folgende mit. Über die (bisher nicht als umkehrbar beschriebene) Umwandlung von *cis*-Carotinoid-carbonsäuren in die *trans*-Form liegen bereits wichtige Untersuchungen vor⁵⁾.

Lycopin.

10 mg einheitliches Lycopin in 25 ccm Benzol wurden mit 100 γ Jod (in Benzol) 30 Min. bei 20^o stehen gelassen, nach Zusatz von 30 ccm niedrigsiedendem Benzin auf eine Calciumhydroxyd-Säule (20 \times 4 cm) gegossen und mit 300 ccm Benzol + Benzin (3:1) nachentwickelt. Chromatogramm (links Dicke der Scheiben in mm):

2 rötlich,
4 Zwischenraum,
10 rosenrot,
5 Zwischenraum,
60 rot, nach unten stärker werdend: Lycopin,
50 bräunlich-orange: Neolycopin,
7 citronengelb.

Bei einem Parallelversuch wurde kein Jod zugesetzt, sondern die Benzollösung 30 Min. unter Rückfluß gekocht. Das erhaltene Säulenbild war praktisch das nämliche, nur fehlte die unterste Schicht. In beiden Fällen war der weitaus überwiegende Pigmentanteil in der Lycopin- und Neolycopin-Zone enthalten, die übrigen Farbscheiben spielen kaum eine Rolle. Die Identität der beiderseitigen Neolycopin-Fractionen geht aus dem folgenden Misch-Chromatogramm hervor:

17 farblos,
10 rot: Lycopin (neu gebildet),
60 bräunlich-orange, nach unten stärker: Neolycopin,
5 gelb (belanglos, neu gebildet).

Ferner stimmen auch die optischen Schwerpunkte des im Wege der Jodkatalyse gewonnenen Neolycopins mit denjenigen des in der Wärme entstandenen Isomerisationsproduktes überein:

In Schwefelkohlenstoff	536.5	499	466 $\mu\mu$
In Benzol	514	481	452 „
In Benzin	501	468	440 „
In Alkohol	499	467	(438) „

Zur Orientierung über die Geschwindigkeiten der Vorgänge Lycopin \rightarrow Neolycopin sowie Neolycopin \rightarrow Lycopin wurden, unter Außerbetrachtung

⁵⁾ P. Karrer, A. Helfenstein, R. Widmer u. Th. B. van Itallie, *Helv. chim. Acta* **12**, 741 [1928]; R. Kuhn u. A. Winterstein, *B.* **65**, 646 [1932]; R. Kuhn u. L. Ehmman, *Helv. chim. Acta* **12**, 904 [1929]; P. Karrer u. T. Takahashi, *Helv. chim. Acta* **16**, 287 [1933]; R. Kuhn u. A. Winterstein, *B.* **66**, 209 [1933]; **67**, 344 [1934]; P. Karrer u. U. Solmssen, *Helv. chim. Acta* **20**, 1396 [1937]; R. Kuhn u. Y. Wang, *B.* **72**, 871 [1939]; R. Kuhn, F. Moewus u. D. Jerchel, *B.* **71**, 1541 [1938]. — Iso-carotin: R. Kuhn u. E. Lederer, *B.* **65**, 630 [1932].

der Nebenfarbstoffe, die folgenden Versuche ausgeführt: Chromatographisch einheitliche Zonen aus Ansätzen der obigen Art wurden mit alkoholhaltigem Benzol eluiert, nach raschem Auswaschen und Trocknen wieder mit Jod behandelt und chromatographiert (20^o). Das Verhältnis der Farbstärken ließ sich auf colorimetrischem Wege ermitteln:

Ausgangsmaterial	Gef. Verhältnis ⁶⁾ Lycopin:Neolycopin, nach Min. der Jod-Einwirkung				
	0	5	30	90	180
Lycopin	100:0	82:18	71:29	57:43	53:47
Neolycopin	0:100	13:87	19:81	30:70	

Hierzu sei vermerkt, daß Neolycopin schon beim Stehenlassen in Benzol (ohne Jod) recht rasch dem Gleichgewicht zustrebt, so daß z. B. bereits nach 15 Min. das Verhältnis 6:94 gilt. Dieser Isomerisationsbeitrag ist in den obigen Zahlen mitenthalten.

β-Carotin.

β-Carotin isomerisiert sich unter dem Einfluß der Jod- oder der Wärmekatalyse bedeutend langsamer als Lycopin, während es aus seinem Umwandlungsprodukt sehr rasch partiell rückgebildet wird.

10 mg β-Carotin (in Benzin) wurden wie beim Lycopin beschrieben, mit 100γ Jod behandelt. Nach 60 Min. Stehenlassen haben wir mit Benzin entwickelt:

2 blaßrötlich,	} sehr wenig Farbstoff.
7 Zwischenraum,	
80 orangegelb, nach unten stärker: β-Carotin,	
12 dunkel citronengelb: Pseudo-α-carotin,	
6 blaß rosa	
3 blaß citronengelb	

Wie sich misch-chromatographisch feststellen ließ, entstehen ohne Jod, bei 80^o in 30–60 Min. dieselben Nebenschichten, nur in einem etwas anderen Verhältnis. Das mit Jod erhaltene Pseudo-α-carotin verhält sich spektroskopisch sehr ähnlich dem Gillamschen Präparat.

Die Größenordnung der Umwandlungsgeschwindigkeiten geht aus den folgenden Zahlen hervor:

Ausgangsmaterial	Gef. Verhältnis β-Carotin:Pseudo-α-carotin, nach Min. der Jod-Einwirkung		
	0	30	60
β-Carotin	100:0	93:7	88:12
Pseudo-α-carotin	0:100	49:51	54:46

⁶⁾ Die mitgeteilten Verhältniszahlen entsprechen nicht genau den absol. Mengen, da die colorimetrischen Werte der isomerisierten Produkte noch nicht mit genügender Genauigkeit bekannt sind. Es handelt sich hier nur um das Verhältnis der gemessenen Farbstärken. Im allgemeinen sind die Isomerisate farbschwächer als der Naturstoff, so daß ihre Mengen wohl größer sind als durch die Quotienten angezeigt wird. In manchen Fällen sind auch kleinere Verschiebungen während der Operationen möglich, bevor die Messung vorgenommen wird.

Kryptoxanthin.

In bezug auf seine Umwandlungstendenz steht Kryptoxanthin zwischen Lycopin und β -Carotin. Die bei der Jod- und Wärmekatalyse erhältlichen Säulenbilder sind ungefähr identisch. Beispiel (10 mg Farbstoff, 30 Min. Jod-Einwirkung, Calciumhydroxyd, mit Benzol + Benzin 1:1 entwickelt):

- 4 gelb (wenig Farbstoff),
Zwischenraum,
- 50 orange: Kryptoxanthin,
- 20 citronengelb: Neokryptoxanthin.

Die unter dem Einfluß von Jod bzw. von Wärme erhaltenen Neokryptoxanthin-Fractionen sind im Misch-Chromatogramm voneinander untrennbar. Die folgenden opt. Schwerpunkte wurden am Jodeinwirkungsprodukt gemessen:

In Schwefelkohlenstoff	509	477 $\mu\mu$
In Benzol	490.5	459 „
In Benzin	478	448 „
In Alkohol	479	450 „

Die nachstehenden Zahlen wurden unter den soeben erwähnten Versuchsbedingungen ermittelt, unter Vernachlässigung der Nebenschicht.

Ausgangsmaterial	Gef. Verhältnis Kryptoxanthin:Neokryptoxanthin, nach Min. der Jod-Einwirkung		
	0	15	30
Kryptoxanthin	100:0	90:10	70:30
Neokryptoxanthin	0:100	37:63	44:56

Lutein (Xanthophyll).

Das Luteinmolekül ist in der Wärme sowie mit Jod isomerisierbar, die Menge der neugebildeten Farbstoffe beträgt im letzteren Falle, unter den angewandten Bedingungen, etwa $\frac{2}{5}$ des Ausgangsmaterials; ein ähnliches Gleichgewicht wird auch von der anderen Seite erreicht. Es werden zwei Isomere meist in gleichen Mengen gebildet.

5.5 mg Lutein in je 25 ccm Benzol wurden in Parallelversuchen teils mit 50 γ Jod behandelt, teils unter Rückfluß gekocht. Wir entwickelten das Calciumcarbonat-Chromatogramm mit je 120 ccm Benzol + Benzin (1:1):

nach Jod-Einwirkung (30 Min.):	nach Wärme-Einwirkung (30 Min.):
12 hellorange: Neolutein A,	15 hellorange: Neolutein A,
15 ähnlich, etwas heller: Neolutein B,	45 Zwischenraum,
30 Zwischenraum,	50 orange: Lutein.
80 orange: Lutein.	

Wird CaCO₃ lewiss. als Adsorbens und reines Benzol als Entwickler angewandt, so sieht man, daß kleinere Mengen von Neolutein B auch in der Wärme gebildet werden.

Die beiden A-Zonen sind im Misch-Chromatogramm untrennbar, dagegen läßt sich das mit Jod erhaltene Neolutein B von dem in der Wärme entstandenen Isomerisationsprodukt sehr gut scheiden. Optische Schwerpunkte:

	In Schwefel-	in	in	in
	kohlenstoff	Benzol	Benzin	Alkohol
Lutein	508 476	489 458	477 448	476 446.5 $\mu\mu$
Neolutein A (ohne J erhalten)..	501 468	483.5 452	470 443	471 442 „
Neolutein A (mit J erhalten).	501 469	484 452	471 442	470.5 442 „
Neolutein B (mit J erhalten).	502 470	484 453	472 443	472 443 „

Das Neolutein A lieferte aus Benzol + Methanol kurze, gerade, teils verfilzte Nadelchen, die viel niedriger als Lutein schmelzen.

Zur Ermittlung des Gleichgewichtsgemisches wurden 4 mg einheitliches Lutein in 20 ccm Benzol mit 20 γ Jod (in 0.2 ccm Benzol) nach 30 Min. Stehenlassen mit $\frac{1}{4}$ Vol. niedrigsiedendem Benzin versetzt und auf Calcium carbon. praecip. (Merck) mit Benzol + Benzin (1:3) entwickelt. Wir haben die einzelnen Alkohol-Eluate mit Wasser in Benzol + Benzin (1:1) übergeführt und nach dem Auswaschen und raschem Trocknen mit Natriumsulfat im Mikrocolorimeter miteinander verglichen. Analoge Versuche wurden auch mit Neolutein A und B als Ausgangssubstanzen durchgeführt.

Ausgangsmaterial	Verhältnis Lutein:Neolutein A:Neolutein B nach 30 Min. Jodeinwirkung	
	Versuch 1	Versuch 2
Lutein	63:15:22	60:17:23
Neolutein A	59:21:20	58:20:22
Neolutein B	58:14:28	56:20:24

Träger wirkt die Wärme auf das Luteinmolekül; z. B. waren in zwei Parallelversuchen, nach 30 Min. Kochen in Benzol unter Rückfluß, 9 bzw. 13% des Farbstoffs isomerisiert.

Zeaxanthin.

Das Verhalten des Zeaxanthins ist demjenigen des Luteins im allgemeinen ähnlich.

Je 5 mg Farbstoff in je 50 ccm Benzol wurden teils mit 100 γ Jod behandelt, teils unter Rückfluß gekocht. Das auf Calcium carbon. levissimum + Calc. carbon. praecip. (1:3) bereitete Chromatogramm (20 \times 4 cm) haben wir mit etwa 150 ccm Benzol entwickelt:

nach Jodeinwirkung (30 Min.):	nach Wärmeeinwirkung (30 Min.):
6 hellgelb: Neozeaxanthin A,	3 gelb: Neozeaxanthin A,
2 Zwischenraum,	2 Zwischenraum,
15 hellgelb: Neozeaxanthin B,	2 hellgelb: Neozeaxanthin B,
70 Zwischenraum,	35 Zwischenraum,
5 blaßgelb, verwaschen: Neozeaxanthin C,	30 orange: Zeaxanthin.
8 Zwischenraum,	
35 orange: Zeaxanthin.	

Die beiden A- bzw. B-Zonen sind im Misch-Chromatogramm voneinander untrennbar, während man das mit Jod erhaltene A von dem in der Wärme gebildeten B leicht scheiden kann (und umgekehrt). Optische Schwerpunkte (Jodversuch):

	In Schwefelkohlenstoff	in Benzol		in Benzin		in Alkohol	
Zeaxanthin	518 482	496 462	483 451.5	484 452 $\mu\mu$			
Neozeaxanthin A	511.5 479.5	491.5 459	480 448	481 450 „			
Neozeaxanthin B	512 480	491.5 459	480 448.5	481 449 „			
Neozeaxanthin C	504 471.5	488.5 456	478.5 448	476 445 „			

Die entsprechenden Zahlen der wärmebehandelten Farbstoffe sind sehr ähnlich.

Nach neuen Versuchen von Hrn. A. Polgár sind die Neozeaxanthine krystallisierbar; frisch bereitete Lösungen ihrer Krystalle absorbieren noch kurzweiliger als soeben angegeben.

Gleichgewichtsverhältnisse, nach einem wie oben ausgeführten Versuchsansatz (die Messung geschah in Benzol);

Ausgangsmaterial	Verhältnis Zeaxanthin:Neozeaxanthin A:	
	Neozeaxanthin B:Neozeaxanthin C	
	Versuch 1	Versuch 2
Zeaxanthin	66:10:21:3	69:9 :19:3
Neozeaxanthin A	52:30:15:3	52:34:11:3
Neozeaxanthin B	68:10:19:3	
Neozeaxanthin C	67:12:18:3	

Nach dem Kochen in Benzol während 30 Min. entstanden Mischungen, deren Komponenten in derselben Größenordnung lagen, nur wird auffallenderweise stets mehr Neozeaxanthin A als B gebildet.

Taraxanthin.

Die Lösung von 4 mg Farbstoff in 50 ccm Benzol wurde mit 50 γ Jod 30 Min. stehen gelassen, auf Calciumcarbonat chromatographiert und mit Benzol + Benzin (1:1) entwickelt.

- Obere Grenzfläche der Säule grünlich (Jodverbindung?),
- 2 orange: Neotaraxanthin A,
schmaler Zwischenraum,
- 10 dunkler citronengelb: Neotaraxanthin B,
schmaler Zwischenraum,
- 30 hellgelb: Neotaraxanthin C,
sehr breiter Zwischenraum,
- 40 hellorange: Taraxanthin.

Ein sehr ähnliches Chromatogramm wird auch erhalten, wenn der Katalysator auf die Neotaraxanthine einwirkt.

Die Absorptionsbanden waren in Schwefelkohlenstoff scharf und besaßen die folgenden Schwerpunkte:

Taraxanthin	501	469	440 μμ
Neotaraxanthin A	494.5	464	434 „
Neotaraxanthin B	497	470.5	443 „
Neotaraxanthin C	480	449	

Ausgangsmaterial	Verhältnis Taraxanthin: Neotaraxanthine, nach Min. Jodeinwirkung		
	0	15	30
Taraxanthin	100:0	68:32	56:44

Nach 30 Min. langem Kochen einer Lösung von Taraxanthin in Benzol betrug der letzterwähnte Quotient in zwei Parallelversuchen 83:17 bzw. 86:14.

Allgemeine Bemerkungen.

Lycopin, β-Carotin, Kryptoxanthin, Lutein (Xantophyll), Zeaxanthin und Taraxanthin liefern unter dem Einfluß von Jod oder von höherer Temperatur neue Chromatogramm-Schichten, die alle kurzweiliger absorbierten als das Ausgangsmaterial. Im Falle der beiden Kohlenwasserstoffe und des Kryptoxanthins findet man die neugebildeten Zonen knapp unterhalb des unverändert gebliebenen Farbstoffanteiles. Sind hingegen im Molekül (mindestens) zwei Hydroxyle enthalten, so zeigen sich besondere Merkmale: 1) die

isomerisierte Fraktion besitzt eine stark gesteigerte Adsorptionsaffinität, so daß sie bereits im obersten Bezirk der Kolonne hängen bleibt, während der Ausgangsfarbstoff beim Entwickeln weit tiefer vordringt; 2) beobachtet man, daß die neue Farbzone aus 2—3 Komponenten besteht, die nahe beieinander bleiben. Der Isomerisierungsvorgang ist in allen Fällen umkehrbar.

Die in der Wärme gebildeten Farbstoffe sind stets auch im Chromatogramm vorhanden, das nach einer Jodbehandlung erhalten wird, was durch zahlreiche misch-chromatographische Versuche von entsprechenden Schichten festgestellt wurde. Das gleiche gilt auch, wenn isomerisierte Komponenten als Ausgangsmaterial dienen.

Eine abschließende Erklärung der heute beschriebenen Erscheinungen kann noch nicht gegeben werden, demgemäß ist auch die benutzte Nomenklatur provisorisch. Wahrscheinlich spielen *cis-trans-Verschiebungen* eine entscheidende Rolle; bei Polyen-Alkoholen kämen auch Konfigurationsunterschiede an der CHOH-Gruppe in Betracht. Die Versuche werden im hiesigen Institut auch nach der präparativen Seite hin fortgesetzt, ferner wird das Verhalten der Polyen-carbonsäuren sowie von Farbwachsen geprüft.

Hrn. A. Polgár danken wir für experimentelle Mitarbeit.

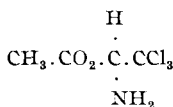
223. N. W. Hirwe (†) und K. N. Rana: Chloral-chlorsalicylsäureamide und ihre Methyläther.

[Aus d. Royal Institute of Science, Bombay, Indien.]

(Eingegangen am 5. Mai 1939.)

Die Erforschung der Chloral-salicylsäureamide, zu welcher die vorliegende Arbeit einen Beitrag darstellt, ist in doppelter Hinsicht wichtig: bezüglich des chemischen Verhaltens der Chloralamide und dann wegen der zu erwartenden therapeutischen Wirkungen. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit dem Chemismus; die therapeutische Seite harrt noch der Untersuchung.

Aldolkondensationen von Chloral mit Säureamiden sind schon lange bekannt. Wallach¹⁾ erhielt Chloralacetamid und Chloralbenzamid durch Erhitzen eines Gemisches von Chloral mit dem betreffenden Säureamid in molekularen Mengen. Dem Chloralacetamid erteilte er folgende Konstitution:



Diese wurde durch Pinner²⁾ gestützt, der Crotonchloralacetamid und Crotonchloralbenzamid auf ähnliche Weise darstellte. Schiff³⁾, welcher Chloralacetamid durch die Einwirkung von Acetylchlorid auf Chloralammoniak darstellte, gab folgende Konstitutionsformel: $\text{R} \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}(\text{OH}) \cdot \text{CCl}_3$.

Diese Konstitution ist dann allgemein angenommen worden und seither wurden verschiedene Chloralamide dargestellt.

Im folgenden soll sowohl auf die Kondensationen der Chlorsalicylsäureamide und ihrer Methyläther mit Chloral als auch auf die Chlorierung von Chlorsalicylsäureamid und seines Methyläthers eingegangen werden.

¹⁾ B. **5**, 251—257 [1872]; vergl. auch Jacobsen, A. **157**, 245 [1871].

²⁾ A. **179**, 40 [1875].

³⁾ B. **10**, 168 [1877]; vergl. auch Schiff u. Tassinari, B. **10**, 1783 [1877].