

II) *N*-Methyl-2-[γ,γ,γ -Trichlor- β -oxy-propyl]-pyridinium-jod-methylat,
 $[\text{C}_8\text{H}_8\text{OCl}_3:\text{NCH}_3]\text{J}$.

Die Lösung von 1.83 g des unter C) I) beschriebenen Methylsulfats in 3.5 ccm Wasser wurde mit einer Lösung von 1.2 g statt 0.83 g Jodkalium in 2 ccm Wasser versetzt. Es fiel ein feines krystallines Pulver vom Schmp. 186—187° aus.

0.1683 g Sbst.: 0.1034 g AgJ.

$[\text{C}_8\text{H}_8\text{OCl}_3:\text{NCH}_3]\text{J}$. Ber. J 33.2. Gef. J 33.2.

III) Oxydation des *N*-Methyl-2-[γ,γ,γ -Trichlor- β -oxy-propyl]-pyridinium-methylsulfats mit Permanganat.

Die siedende Lösung von 9 g (0.025 Mol) des Methylsulfats C) I) in 75 ccm Wasser wurde nach und nach mit einer Lösung von 5 g Kaliumpermanganat und 2.5 g konz. Schwefelsäure in 150 ccm Wasser versetzt. Das Permanganat wurde sofort reduziert. Aus der in der oben unter B) V) beschriebenen Weise aufgearbeiteten Oxydationsflüssigkeit wurden Chloroform und α -Picolinsäure vom Schmp. 134.5—136° erhalten.

283. L. Zechmeister, L. v. Cholnoky und A. Polgár: Über die Isomerisierung des Zeaxanthins und Physaliens.

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

(Eingegangen am 31. Juli 1939.)

Zeaxanthin.

Die Gestalt von Carotinoid-Molekülen ist weniger starr, als bisher angenommen wurde, und unterliegt bereits einer Änderung, wenn die Lösung bei Raumtemperatur aufbewahrt wird. Wie kürzlich mitgeteilt¹⁾, setzt die umkehrbare Isomerisierung sehr rasch beim Kochen ein oder auch in der Kälte, unter dem katalytischen Einfluß von Jod.

Gießt man eine so vorbehandelte Zeaxanthin-Lösung in Benzol auf eine Calciumcarbonat-Säule und entwickelt, so bleibt hoch oben eine Doppelschicht hängen (Neozeaxanthin A und B), während der unverändert gebliebene Pigmentanteil viel tiefer vordringt; außerdem zeigen sich untergeordnete Mengen von Neozeaxanthin C. Alle diese Abarten des Zeaxanthins sind kristallisierbar und wurden nun in präparativem Maßstabe dargestellt. Die Isomere können bei Luftabschluß ohne Änderung aufbewahrt werden, sobald man sie aber in Lösung bringt, streben sie einem Gleichgewicht aller Komponenten zu, was sich auch im Chromatogramm kundgibt.

Zur weiteren Prüfung der neuen Farbstoffe haben wir die Polarimetrie angewandt, welche vor 10 Jahren in das Gebiet der Carotinoide eingeführt wurde²⁾. Unsere Zeaxanthin-Präparate, die aus den Beeren von *Lycium halimifolium*, durch Verseifen des Dipalmitates Physalien bereitet wurden, erwiesen sich auch nach sorgfältiger chromatographischer Reinigung als linksdrehend, $[\alpha]_D^{20}$: —40° bis —42.5°. Kocht man die frisch bereitete Benzol-Lösung unter Rückfluß 30 Min. oder versetzt sie mit etwas Jod und läßt 30 Min. in der Kälte stehen, so schlägt die Drehungsrichtung in Positiv um, was auf die Anwesenheit einer stark rechtsdrehenden Komponente im Gemisch hindeutet.

¹⁾ L. Zechmeister u. P. Tuzson, *Nature* (London) **141**, 249 [1938]; *Biochem. Journ.* **32**, 1305 [1938]; *B.* **72**, 1340 [1939].—Vergl. A. E. Gillam u. M. S. el Ridi, *Biochem. Journ.* **30**, 1735 [1938]; A. E. Gillam, S. M. el Ridi u. S. K. Kon, *Biochem. Journ.* **31**, 1605 [1937].

²⁾ L. Zechmeister u. P. Tuzson, *B.* **62**, 2226 [1929].

In der Tat zeigt derjenige Farbstoffanteil, welcher mit der größten Adsorptionsaffinität ausgestattet ist, nämlich das Neozeaxanthin A, die spezif. Drehung $[\alpha]_D$: $+120^\circ$. An dem Neozeaxanthin B beobachteten wir schwache Linksdrehungen, manchmal auch eine schwache Rechtsdrehung; die kleinen Winkel gestatten hier noch keine bindende Zahlenangabe.

Die Neozeaxanthine A und B sind einander außerordentlich ähnlich, so daß sie in Lösung lediglich am Polarimeter unterschieden werden, während das Spektroskop versagt. Weit ausgeprägter ist ihre Abweichung vom natürlichen Zeaxanthin, was sich durch bedeutende spektroskopische und chromatographische Unterschiede kundgibt. Die letzteren kommen aber in einer Aluminiumoxyd-Säule nicht zum Ausdruck, da sie allzu stark wirkt und zur Scheidung der Zeaxanthine ungeeignet ist.

In Zusammenhang mit dem polarimetrischen Unterscheidungsmerkmal sei noch darauf hingewiesen, daß die in der Literatur für Zeaxanthin verzeichneten Drehwerte sehr stark voneinander abweichen, was bereits vor 5 Jahren von R. Kuhn und Chr. Grundmann³⁾ betont wurde. Hier seien z. B. die folgenden Angaben zusammengestellt:

Droge	$[\alpha]_D$ bzw. $[\alpha]_{Ca}$	Autor
<i>Zea mays</i>	schwach linksdrehend	P. Karrer, H. Wehrli u. A. Helfenstein ⁴⁾
<i>Physalis Alkekengi</i> u. <i>Ph. Franchetti</i>	$0^\circ (\pm 5^\circ)$	R. Kuhn u. Chr. Grundmann ³⁾
<i>Physalis</i>	-70°	R. Kuhn, A. Winterstein u. W. Kaufmann ⁵⁾
<i>Evonymus europaeus</i>	-44°	L. Zechmeister u. P. Tuzson ⁶⁾
<i>Lycium halimifolium</i>	-44°	Dieselbe u. L. v. Cholnoky ⁷⁾
<i>Capsicum annum</i>	-54°	Dieselben ⁸⁾

Rechtsdrehende Zeaxanthin-Präparate wurden in unserem Laboratorium bisher nicht beobachtet und eine (annähernde) Inaktivität wohl nur dann, wenn die Anwesenheit des stark rechtsdrehenden Neozeaxanthins A nicht ganz ausgeschlossen werden konnte. Immerhin kann das Zeaxanthin noch nicht endgültig in die sterische Reihe der Polyen-Alkohole eingeordnet werden, so daß wir eine Neuuntersuchung unter Rücksichtnahme auf die folgenden Punkte beabsichtigen: Herkunft des Farbstoffs, freies bzw. verestertes Vorkommen, Isomerie-Erscheinungen.

Physalien.

Als ein erstes Beispiel für die Farbwachse haben wir das natürliche Dipalmitat des Zeaxanthins, das Lycium-Physalien, untersucht. Es dreht nach links und ist leicht reversibel isomerisierbar, wobei nur ein neuer Farbstoff, das ebenfalls linksdrehende Neophysalien, gebildet wird. Im Chromatogramm erscheint das letztere knapp unterhalb des Naturstoffes, von welchem sein Adsorbat sich durch den weniger rötlichen Farbton unterscheidet.

³⁾ B. **67**, 596 [1934].

⁴⁾ Helv. chim. Acta **13**, 268 [1930].

⁵⁾ B. **63**, 1489 [1930].

⁶⁾ Ztschr. physiol. Chem. **196**, 199 [1931].

⁷⁾ A. **481**, 42 [1930].

⁸⁾ A. **509**, 269 [1934].

Die optischen Schwerpunkte des Neophysaliens sind kurzwelliger als diejenigen des Physaliens, und zwar fallen sie genau mit den Extinktionsmaxima der Neozeaxanthine A und B zusammen. Die Molekülgestalt und das Chromophor müssen in beiden Fällen identisch sein. Infolge seines tiefliegenden Schmelzpunktes konnte das Neophysalien bisher nicht kristallisiert, wohl aber in kristallinisches Physalien zurückverwandelt werden. Beim langsamen Verseifen des Esters erhält man ein Gemisch von Zeaxanthin und seiner drei Isomeren.

Mit der präparativen und optischen Bearbeitung von Isomerisierungsprodukten weiterer Carotinoide sind wir beschäftigt; es liegen bereits mehrere neue Krystallisate vor.

Theoretisches.

Was die Deutung der heute beschriebenen Erscheinungen betrifft, so sind wir darüber im klaren, daß eine endgültige Festlegung der jeweiligen Molekülgestalt und somit die abschließende Diagnose des Isomerisierungsvorganges nur auf physikalischem Wege erreichbar ist. Solange entsprechende Messungen, die wir einleiten wollen, nicht vorliegen, kann jede Erklärung nur mit Vorbehalt gegeben werden. Dies vorausgeschickt, folgen nachstehend einige theoretische Gedankengänge.

Alle bisher untersuchten Carotinoide liefern leichter lösliche, niedriger schmelzende und kurzwelliger absorbierende Isomere, wobei aber die Adsorptionssäule zwei scharf zu unterscheidende Unterklassen anzeigt:

1) Die epiphasischen (oder nur teils hypophasischen) freien Polyene: β -Carotin, α -Carotin, Lycopin, Kryptoxanthin, ebenso auch die Farbwachse, wie Physalien, natürliches und synthetisches Capsanthin- und Capsorubin-dipalmitat und endlich auch das Tetraketon Carotinon liefern etwas schwächer adsorbierbare Isomere als der Naturstoff; das Isomerisat wird eben unterhalb des unverändert gebliebenen Pigmentanteils in der Säule festgehalten.

2) Die ausgesprochen hypophasischen Carotinoide mit mindestens zwei freien Hydroxylgruppen wie Zeaxanthin, Lutein (Xanthophyll), Taraxanthin, Capsanthin und Capsorubin werden dagegen partiell in solche Farbstoffe verwandelt, die stark gesteigerte Adsorptionskraft zeigen und in der Calciumcarbonat-Säule viel höher als das natürliche Polyen hängenbleiben.

Wir glauben nicht, daß alle diese Erscheinungen durch eine Wanderung von Doppelbindungen verursacht werden können, und gegen eine solche Hypothese spricht auch das Isomerisationsvermögen des Carotinons, dessen Chromophor durch Carbonyle so blockiert ist, daß eine Doppelbindung höchstens in eine Methyl-Seitenkette abwandern könnte.

Weiter kommt man durch die Annahme von *cis-trans*-Verschiebungen, umso mehr, als *cis-trans*-Isomere in der Tswettschen Säule grundsätzlich getrennt werden können⁹⁾. Besteht die erste Phase der Umwandlung des Zeaxanthins in einer Krümmung des Moleküls, so kann sich der Abstand zwischen den beiden Hydroxylen so weitgehend verringern, daß infolge Salz- bzw. Komplexbildung die Haftfestigkeit am Calciumcarbonat sprunghaft ansteigt. Hand in Hand damit kann auch eine partielle Konfigurations-

⁹⁾ A. H. Cook, Journ. chem. Soc. **1938**, 876. — L. Zechmeister, O. Frehdén u. P. Fischer Jörgensen, Naturwiss. **26**, 495 [1938]. — J. M. Robertson, Journ. chem. Soc. London **1939**, 232.

änderung an den sekundären Alkoholgruppen eintreten, mit dem Ergebnis, daß ein Gemisch von Neozeaxanthin A und B gebildet wird, dessen Komponenten sich lediglich durch ihr Drehvermögen unterscheiden, aber das gleiche Chromophor besitzen.

Wird das Zeaxanthin mit Palmitinsäure verestert, so verschwinden die starken Haftstellen, und die Verhältnisse werden denjenigen ähnlich, die bei den Kohlenwasserstoffen obwalten. Bezeichnend ist das Verhalten des Kryptoxanthins, dessen einzige Hydroxylgruppe zur Ausbildung der „anomal“ starken Adsorptionsaffinität nicht genügt.

Der stabilisierende Einfluß des Acyls führt auch dazu, daß der veresterte Farbstoff nur ein (Haupt-) Isomeres liefert, der freie Farbstoff aber deren zwei, da räumliche Umstellungen am CHOAc schwieriger eintreten als an der CHOH-Gruppe. In bezug auf die räumlichen Stabilitätsverhältnisse darf man vielleicht als Modell für die Neozeaxanthine A und B die α - und β -Glucose heranziehen, für das Neophysalien aber ein Methylglucosid.

Praktische Folgerungen.

Auf Grund des besprochenen Tatbestandes wird auf dem Gebiet der Carotinoide manche Literaturangabe zu überprüfen sein, da man oft mit Lösungen gearbeitet und an ihnen Messungen vorgenommen hat, welche zwar aus reinen Krystallen bereitet worden sind, aber dennoch ein Gemisch enthielten, und noch dazu ein solches, dessen Bestand durch Aufbewahren, Erhitzen, Abdampfen usw. sich verändert. Die gelegentliche Beobachtung von unerwartet scharfen oder von ganz verwaschenen Absorptionsspektren wird oft auf die Ab- bzw. Anwesenheit von eigenen Isomerisaten und nicht von fremden Nebenfarbstoffen zurückzuführen sein. Drehvermögen, Farbstärke, Extinktionskoeffizient usw. sollten an kalt bereiteten, frischen Lösungen ermittelt werden. Wiederholt beobachtete Schwankungen des Schmelzpunktes oder des mikroskopischen Bildes gehören teils ebenfalls in diese Erscheinungsgruppe, wie auch überraschend geringe Ausbeuten an einem Krystallinat bzw. anomale Verzögerungen bei der Bildung des Krystallgitters.

Wir sind ferner damit beschäftigt, Autoxydations- und Isomerisierungserscheinungen schärfer, wie bisher geschehen, auseinanderzuhalten, wobei die Umkehrbarkeit der letzteren als ein wichtiges Unterscheidungsmerkmal dient.

Unter Umständen zeigt das Chromatogramm pflanzlicher oder tierischer Auszüge Nebenfarbstoffe an, die während des Arbeitsganges entstanden sind und im Gewebe gar nicht vorkommen. In zweifelhaften Fällen prüfe man, ob der betreffende Pigmentanteil umkehrbar in ein bekanntes Carotinoid übergeführt werden kann oder nicht. Andererseits ergibt sich ein neues Problem, betreffend das Vorliegen von isomerisiertem Polyen in Körperflüssigkeiten, farbigen Fett-Depots usw.

Beschreibung der Versuche.

I. Zeaxanthin und sein Isomerisat.

Ausgangsmaterial und seine Wärme-Isomerisierung. Wir verwendeten chromatographisch einheitliche Zeaxanthin-Präparate, die aus den Beeren von *Lycium halimifolium* gewonnen wurden. Schmp. 205° (Berl-Block), optische Schwerpunkte der frisch bereiteten Lösung: in Benzol 496, 463 $\mu\mu$,

in Schwefelkohlenstoff: 517, 482 $\mu\mu$, in Benzin: 484.5, 453 $\mu\mu$, in Alkohol: 484, 452 $\mu\mu$.

$[\alpha]_D^{20} = -(100 \times 0.07^\circ) : (1 \times 0.176) = -40^\circ$ (in Chloroform).

Drei andere Präparate zeigten -40° , -42° , -42.5° .

5.5 mg wurden in kaltem Alkohol gelöst, durch Wegwaschen des letzteren in Benzol übergeführt und auf Calciumcarbonat chromatographiert¹⁰). Den Pigmentinhalt der Hauptschicht haben wir dann (nach dem Verwerfen belangloser Nebenzone) in 50 ccm Benzol 30 Min. unter Rückfluß gekocht und auf das CaCO_3 gegossen. Vergleich aller drei Schichten mikro-colorimetrisch (Neozeaxanthin C entsteht beim Kochen nicht). Bei analogen Versuchen diente das entstandene, chromatographisch einheitliche Neozeaxanthin A bzw. B als Ausgangslösung für den Wärme-Versuch:

Ausgangsmaterial	Colorimetrisches Verhältnis Zeaxanthin:Neozeaxanthin A:Neozeaxanthin B, nach 30 Min. Kochen der Benzollösung	
	Versuch 1	Versuch 2
Zeaxanthin	70:24:6	70:24:6
Neozeaxanthin A	60:35:5	61:32:7
Neozeaxanthin B	46:20:34	51:13:36

Nach 12- bzw. 36-stdg. Stehenlassen einer Lösung von Zeaxanthin in Benzol im Dunkeln, bei 25° lagen 96 bzw. 94% des Farbstoffs unverändert vor, während der Rest isomerisiert war.

Isolierung der Neozeaxanthine. Die Lösung von 570 mg einheitlichem Zeaxanthin in 1000 ccm Benzol wurde 12 Stdn. mit 2 mg Jod im Dunkeln aufbewahrt und in fünf Portionen chromatographiert (Maße des Rohres¹¹) 30 \times 7.5 cm, Füllmasse: 1 Tl. Calc. carbonic. leviss. Merck + 2.5 Tle. Calc. carbonic. praecipitat). Man entwickelte mit etwa 400 ccm Benzol, bis sich das folgende Säulenbild zeigte (links Dicke der Scheiben in mm):

- 12 orangegelb: Neozeaxanthin A,
- 4 Zwischenraum (sehr blaß, diffus gelblich),
- 30 hellgelb: Neozeaxanthin B,
- 50 Zwischenraum (mit Spuren von Neozeaxanthin C),
- 150 orangegelb (dunkler als A): Zeaxanthin.

Die Neozeaxanthine wurden mit Alkohol eluiert und mit entspr. Anteilen der anderen 4 Ansätze vereinigt. Wir führten dann die gesamte A-Fraktion in 250 ccm, die B-Fraktion in 450 ccm Benzol über und chromatographierten wie oben. Es genügten hierzu 1 bzw. 2 Adsorptionrohre (26 \times 4 cm) für das Isomere A bzw. B, welche nach dem Entwickeln mit Benzol jeweils die Hauptschicht bildeten. Im ersteren Falle war außerdem Zeaxanthin sowie sehr wenig B als Nebenfarbstoff zugegen, im zweiten Falle nur Zeaxanthin.

Nun wurde das Benzol mit Petroläther (Sdp. bis 45°) aus der Kolonne verdrängt, worauf man die Hauptschicht (A bzw. B) mit Äther eluierte, der, im Vak. bei 25° sofort verjagt, mikrokristallinischen Farbstoff hinterließ.

¹⁰) Am besten bewährt hat sich hier ein Gemisch von 1 Tl. Calc. carbonic. leviss. Merck und von 3 Tln. Calc. carbonic. praecipitat. Merck.

¹¹) Abbildung der Adsorptionsvorrichtung: L. Zechmeister u. L. v. Cholnoky, Die chromatographische Adsorptionsmethode, 2. Aufl., S. 62 (Abbild. 19), Wien, Julius Springer (1938).

Man löste in etwa 15—20 ccm kaltem Methanol und setzte, ohne von ungelösten Partikelchen zu filtrieren, 50-proz. Methanol bis zur bleibenden Trübung zu. Nach dem Stehenlassen im Eisschrank, über Nacht, wurden die roten Krystalle abgesaugt, mit kaltem 50-proz. Holzgeist nachgewaschen und im Vakuumexsiccator getrocknet. Ausb.: 65 mg Neozeaxanthin A bzw. 53 mg Neozeaxanthin B.

Wird der Versuch bis zum Auskrystallisieren und Wiederauflösen der Rohprodukte innerhalb 1 Arbeitstages beendet, so ist eine einigermaßen erhebliche Rück-Isomerisierung nicht zu befürchten.

Zur Kontrolle haben wir frisch bereitete Lösungen der Krystalle in Benzol auf Calciumcarbonat in kleinen Röhren chromatographiert (rechts Prozente der colorimetrischen Gesamtstärke):

Neozeaxanthin A:	Neozeaxanthin B:
10 dunkelorange: Neozeaxanthin A (95%),	10 orange: Neozeaxanthin B (98%),
1 Zwischenraum,	35 Zwischenraum,
blasser Strich: Neozeaxanthin B (< 1%),	3 gelb, diffus: Zeaxanthin (1—2%).
10 Zwischenraum,	
10 hellgelb: Zeaxanthin (4—5%).	

Da die Neokörper farbschwächer sind als Zeaxanthin, ist der mengenmäßige Gehalt an den letzteren in Wahrheit noch geringer, als angegeben.

Neozeaxanthin A bildet sehr kleine mikroskopische Blättchen aus verd. Methanol.

Die Verbindung ist leichter löslich als Neozeaxanthin B oder Zeaxanthin und krystallisiert merklich schwieriger. Sie schmilzt unscharf gegen 106° (korr.), wobei z. B. etwa 70% in Zeaxanthin, 10% in das B-Isomere umgewandelt werden. Reines Neozeaxanthin A besitzt die folgende Zusammensetzung:

4.419 mg Sbst.: 13.600 mg CO₂, 3.924 mg H₂O.

C₄₀H₅₆O₂. Ber. C 84.44, H 9.93. Gef. C 83.92, H 9.94.

Optische Schwerpunkte von frischen Lösungen:

In Schwefelkohlenstoff ...	508,	475.5 μμ
In Benzol	489,	457.5 μμ
In Benzin	477,	447 μμ
In Alkohol	478.5,	448.5 μμ

Die spezif. Drehung wurde an zwei Präparaten ermittelt, von denen eines durch Kochen von Zeaxanthin in Benzol während 40 Min., das andere durch Jod-Katalyse bereitete worden war.

$[\alpha]_D = + (100 \times 0.32^\circ) : (2 \times 0.142) = + 113^\circ$ (in Chloroform).

$[\alpha]_D = + (100 \times 0.17^\circ) : (1 \times 0.153) = + 111^\circ$ (in Chloroform).

Gleichzeitig wurde chromatographisch ermittelt, daß etwa 5% des untersuchten Präparates in Zeaxanthin zurückverwandelt wurden, das wahre spezif. Drehungsvermögen darf also mit rund +120° angegeben werden.

Eine Lösung von rund 15 mg Neozeaxanthin A in 100 ccm Benzol enthielt nach 5-, 20-, 30- bzw. 50-stdg. Stehenlassen bei 25° im Dunkeln unter Kohlendioxid 90, 79, 76 bzw. 75% des Ausgangsmaterials noch unverändert (colorimetrisch). Das Isomerisat bestand vorwiegend aus Zeaxanthin und aus etwas B.

Neozeaxanthin B krystallisiert aus verd. Methylalkohol sehr gut und bildet flache, schräg abgeschnittene Tafeln, die unter dem Mikroskop in Form und Farbe an Zeaxanthin erinnern.

3.999 mg Sbst.: 12.330 mg CO₂, 3.537 mg H₂O.

C₄₀H₅₆O₂. Ber. C 84.44, H 9.93. Gef. C 84.09, H 9.90.

Unser bestes Präparat schmolz unscharf bei 92° (korr.); das Chromatogramm der wieder erstarrten Substanz zeigte, daß etwa 90% unverändert geblieben sind, der Rest bestand vornehmlich aus Zeaxanthin, mit einer Spur des A-Isomeren.

Die optischen Schwerpunkte stimmten mit denjenigen des Neozeaxanthins A innerhalb 0.5 μμ überein. Die Bestimmung des Drehvermögens ergab schwankende Werte, z. B.:

$$[\alpha]_D = - (100 \times 0.03^\circ) : (2 \times 0.168) = - 9^\circ \text{ (in Chloroform).}$$

$$[\alpha]_D = + (100 \times 0.01^\circ) : (1 \times 0.165) = + 6^\circ \text{ (in Chloroform).}$$

Zur Untersuchung der Beständigkeit von B-Lösungen bei 25° wurden 8 mg in 100 ccm Benzol im Dunkeln, unter CO₂ aufbewahrt. Es zeigte sich, daß die Beständigkeit diejenige des A-Isomeren übertrifft; nach 6, 20 bzw. 30 Stdn. entfielen nämlich 98, 95 bzw. 95% der gesamten Farbstärke auf unverändertes Ausgangsmaterial. Der isomerisierte Anteil bestand nach 6 Stdn. ausschließlich, später vorwiegend aus Zeaxanthin.

Neozeaxanthin C. Die Darstellung geschah in einem besonderen Versuch und soll in größerem Maßstabe noch wiederholt werden. Sie gelingt nur, wenn das Chromatogramm sehr stark entwickelt und auseinandergezogen wird, was die in einem Adsorptionsrohr verarbeitete Menge beschränkt. Der Gang des Versuches war auch hier: Benzollösung + Jod, Chromatographie auf Calciumcarbonat, Elution mit Äther, Umkrystallisieren aus Schwefelkohlenstoff + Benzin. Durch anteilsweise Isomerisierung von 200 mg natürlichem Zeaxanthin erhielten wir insgesamt 1.5 mg Neozeaxanthin C in Form von kleinen Krystallen.

Optische Schwerpunkte: in Schwefelkohlenstoff . . .	502,	470	μμ
in Benzol	485.5,	455	μμ
in Benzin	473.5,	444	μμ
in Alkohol	473,	443.5	μμ

Das Präparat schmolz unscharf bei 154° (korr.) und isomerisierte sich dabei zu etwa 2/3.

II. Physalien und Neophysalien.

Als Ausgangsmaterial diente ein wohlkrystallinisches, chromatographisch einheitliches Physalien-Präparat aus Lycium halimifolium; Schmp. 95°, opt. Schwerpunkte in Schwefelkohlenstoff: 516, 481 μμ, in Benzol: 495, 461 μμ, in Benzin: 483.5, 453.5 μμ.

$$[\alpha]_D = - (100 \times 0.25^\circ) : (2 \times 0.276) = - 45^\circ \text{ (in Chloroform),}$$

$$[\alpha]_D = - (100 \times 0.15^\circ) : (2 \times 0.240) = - 31^\circ \text{ (in Benzol).}$$

Isomerisierung in der Wärme. Je 5 mg Physalien in 50 ccm Benzin (Sdp. 70—80°) wurden unter Rückfluß gekocht, nach dem Abkühlen auf Calcium carbon. leviss. + Calc. carbon. praecipitat (1:3) chromatographiert und mit dem genannten Lösungsmittel entwickelt (Rohrmaße 23×3 cm). Man sah eine Physalienzone und unmittelbar darunter eine Neophysalien-schicht, die heller und weniger rotstichig war als der Naturstoff. Nach der Elution und Überführung in Benzin wurde das nachstehende Verhältnis der

Ausgangsmaterial	Gef. colorimetrisches Verhältnis Physalien:Neophysalien nach Min. Kochen				
	0	15	30	60	120
Physalien	100:0	68:32	65:35	58:42	58:42
Neophysalien	0:100	38:62	44:56		66:34

Farbstärken ermittelt. In Parallelversuchen diente chromatographisch einheitliches Neophysalien als Ausgangsmaterial.

Isomerisierung durch Jod-Katalyse. Es wurden je 50 γ Jod auf 5 mg Farbstoff in 50 ccm Benzin angewandt; im übrigen war die Versuchsführung die soeben beschriebene.

Ausgangsmaterial	Gef. colorimetrisches Verhältnis			
	Physalien:Neophysalien nach Min. Jodeinwirkung			
	0	15	30	60
Physalien	100:0	89:11	63:37	45:55
Neophysalien	0:100		50:50	54:46

Die in der Wärme bzw. mit Jod erhaltenen Neophysalien-Fractionen sind im Misch-Chromatogramm untrennbar.

Neophysalien ist leichter löslich als das Naturprodukt, namentlich in Alkoholen. Versetzt man eine Benzollösung mit absol. Methyl- oder Äthylalkohol, so krystallisiert das Physalien fast vollständig aus, während unter ähnlichen Bedingungen das Neophysalien als ein Öl erscheint und größtenteils in der Mutterlauge enthalten ist. Auch bei -20° gelang es uns nicht, das dicke, rote Öl zum Krystallisieren zu bringen. Erhitzt man seine starke Benzollösung und setzt dann Alkohol zu, so erscheinen bereits in der Wärme Krystalle, die aber vorwiegend aus gewöhnlichem Physalien bestehen, mit kleinen Einschlüssen des Isomerisierungsproduktes, die man in der CaCO_3 -Säule leicht entfernen kann. Aluminiumoxyd ist zur Scheidung ungeeignet.

Das Spektrum wird am besten mit Hilfe einer frischen Lösung ermittelt, obzwar Stehenlassen während einiger Stunden kaum etwas ausmacht. Nach 1 Tag sind aber die Bänder, infolge teilweiser Rückverwandlung, bereits verschwommen.

Optische Schwerpunkte: in Schwefelkohlenstoff ... 508.5, 476.5 $\mu\mu$
 in Benzol 490, 457 $\mu\mu$
 in Benzin 478, 447 $\mu\mu$

Das Drehungsvermögen wurde an zwei unabhängigen Präparaten gemessen:

$[\alpha]_D = - (100 \times 0.09^{\circ}) : (1 \times 0.433) = - 21^{\circ}$ (in Chloroform)

$[\alpha]_D = - (100 \times 0.05^{\circ}) : (1 \times 0.228) = - 22^{\circ}$ (in Chloroform).

Nach der Messung zeigte die chromatographische Kontrolle Einheitlichkeit an.

Verseifung: Die chromatographisch einheitliche, ätherische Neophysalienlösung wurde 15 Stdn. mit konz. methylalkoholischem Kali stehen gelassen, sodann die mit Wasser erhaltene Oberschicht gewaschen, getrocknet und verdampft. Die Lösung des uneinheitlichen Rückstandes drehte:

$[\alpha]_D = + (100 \times 0.05^{\circ}) : (1 \times 0.182) = + 28^{\circ}$ (in Chloroform).

Der Vakuum-Abdampfückstand des Chloroforms lieferte in Benzol, auf Calciumcarbonat (1:3) das folgende Chromatogramm:

- 15 citronengelb: Neozeaxanthin A (22%),
- 2 Zwischenraum,
- 30 gelb: Neozeaxanthin B (30%),
- 60 Zwischenraum,
- 3 blaßgelb: Neozeaxanthin C (4%),
- Zwischenraum,
- 40 orangegelb: Zeaxanthin (44%).

Die Farbschichten wurden spektroskopisch und misch-chromatographisch identifiziert.

Hrn. E. Neumann danken wir für die Mithilfe bei den Versuchen.