

66. Rubichrom, ein neues, natürlich vorkommendes Carotinoid mit furanoidem Ringsystem

von P. Karrer, E. Jucker und K. Steinlin.

(29. I. 47.)

Über Carotinoidfarbstoffe aus Tagetes-Blüten liegen einige Untersuchungen aus früheren Jahren vor. *R. Kuhn*, *Winterstein* und *Lederer*¹⁾ fanden in *Tagetes grandiflora*, *T. nana* und *T. patula* Xanthophyll, in ersterem ausserdem Violaxanthin.

Eine Neubearbeitung der Farbstoffe aus Blüten von *Tagetes patula* (*nana flora plenum*), die im Herbst gepflückt worden waren, ergab eine viel grössere Reichhaltigkeit an Carotinoidpigmenten. Neben dem Hauptfarbstoff, dem Xanthophyll, konnten wir nachweisen und chromatographisch trennen: β -Carotin, α -Carotin, Xanthophyll-epoxyd, Lycopin, Rubixanthin, sowie einen neuen, bisher unbekanntes Carotinoidfarbstoff, dem wir den Namen Rubichrom zuerteilen.

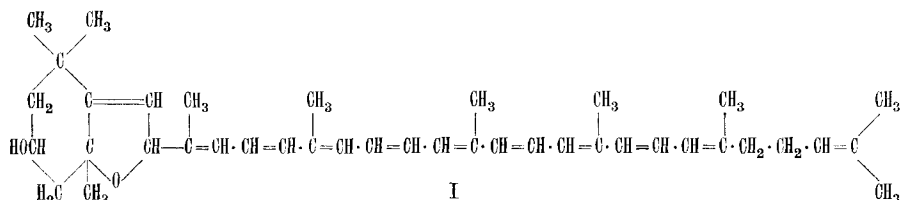
Rubichrom ist eine gut krystallisierte Verbindung vom Smp. 154°. Sie besitzt die Bruttoformel $C_{40}H_{56}O_2$. Von den beiden Sauerstoffatomen gehört nur eines einer Hydroxylgruppe an (1 aktives H-Atom bei der *Zerewitinoff*-Bestimmung), das andere ist ätherartig gebunden. Rubichrom ist kein Carotinoid-(1,2)-epoxyd, denn es lässt sich durch chlorwasserstoffhaltiges Chloroform nicht umlagern. Infolgedessen kommt für die Substanz die Formel eines furanoiden Oxyds in Frage. Diese wird durch den positiven Ausfall der Salzsäurereaktion bestätigt: wenn man die ätherische Lösung des Rubichroms mit konz. wässriger Salzsäure durchschüttelt, so färbt sich die Salzsäureschicht, wie bei anderen furanoiden Oxyden der Carotinreihe mit einem Furanring, mässig stark blau; diese Färbung ist tagelang beständig.

Rubichrom besitzt in Schwefelkohlenstoff Absorptionsmaxima bei 506 und 476 m μ . Da die längstwellige Bande eines mono-furanoiden Oxydes eines Carotinfarbstoffes in Schwefelkohlenstoff stets 27–30 m μ kürzerwellig liegt als diejenige des Pigmentes, von dem es sich ableitet, muss der Farbstoff, dessen furanoides Oxyd das Rubichrom ist, in CS₂ Absorptionsmaxima bei ca. 533–536 m μ und 492–496 m μ besitzen. Dieses Absorptionsspektrum kommt dem Rubixanthin zu (Absorptionsmaxima 534, 493 m μ). Rubichrom besitzt daher folgende Konstitution I (S. 532).

Mit dieser Formel stimmen auch alle übrigen Eigenschaften des Pigmentes überein: Bei der Verteilung zwischen Methanol und Petrol-

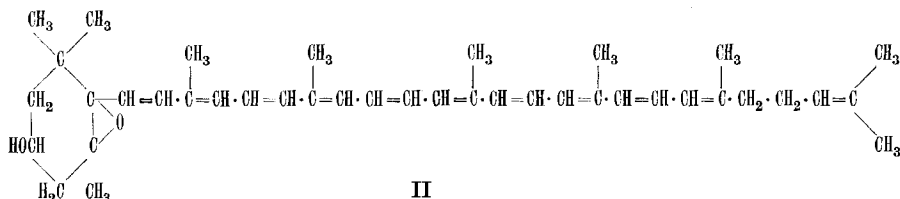
¹⁾ Z. physiol. Ch. **197**, 141 (1931).

äther nehmen beide Schichten nach Art von Mono-hydroxy-carotinoiden Farbstoff auf; im Chromatogramm findet man Rubichrom unterhalb des Xanthophylls, wie dies die unten aufgestellte Konstitutionsformel erwarten lässt.



Es ist schon erwähnt worden, dass die untersuchten Tagetesblüten auch Rubixanthin enthielten. Das Rubichrom ist daher sehr wahrscheinlich in der Pflanze aus Rubixanthin gebildet worden, wobei Rubixanthin-epoxyd als Zwischenprodukt auftreten wird. Letzteres konnten wir in unserem im Herbst gesammelten Blütenmaterial nicht feststellen; es ist aber denkbar, dass es zu anderen Jahreszeiten in den Blüten vorkommt. Auch bei der Untersuchung der Blüten des Stiefmütterchens hatte sich s. Zt.¹⁾ gezeigt, dass diese im Frühjahr neben dem Di-epoxyd Violaxanthin, dessen furanoides Umlagerungsprodukt, das Auroxanthin, nur in kleiner Menge enthalten, während letzteres in den Sommer- und Herbstmonaten, d. h. in den Blüten älterer Pflanzen, sehr stark zunimmt.

Wir haben versucht, die Konstitution des Rubichroms auch durch synthetische Versuche zu stützen. Dieser Weg musste über das Rubixanthin-epoxyd (II)



führen. Die Oxydation des Rubixanthins wurde in gewohnter Weise mit Phtalpersäure ausgeführt. Leider verlief sie mit schlechter Ausbeute an Epoxyd, was darauf zurückzuführen ist, dass die Rubixanthinmolekel nicht beidseitig von Jonon-kohlenstoffringen begrenzt wird; offenkettige Struktur bei Carotinoidfarbstoffen gibt, wie wir von anderen Beispielen wissen (Lycopin u. a.), bei Oxydationen mit Phtalpersäure zu uneinheitlichem und unübersichtlichem Reaktionsverlauf Anlass. Immerhin ist es gelungen, eine kleine Menge Rubixanthin-epoxyd krystallisiert zu erhalten und es dreimal umzukrystallisieren. Smp. 170—171°. Die Absorptionsspektren waren die er-

¹⁾ P. Karrer, E. Jucker, J. Rutschmann, K. Steinlin, Helv. **28**, 1149 (1945).

warteten (in CS_2 7 $m\mu$ kürzerwellig als diejenigen des Rubixanthins, vgl. experim. Teil). Die Analyse des Präparates stimmte ungefähr auf die Formel $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}_2 + 0,5$ bis 1 Mol. H_2O ; aus Mangel an Substanz liess sich leider nicht feststellen, ob diese nach weiterem Trocknen auf die wasserfreie Formel berechnete Analysenwerte ergeben hätte.

Rubixanthin-epoxyd färbt beim Versetzen seiner ätherischen Lösung mit konz. Salzsäure letztere blau; die Färbung entspricht nach Intensität und Haltbarkeit derjenigen des Rubichroms.

Rubixanthin-epoxyd wird durch Chloroform, das Spuren von Chlorwasserstoff enthielt, in derselben Weise wie andere Carotinoid-epoxyde verändert. Die Umsetzungsprodukte liessen sich nicht kristallisiert isolieren, da wir nur wenige mg Epoxyd bei dem Versuch einsetzen konnten. Die Trennung im Chromatogramm ergab 3 Zonen, welche Pigmente mit den erwarteten Eigenschaften enthielten:

unterste Schicht: zurückgebildetes Rubixanthin (Absorptionsmaxima in CS_2 534, 494 $m\mu$);
mittlere Schicht: Spuren von unverändertem Rubixanthin-epoxyd (Absorptionsmaxima in CS_2 526, 492 $m\mu$);

oberste Schicht (Hauptmenge): Farbstoff mit demselben Absorptionsspektrum, derselben Verteilung zwischen Methanol-Petroläther, demselben Adsorptionsverhalten und derselben Farbreaktion mit konz. Salzsäure wie Rubichrom.

Es kann daher kein Zweifel bestehen, dass dieses aus Rubixanthin-epoxyd durch Umlagerung entstandene furanoide Oxyd mit dem natürlichen Rubichrom identisch ist.

Zu den früher bekannt gewordenen, natürlich vorkommenden Carotinoid-epoxyden (Xanthophyll-epoxyd, Antheraxanthin, Violaxanthin, α -Carotin-epoxyd) und furanoiden Carotinoid-oxyden (Flavoxanthin, Chrysanthemaxanthin, Auroxanthin, Citroxanthin = Muta-tochrom¹⁾) kommt somit jetzt als neues das Rubichrom hinzu.

Experimenteller Teil.

Extraktion der Farbstoffe aus Blüten von *Tagetes patula*.

3,2 kg der getrockneten und fein gemahlenden *Tagetes*blüten wurden bei Zimmertemperatur dreimal mit Petroläther und hierauf mit Benzol extrahiert, die Lösungsmittel auf 600 cm^3 eingengt und das Konzentrat in drei ungefähr gleichen Portionen aufgearbeitet.

Zu jedem Anteil dieses Petroläther-Extraktes gab man 600 cm^3 Äther und 400 cm^3 12-proz. methanolische Kalilauge und liess die Mischung über Nacht bei -10° stehen. Die auskristallisierten Sterine nutschten wir ab und wuschen das Filtrat mit Wasser alkalifrei. Hierauf wurde dieses im Vakuum zur Trockene verdampft, der kristalline Rückstand wiederholt mit hochsiedendem Petroläther ausgekocht, abgenutscht und aus einem Gemisch von Methanol-Petroläther umkristallisiert. Man erhielt auf diese Weise direkt reines Xanthophyll, dessen Gewichtsmenge aus den drei Ansätzen zusammen 3,4 g betrug. Smp. 190° (unkorr., im Vakuum).

Die verschiedenen Petrolätherauszüge haben wir vereinigt und zur Trennung der darin enthaltenen Farbstoffe mit Methanol ausgeschüttelt. Dadurch wurde eine Trennung in epiphatische und hypophatische Pigmente erzielt. Die Mutterlaugen von der Xanthophyllreinigung haben wir zusammen mit der Hypophase aufgearbeitet.

¹⁾ Vgl. die nachfolgende Mitteilung.

A. Aufarbeitung der Hypophase.

Der Methanolauszug je eines Ansatzes wurde im Vakuum zur Trockene eingedampft und zwecks teilweiser Entfernung der Sterine mehrmals mit Petroläther ausgekocht. Den harzigen Rückstand nahm man in Benzol auf und chromatographierte die Lösung an einer Säule von Zinkcarbonat ($4,8 \times 60$ cm), wobei das Chromatogramm zunächst mit Benzol, dann mit einem Gemisch von Benzol und Äther entwickelt wurde. Die beobachteten Schichten waren folgende:

1. (oberste) Zone: braun 3 cm Absorpt.-Max. in CS_2 497 469 $m\mu$
2. „ „ braun 7 cm „ „ „ „ 504 470 $m\mu$
3. „ „ braun 7 cm „ „ „ „ 500 470 $m\mu$

Aus der obersten Zone liess sich kein krystallisierter Farbstoff gewinnen.

Als man das Eluat der 2. Schicht mit etwas chlorwasserstoffhaltigem Chloroform schüttelte, trat eine Verschiebung der Absorptionsmaxima ein. Der umgelagerte Farbstoff besass in Schwefelkohlenstoff die Absorptionsmaxima 476, 450 $m\mu$. Daraus kann geschlossen werden, dass Zone 2 Xanthophyll-epoxyd enthielt. Für die Isolierung des Farbstoffs war aber die Menge zu gering.

Den Farbstoff der 3. Zone haben wir nach der Elution nochmals an Zinkcarbonat chromatographiert und dabei die beiden folgenden Schichten erhalten:

- obere Schicht: braun 3 cm Absorpt.-Max. in CS_2 508 479 $m\mu$
 untere Zone: braun 8 cm „ „ „ „ 506 478 $m\mu$

Die beiden Schichten waren durch eine breite farblose Zone getrennt.

Aus der oberen liessen sich 10 mg krystallisiertes Xanthophyll gewinnen. Aus der unteren Zone erhielten wir 20 mg Farbstoff, der nach zweimaligem Umkrystallisieren aus einem Gemisch von Methanol und Äther analysenrein war.

Diese Verbindung, das Rubichrom, krystallisierte in dünnen Blättchen, die in der Aufsicht rotviolette Farbe besitzen. Smp. 154^0 (unkorr., im evakuierten Röhrchen). Die ätherische Lösung des Pigmentes färbt beim Durchschütteln mit konz. Salzsäure die letztere blau. Bei der Verteilung zwischen Methanol und Petroläther geht der Farbstoff in beide Schichten.

$\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}_2$ Ber. C 84,43 H 9,93 1 akt. H 0,17%
 Gef. „ 83,85 „ 9,75 „ „ 0,19% (Zerewitinoff-Best.)

Absorptionsmaxima: in Schwefelkohlenstoff . 506 476 $m\mu$
 in Benzol 490 458 $m\mu$
 in Alkohol 480 448 $m\mu$
 in Chloroform 488 456 $m\mu$
 in Benzin 479 448 $m\mu$

B. Aufarbeitung der Epiphase.

Das Lösungsmittel wurde im Vakuum abdestilliert und der ölige Rückstand zur teilweisen Entfernung der Sterine wiederholt mit Methanol ausgekocht. Hierauf haben wir ihn in Petroläther gelöst und an einer Calciumhydroxydsäule ($4,8 \times 60$ cm) chromatographiert:

- obere Zone: orange 8 cm Absorpt.-Max. in CS_2 unscharf ca. 530 497 $m\mu$
 untere „ gelb 8 cm „ „ „ „ 513 483 $m\mu$

Die obere Zone haben wir nach der Elution ein zweites Mal chromatographiert, wobei folgende Aufteilung stattfand:

1. (oberste) Zone: orange 3 cm Absorpt.-Max. in CS_2 —
2. „ „ 6 cm „ „ „ „ 533 493 $m\mu$
3. „ „ 3 cm „ „ „ „ 530 490 $m\mu$
4. „ gelb 5 cm „ „ „ „ 509 478 $m\mu$
5. „ „ 3 cm „ „ „ „ 503 471 $m\mu$

Der Farbstoff aus Zone 2 ist nach der Lage der Absorptionsbanden Rubixanthin; dasselbe Pigment ist auch noch in der Zone 3 enthalten. In Zone 4 sowie in der unteren Zone des vorhergehenden Chromatogramms kommen β - und α -Carotin vor. Die Mengen dieser epiphasischen Farbstoffe waren für eine Krystallisation zu gering.

Oxydation des Rubixanthins: Rubixanthin-mono-epoxyd und Rubichrom.

0,60 g Rubixanthin wurden in 50 cm³ absolutem Pyridin gelöst, diese Lösung mit 5 g Essigsäure-anhydrid versetzt und während 2 Stunden auf 50° erwärmt. Anschliessend nahm man in Äther auf, wusch wiederholt mit Wasser (15—20 mal), trocknete mit frisch geblühtem Natriumsulfat und versetzte in der Kälte mit der berechneten Menge einer ätherischen Lösung von Phtalmonopersäure (auf 1 Mol Farbstoff haben wir 1 Mol Persäure angewendet). Nach 20 Stunden war die Oxydation beendet (Raumtemperatur, im Dunkeln). Zur Entfernung der Phtalsäure wurde das Reaktionsgemisch mehrmals mit verdünnter Natronlauge ausgeschüttelt, getrocknet, im Vakuum eingengt und mit methanolischer Kalilauge verseift. Die Farbstoffe hat man in Äther übergeführt, diese Lösung mit Wasser alkalifrei gewaschen, getrocknet, das Lösungsmittel abdestilliert und den Rückstand aus einem Gemisch von Benzol und Petroläther 1:1 an einer Säule von Zinkcarbonat chromatographiert. Nach dem Entwickeln mit dem gleichen Lösungsmittelgemisch besass das Chromatogramm folgenden Bau:

- | | | |
|--------------------------------------|------------------------------|-----------------|
| 1. (oberste) Zone: 8 cm orangerot a) | Abs.-Max. in CS ₂ | 500 472 m μ |
| | b) „ „ „ „ | 528 492 m μ |
| 2. „ 3 cm rot | „ „ „ „ | 533 492 m μ |

Die Farbstoffe wurden mit einem Gemisch von Äther und Methanol 10:1 eluiert. Zone 2 enthielt geringe Mengen unverändertes Rubixanthin, während Schicht 1b Rubixanthin-mono-epoxyd lieferte.

Nach Elution und zweimaligem Umkrystallisieren aus Äther-Methanolgemisch erhielt man aus der unteren Hälfte der obersten Zone (1b) eine geringe Menge Rubixanthin-mono-epoxyd. Die Verbindung zeigte folgende Eigenschaften: Smp. 170—171° (unkorr. im Vakuum), orangerote Nadeln aus Äther-Methanolgemisch. Makroskopisch betrachtet, bildet das Epoxyd ein feines Krystallpulver von kupferroter Farbe und schönem Oberflächenglanz. Bei der Verteilung zwischen Petroläther und 90-proz. Methanol färbt Rubixanthin-mono-epoxyd beide Schichten an. Beim Versetzen einer ätherischen Lösung des Farbstoffes mit konz. wässriger Salzsäure tritt nach etwa 1/4 Minute starke Blaufärbung auf, welche tagelang bestehen bleibt.

Absorptionsmaxima: in Schwefelkohlenstoff	526 491 461 m μ
in Benzol	504 475 m μ
in Chloroform	504 474 m μ
in Petroläther	491 461 m μ

C₄₀H₅₆O₂ · 1 H₂O Ber. C 81,84 H 9,98%
 Gef. „ 82,35 „ 9,51%

Die völlige Reinheit dieser Verbindung ist nicht gewährleistet (vgl. theoretischen Teil).

Rubichrom kann durch Einwirkung von HCl-haltigem Chloroform auf Rubixanthin-mono-epoxyd erhalten werden. Das Chromatogramm der Umlagerungsprodukte (ZnCO₃, Benzol) besass folgenden Bau:

- | | | |
|-------------------|-----------------|-----------------------------|
| 1. (oberste) Zone | 505 475 m μ | Rubichrom (Hauptmenge) |
| 2. „ | 526 493 m μ | Rubixanthin-epoxyd (Spuren) |
| 3. „ | 534 494 m μ | Rubixanthin |

Rubichrom verhält sich bei der Verteilungsprobe ähnlich wie Rubixanthin-epoxyd; beide Schichten werden angefärbt, die untere etwas stärker. Die Salzsäurereaktion fällt positiv aus; die Blaufärbung hält sich tagelang unverändert.

Absorptionsmaxima in:

Schwefelkohlenstoff	506 476 m μ
Benzol	486 455 m μ
Chloroform	486 455 m μ
Petroläther	475 447 m μ

Zürich, Chemisches Institut der Universität.