

statt in das Mischgefäß, nach aussen, und zwar in erster Linie durch die Heizungszuleitungsdrähte.

Herrn Prof. Dr. R. SIGNER danke ich herzlich für viele wertvolle Anregungen und für das Interesse, das er dieser Arbeit entgegengebracht hat. Die Arbeit wurde ermöglicht durch Mittel des SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS zur Erforschung zwischenmolekularer Kräfte.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird ein Mischungskalorimeter für Mengen von 1 bis 4 ml beschrieben. Das Mischen der Komponenten geschieht zur Vermeidung von Verdampfungsfehlern unter Quecksilber. Die Komponenten werden in Glocken aus rostfreiem Stahl unter Quecksilber eingefüllt und durch Kippen der einen Glocke miteinander vermischt. Die auftretenden Temperaturdifferenzen werden als Thermospannungen registriert. Die so erhaltenen Mischungskurven werden nachher mit Heizkurven, welche durch bekannte Stromwärmen in einem Heizwiderstand erzeugt werden, in Wärmeeinheiten geeicht. Da beim Mischen und beim Heizen die Wärmeflüsse verschieden sind, werden die Heizkurven ihrerseits mit aus der Literatur entnommenen Neutralisationswärmen geeicht.

Institut für allgemeine und spezielle organische Chemie
der Universität Bern

181. Beiträge zur Biochemie der pflanzlichen Plastiden

2. Mitteilung¹⁾

Über die Herbstcarotinoide von *Acer platanoides* (L.)

von W. Eichenberger und E. C. Grob

(4. VI. 62)

1. Einleitung. Bei unsern Untersuchungen über die Carotinoide in Sommer- und Herbstblättern von *Acer platanoides* (L.), über die wir kürzlich berichteten¹⁾, haben wir festgestellt, dass Art und Menge der Blattcarotinoide sich während der Vergilbung ändern. Durch chromatographische Trennung auf Dünnschichtplatten haben wir aus einem Extrakt gelber Blätter 16 Komponenten erhalten. Diese Herbstcarotinoide verhalten sich bei der Phasenprobe vermehrt epiphasisch und laufen demzufolge im Chromatogramm näher an der Front. Unter verseifenden Bedingungen liefern sie stärker haftende Verbindungen mit unverändertem Absorptionsspektrum. Auf Grund dieses Verhaltens haben wir vermutet, es handle sich bei diesen Verbindungen um Ester.

Dieser Befund ist vor allem deshalb interessant, weil die Meinungen über die chemische Natur dieser Herbstxanthophylle, wie TSWETT²⁾ sie nannte, lange Zeit auseinander gingen. KARRER & WALKER³⁾ waren der Meinung, sie bestünden aus Bruch-

¹⁾ 1. Mitteilung. W. EICHENBERGER & E. C. GROB, *Helv.* 45, 974 (1962).

²⁾ M. TSWETT, *Ber. deutsch. bot. Ges.* 29, 630 (1911).

³⁾ O. WALKER, *Diss. Universität Zürich*, 1935; P. KARRER & O. WALKER, *Helv.* 17, 43 (1934).

stücken der Sommercarotinoide, während KUHN & BROCKMANN⁴⁾ und in neuerer Zeit auch GOODWIN⁵⁾ veresterte Phytoxanthine festgestellt haben.

Im Chromatogramm dieser Herbstpigmente lassen sich drei Bereiche unterscheiden: Der unterste umfasst die Zonen 1–5 und enthält die Verbindungen mit zwei und mehr freien Hydroxylgruppen. Im mittleren Bereich, der die Zonen 6–9 enthält, sind die Verbindungen mit einer freien Hydroxylgruppe zu erwarten. Die Kohlenwasserstoffe und die völlig veresterten Phytoxanthine laufen gemeinsam an der Front. Ihre Auftrennung gelingt erst in einem zweiten Chromatogramm mit einem andern Laufmittel und führt zu den Zonen 10–16.

Über die Frage, ob unter diesen Herbstcarotinoiden Ester vorkommen, können uns die Verseifbarkeit, das Chromatogramm der Verseifungsprodukte, sowie deren IR.-Spektren Aufschluss geben.

2. *Verseifung einzelner Herbstcarotinoide.* Der Farbstoff wurde in Äthanol aufgenommen und mit Natriumäthylat bei ca. 50° verseift. Das Fortschreiten der Reaktion wurde im Dünnschichtchromatogramm verfolgt. Diese wurde abgebrochen, sobald im Chromatogramm keine Änderungen mehr auftraten. Da in erster Linie die freien Hydroxylgruppen für die Lage eines Carotinoids im Chromatogramm ausschlaggebend sind, wurde diese für eine erste Charakterisierung der Reaktionsprodukte herangezogen. Dabei diente ein Gemisch von β -Carotin, Kryptoxanthin (ein OH) und Xanthophyll (zwei OH) als Leitsubstanz, das im Chromatogramm in der genannten Reihenfolge aufgespalten wird.

a) Zone 8: Der unverseifte Stoff verhielt sich im Chromatogramm ungefähr wie Kryptoxanthin, was auf das Vorhandensein einer freien Hydroxylgruppe hindeutet (vgl. Fig. 1).

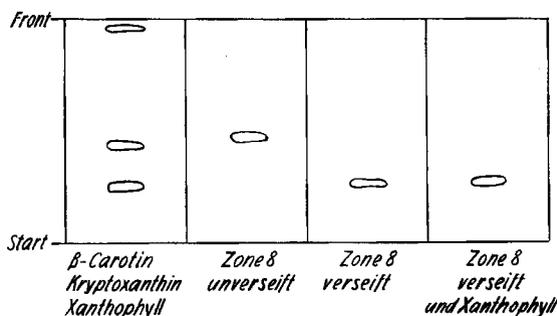


Fig. 1. Zone 8 unverseift und verseift.

Leitsubstanzen: β -Carotin, Kryptoxanthin, Xanthophyll.

Dünnschichtchromatogramm auf Kieselgel G mit Petroläther-Benzol-Äthanol 10:2:1

Durch die Verseifung entstand ein Produkt, das eine einheitliche, bedeutend polarere Zone bildete. Sein Absorptionsspektrum stimmte gut mit dem von Xanthophyll überein. Ist bei dieser Behandlung tatsächlich eine weitere Hydroxylgruppe freigesetzt worden, so muss diese im IR.-Spektrum erkennbar werden. Bei Kryptoxanthin und Zeaxanthin tritt eine scharfe Bande bei $2,73 \mu$ auf, die der OH-Schwingung zugeordnet werden muss. Erwartungsgemäss ist sie bei Zeaxanthin (zwei OH)

⁴⁾ R. KUHN & H. BROCKMANN, *Z. physiol. Chem.* 206, 41 (1932).

⁵⁾ T. W. GOODWIN, *Biochem. J.* 68, 503 (1958).

stärker ausgebildet als bei Kryptoxanthin. Fig. 2 enthält die IR.-Spektren von Zone 8 und ihrem Verseifungsprodukt. Zone 8 liefert scharfe Banden bei 2,73 und 5,76 μ . Die erste entspricht einer freien Hydroxylgruppe, die zweite einer Carbonylgruppe. Nach der Verseifung erscheint die OH-Bande verstärkt, während die Carbonylbande vollständig verschwunden ist. Diese Befunde können mit der Freisetzung einer OH-Gruppe am Carotinoid unter gleichzeitiger Abspaltung eines Säurerests, der die Carbonylgruppe enthält, erklärt werden.

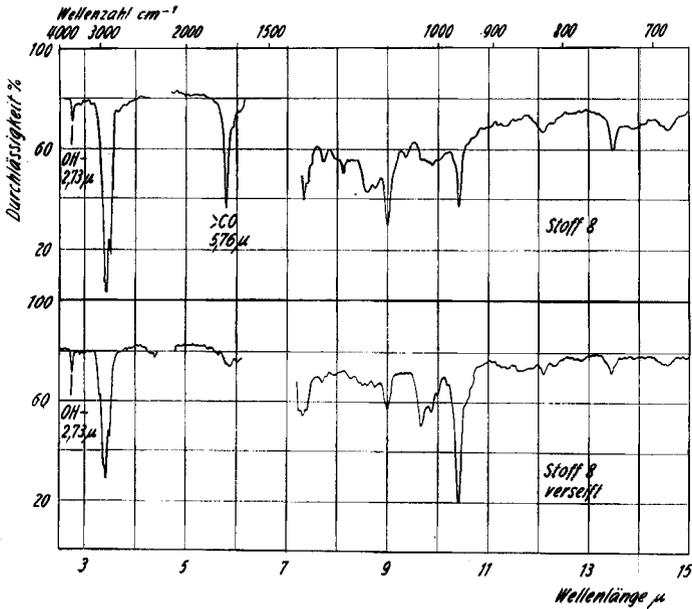


Fig. 2. IR.-Absorptionsspektren von Stoff 8 und seines Verseifungsproduktes in CS_2 , $d = 1$ mm.

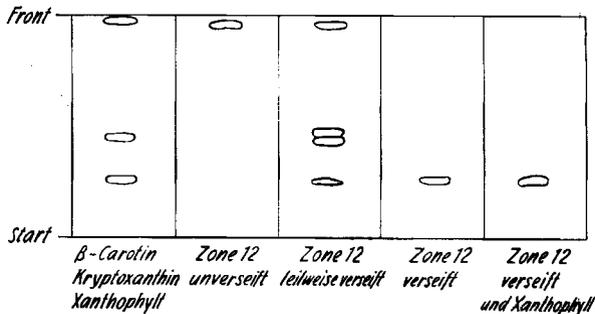


Fig. 3. Zone 12 unverseift und verseift.

Leitsubstanzen: β -Carotin, Kryptoxanthin, Xanthophyll.

Dünnschichtchromatogramm auf Kieselgel G mit Petroläther-Benzol-Äthanol 10:2:1.

b) Zone 12: Das chromatographische Verhalten von Zone 12 und ihren Verseifungsprodukten ist aus Fig. 3 ersichtlich. Zone 12 verhielt sich vollkommen epiphasisch und lief demzufolge sehr nahe an der Front. Im Verlaufe der Verseifung beobach-

teten wir im Chromatogramm zwei schwache Zonen mit Rf-Werten ähnlich dem des Kryptoxanthins. Nach Beendigung der Reaktion waren diese Zonen nicht mehr feststellbar, so dass nur noch eine einheitliche Zone auf der Höhe des Xanthophylls blieb. Im Mischchromatogramm mit Xanthophyll erfolgte keine Auftrennung. Das Absorptionsspektrum stimmte sowohl mit demjenigen von Xanthophyll, als auch mit dem Spektrum des Verseifungsproduktes von Zone 8 überein. Auf Grund des chromatographischen Verhaltens darf bereits vermutet werden, dass Zone 12 keine freie OH-Gruppe aufweist, während die beiden Intermediärprodukte eine, und das Endprodukt deren zwei enthalten. Da die Intermediärprodukte nicht in genügender Menge vorhanden waren, wurden nur IR.-Spektren des Anfangs- und des Endproduktes aufgenommen. (Fig. 4).

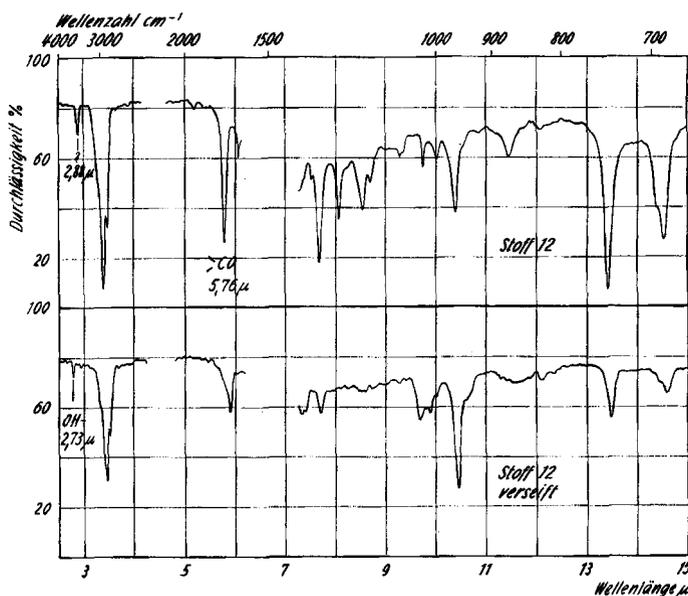


Fig. 4. IR.-Absorptionsspektren von Stoff 12 und seines Verseifungsproduktes in CS_2 , $d = 1 \text{ mm}$

Die typische Bande der freien OH-Gruppe bei $2,73 \mu$ fehlt bei Stoff 12, ist dagegen beim Verseifungsprodukt deutlich ausgebildet. Die Verseifung ist wiederum mit dem gleichzeitigen Verschwinden einer Carbonylbande bei $5,76 \mu$ verbunden. Die scharfe Bande bei $2,88 \mu$ darf nicht einer freien Hydroxylgruppe zugeordnet werden. Wir haben nämlich festgestellt, dass sie auch bei anderen Carotinoiden, worunter sogar β -Carotin, auftritt. Ausserdem erscheinen im Gemisch von Stoff 12 und seinem Verseifungsprodukt beide Banden nebeneinander.

Die gewonnenen Ergebnisse lassen folgende Schlüsse zu:

1. Das Auftreten einer neuen, bzw. die Verstärkung einer schon bestehenden IR.-Bande bei $2,73 \mu$ zeigt die Entstehung freier Hydroxylgruppen an der Carotinoidmolekel an. Da auch gleichzeitig eine Carbonylbande verschwindet, müssen die neu gebildeten Hydroxylgruppen aus verseiften Estergruppierungen stammen.

2. Die Absorptionsspektren sind vor und nach der Verseifung dieselben, was tiefgreifende Veränderungen an der Carotinoidmolekel ausschliesst. Solche hätten zweifellos eine Veränderung des chromophoren Systems und damit eine auffallende Verschiebung des Absorptionsspektrums zur Folge.

3. Stoff 8 verhält sich im Chromatogramm ähnlich wie Kryptoxanthin und trägt demzufolge *eine* freie OH-Gruppe. Da sich sein Verseifungsprodukt wie Xanthophyll verhält, muss angenommen werden, dass Stoff 8 ein Xanthophyllmonoester ist.

4. Stoff 12 trägt nach den Aussagen des IR.-Spektrums und des Chromatogramms keine freien OH-Gruppen. Sein Verseifungsprodukt verhält sich wie Xanthophyll, weshalb Stoff 12 als Diester des Xanthophylls zu betrachten ist. Damit lässt sich die Entstehung eines Intermediärprodukts durch die stufenweise Verseifung des Diesters (Bildung eines Monoesters mit einer freien Hydroxylgruppe) erklären. Wegen der Asymmetrie der Xanthophyllmolekel sollten dabei zwei isomere Monoester auftreten, die im Chromatogramm tatsächlich beobachtet werden.

Tabelle 1. *Absorptionsmaxima der Herbstcarotinoide von Acer platanoides*

Zone	Lösungs- mittel	Absorptions- maxima m μ	Zone	Lösungs- mittel	Absorptions- maxima m μ
1	Äthanol	468,5	9	Äthanol	469
		441			441
		419,5			417
2	Äthanol	469	10	Äthanol	469
		445			439
		421			416
4	Äthanol	470,5	12	Äthanol	475
		443			446
		420			422
5	Äthanol	469,5	13	Äthanol	470,5
		441			443
		420			420,5
6	Äthanol	469	14	Äthanol	470
		440			442
		420			
7	Äthanol	475	15	Äthanol	474,5
		449			449
		424			
8	Äthanol	474	16	Petroläther (63–78°)	474
		442			447
		423			

Die Verseifung der 4 Carotinoide aus Zonen 6, 9, 10 und 13 konnten mangels genügender Mengen Frischmaterials nur noch im Chromatogramm verfolgt werden. Auch hier bildeten sich durchwegs stärker polare Stoffe mit unveränderten Absorptionsspektren. Da sie sich ähnlich verhielten wie Neoxanthin und Violaxanthin, vermuten wir in ihnen die Ester dieser Phytoxanthine.

Von den 16 chromatographisch isolierten Herbstcarotinoiden sind ferner die Absorptionsspektren der Hauptprodukte aufgenommen worden.

3. *Absorptionsspektren*. Tabelle 1 enthält die Absorptionsmaxima der Herbstcarotinoide. Zum Vergleich sind diesen diejenigen der Sommercarotinoide gegenübergestellt (Tab. 2).

Tabelle 2. *Absorptionsmaxima der Sommercarotinoide von Acer platanoides*

Zone	Lösungsmittel	Absorptionsmaxima $m\mu$	Zone	Lösungsmittel	Absorptionsmaxima $m\mu$
Neoxanthin	Äthanol	468,5	Unbekannt	Petroläther (63–78°)	450
		439			425
		416			402
Violaxanthin	Äthanol	469	Unbekannt	Petroläther (63–78°)	472
		441			446
		418			
Xanthophyllepoxid	Äthanol	473	β -Carotin	Petroläther (63–78°)	478
		446			451
		424			
Xanthophyll	Äthanol	474	α -Carotin	Petroläther (63–78°)	474
		445			445
		422			421

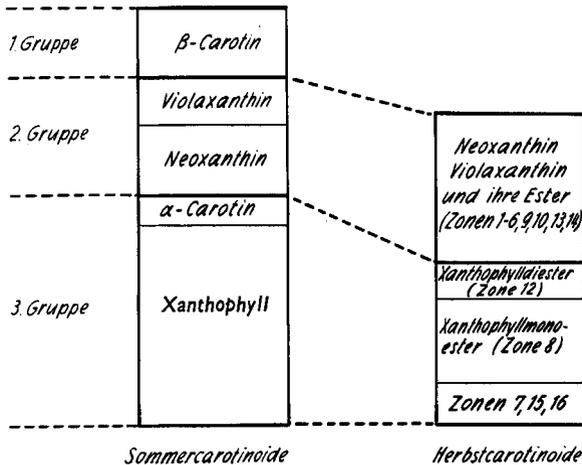


Fig. 5 *Beziehungen zwischen den chromophoren Systemen der Sommer- und Herbstcarotinoide von Acer platanoides*

Nach der Lage des längstwelligsten Maximums lassen sich die Hauptcarotinoide der Sommerblätter in drei Gruppen einteilen:

Die *erste Gruppe* absorbiert bei ca. 478 $m\mu$ und wird gebildet durch β -Carotin.

Die *zweite Gruppe* absorbiert bei 468–469 $m\mu$ und umfasst Violaxanthin und Neoxanthin.

Die *dritte Gruppe* absorbiert bei ca. 474 $m\mu$ und umfasst α -Carotin und Xanthophyll.

Übertragen wir diese Klassierung auf die Herbstcarotinoide aus Tab. 1, wird sofort ersichtlich, dass sich diese restlos in die Gruppen 2 und 3 einfügen lassen. Gruppe 1 ist nicht mehr vertreten. Der rasche Abbau der Carotinoidekohlenwasserstoffe in Herbstblättern wurde auch in früheren Arbeiten immer wieder erwähnt. Über die Abbaureaktionen und ihre Endprodukte können wir heute jedoch noch nichts aussagen.

Die Verwandtschaft zwischen den chromophoren Systemen der Sommer- und Herbstcarotinoide kommt besonders in Fig. 5 zum Ausdruck. Während bei den Sommercarotinoiden die drei Gruppen im Mengenverhältnis von ungefähr 1:2:4 vorliegen, kommen bei den Herbstcarotinoiden von diesen nur noch zwei Gruppen im Verhältnis von ungefähr 1:1 vor.

Da einerseits die Herbstcarotinoide das chromophore System und damit auch das Kohlenstoffgerüst der Sommercarotinoide besitzen, andererseits in geringerer Menge vorliegen, folgern wir, dass erstere nicht *de novo*, sondern aus den letzteren gebildet werden. Ungefähr ein Viertel der Sommercarotinoide muss abgebaut worden sein, obwohl wir unter den Herbstcarotinoiden bis jetzt keine kurzweilig absorbierenden Stoffe gefunden haben, die auf Bruchstücke der C_{40} -Carotinoide hinweisen würden. Dies bedeutet, dass während der herbstlichen Vergilbung in erster Linie ein Umbau der Chloroplasten-Carotinoide stattfindet, der, wie wir gezeigt haben, vor allem in der Veresterung der hydroxylierten Sommercarotinoide besteht. Die Veresterung der Phytoxanthine bedingt jedoch das Vorliegen bestimmter neuer synthetischer Fähigkeiten der Plasten, die bei der Umwandlung der Chloroplasten in «Herbstchromoplasten» erworben werden. Das Auftreten neuartiger nichtcarotinoider Verbindungen in den Herbstblättern deutet darauf hin, dass die «Herbstchromoplasten» auch noch andere chemische Fähigkeiten erworben haben, deren Untersuchung uns noch weiterhin beschäftigen wird.

Experimentelles. – a) Isolierung der Farbstoffe: Aus Extrakten gelber Blätter (gepflückt Ende Oktober) durch Chromatographieren auf Dünnschichtplatten nach ¹⁾.

b) Verseifung: Der Farbstoff wurde in wenigen ml 96-proz. Alkohol gelöst und mit ca. 1 ml einer 2-proz. Lösung von Natrium in Alkohol versetzt. Nach Verdrängen der Luft mit Stickstoff wurde die Temperatur durch Einstellen in ein Wasserbad auf ca. 50° gehalten. Zur quantitativen Rückgewinnung des verseiften Farbstoffes wurde nach ¹⁾ verfahren.

c) Absorptionsspektren: Im sichtbaren Gebiet diente ein BECKMAN- DU-Spektrophotometer. Die IR.-Spektren wurden in Schwefelkohlenstoff mit einer 1-mm-Zelle auf einem PERKIN-ELMER Infracord aufgenommen.

ZUSAMMENFASSUNG

Die 6 wichtigsten der 16 Herbstcarotinoide aus *Acer platanoides* (L.), über deren Isolierung wir in einer früheren Mitteilung¹⁾ berichteten, wurden verseift. Die Reaktionsprodukte wurden auf ihr Verhalten im Chromatogramm und auf ihre Absorptionseigenschaften im Sichtbaren und Infrarot untersucht. Dabei wurden ein Mono- und ein Diester des Xanthophylls festgestellt. In den übrigen vermuten wir ebenfalls veresterte Phytoxanthine. Kurzweilig absorbierende Stoffe wurden nicht angetroffen. Die Absorptionsspektren des Hauptteils dieser 16 Herbstcarotinoide liefern den Beweis, dass das chromophore System und damit das Kohlenstoffgerüst

der Sommer- und Herbstcarotinoide dasselbe ist. Damit ist die Bildung der Herbstcarotinoide auf einen Umbau von Sommercarotinoiden zurückgeführt. Dieser Umbau besteht insbesondere in der Veresterung der Phytoxanthine und geschieht auf Grund neu erworbener synthetischer Fähigkeiten der «Herbstchromoplasten».

Wir danken der Firma F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG., Basel, für die uns gewährte freundliche Unterstützung, welche die Durchführung dieser Arbeit ermöglichte.

Institut für organische Chemie
und Theodor-Kocher-Institut der Universität Bern

182. Pyrolyse von Aromaten

1. Mitteilung

Biphenyl

von Tino Gäumann und J.-M. Rayroux¹⁾

(5. VI. 62)

1. Einleitung. – Biphenyl und eine Reihe von Polyphenylgemischen haben in den letzten Jahren vermehrtes Interesse als Moderatoren und Kühlflüssigkeiten für Atomreaktoren gefunden. Bei der Verwendung als Moderator ist neben der Neutronenökonomie vornehmlich das radiolytische Verhalten des Biphenyls von Interesse, während die pyrolytische Zersetzung die obere Temperaturgrenze für den Kühlmittelkreislauf bestimmt. Trotz der grossen technischen Bedeutung der beiden Zersetzungsprozesse ist weder die Radiolyse noch die Pyrolyse der Aromaten näher bekannt. Die Gründe hiefür sind teilweise darin zu suchen, dass die Analysenmethoden zur Bestimmung der Produkte ungenügend ausgearbeitet sind; teilweise fehlen auch die einfachsten Vorstellungen über mögliche Reaktionsmechanismen, die getestet werden könnten. In einer speziellen Serie haben wir begonnen, das radiolytische Verhalten von Aromaten zu untersuchen²⁾. In den Mitteilungen der vorliegenden Reihe werden wir über das pyrolytische Verhalten der Aromaten berichten. Diese vorläufige Mitteilung hat zum Ziel, am Beispiel von Biphenyl die Substanzgruppen und Reaktionsmechanismen, die in Frage kommen können, abzuklären. In weiteren Arbeiten werden wir versuchen, die Kinetik der Pyrolyse von Aromaten zu bestimmen.

Die Pyrolyse von Biphenyl ist von einer Reihe von Autoren untersucht worden^{3) 4)}, die sich aber darauf beschränkten, die Gasentwicklung und die Polymerenbildung *in globo* zu bestimmen. In den meisten Fällen wurde aus experimentellen Gründen Biphenyl soweit zersetzt, dass die gemessenen Werte nicht für Biphenyl, sondern für ein Polyphenylgemisch unbekannter Zusammensetzung gelten. Falls die Zersetzung nicht allzuweit getrieben wurde, war Wasserstoff das Hauptprodukt der Gasentwick-

¹⁾ Teile dieser Arbeit bilden Bestandteil der Dissertation von J.-M. RAYROUX, ETH, Nr. 3128, die gleichzeitig als EIR-Bericht Nr. 22 des Eidg. Instituts für Reaktorforschung erschienen ist.

²⁾ JÜRIG HOIGNÉ & TINO GÄUMANN, *Helv.* 44, 2141 (1961), und frühere Mittg. dieser Reihe.

³⁾ D. R. DE HALAS, AEC-report HW-56, 769 (1958).

⁴⁾ M. D. TILICHEEV, *J. appl. Chemistry USSR* 12, 741 (1939).