

KURZE MITTEILUNGEN

Bis am 20. des Monats bei der Redaktion eingehende kurze Mitteilungen werden in der Regel am 15. des folgenden Monats veröffentlicht

Zum Vorkommen von Monohydroxy- α -carotin*

Die starke Verbreitung der Hydroxycarotine in der Natur und besonders in grünen Pflanzen ließen die Vermutung aufkommen, daß sich diese Stoffe an den Stoffwechselfvorgängen in der grünen Pflanze beteiligen¹. Über ihre Funktionen gehen die Ansichten allerdings stark auseinander. Die Carotine und die Dihydroxycarotine (wie Xanthophyll, Zeaxanthin usw.) sind die auffälligsten Carotinoide der grünen Pflanze und wurden deshalb schon früh beschrieben. Die Monohydroxycarotine nehmen eine Zwischenstellung zwischen den beiden Gruppen ein. Man hat gute Gründe, anzunehmen, daß sie funktionell wie genetisch mit diesen in enger Beziehung stehen. Vorkommen und Eigenschaften der Monohydroxycarotine liefern deshalb wertvolle Hinweise zur Klärung dieser Fragen. Sie sind weit verbreitet, freilich in nicht sehr großen Mengen. Bereits 1933 wurde ein 3-Hydroxy- β -carotin² gefunden und als Kryptoxanthin bezeichnet. Seither wurden noch 3-Hydroxy- α -carotin (Zeinoxanthin³) und 3'-Hydroxy- α -carotin (Physoxanthin⁴ oder α -Kryptoxanthin⁵) entdeckt. L. CHOLNOKY und Mitarbeiter halten das von C. BODEA und Mitarbeitern gefundene Physoxanthin⁴ für ein *cis*-Isomeres des Kryptoxanthins, während diese die Identität von Physoxanthin und α -Kryptoxanthin bewiesen haben wollen. Die Frage ist noch nicht entschieden. An einigen Orten wird bloß von einem Hydro-

xy- α -carotin berichtet ohne Angaben über die Stellung der OH-Gruppe⁶⁻⁹. An der Struktur der natürlich vorkommenden Hydroxycarotine ist auffallend, daß sich die Hydroxylgruppen stets in 3- oder 3'-Stellung befinden.

In der Frage über die Biosynthese hydroxylierter Carotine sind L. CHOLNOKY und Mitarbeiter der Ansicht, daß durch wechselseitigen Zusammenbau hydroxylierter und nicht hydroxylierter C₂₀-Komponenten Kohlenwasserstoffe, Mono- und Dihydroxyverbindungen entstehen¹⁰. Andererseits ist bewiesen worden, daß Carotin¹¹ und verwandte Systeme¹² durch Autoxydation *in vitro* direkt hydroxyliert werden. Die zweite Auffassung wird auch gestützt durch die Beobachtung von BODEA, daß Monohydroxy- α -carotin *in vitro* oxydativ in Xanthophyll übergeht¹³. Möglicherweise kommt den Carotinoiden im Stoffwechsel eine sauerstoffübertragende Wirkung zu. L. CHOLNOKY und Mitarbeiter haben bei der Untersuchung der Pigmente in Früchten und Blättern von Paprika gefunden, daß bei Assimilations-tätigkeit stets Verbindungen mit α -Struktur zu finden sind, und daraus geschlossen, daß bei der Sauerstoffaufnahme β -Carotin oder Hydroxy- β -carotine in Epo-

* Vorläufige Mitteilung. Eingegangen am 29. August 1960.

¹ L. CHOLNOKY, K. GYÖRGYFY, E. NAGY und M. PANCZEL, *Nature* 178 (1956) 410.

² R. KUHN und CH. GRUNDMANN, *Ber. dtsch. chem. Ges.* 66 (1933) 1746.

³ E. N. PETZOLD und F. W. QUACKENBUSH, *Arch. Biochem. Biophysics* 86 (1960) 163.

⁴ C. BODEA und E. NICOARA, *Liebigs Ann. Chem.* 609 (1957) 181.

⁵ L. CHOLNOKY, J. SZABOLCS und E. NAGY, *Liebigs Ann. Chem.* 616 (1958) 207.

⁶ J. W. WHITE, F. P. ZSCHEILE und A. M. BRUNSON, *J. Amer. Chem. Soc.* 64 (1942) 2603.

⁷ J. B. MOSTER, F. W. QUACKENBUSH und J. W. PORTER, *Arch. Biochem. Biophysics* 38 (1952) 287.

⁸ A. L. CURL, *Food Res.* 21 (1956) 689.

⁹ H. E. WRIGHT, W. W. BURTON und R. C. BERRY, *Arch. Biochem. Biophysics* 82 (1959) 111.

¹⁰ L. CHOLNOKY, K. GYÖRGYFY, E. NAGY und M. PANCZEL, *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* 16 (1958) 227.

¹¹ C. BODEA, E. NICOARA, M. FLORESCU und J. GROSS, *Chem. Abstr.* 52 (1958) 16411.

¹² W. BERGMANN und M. B. MEYERS, *Liebigs Ann. Chem.* 620 (1959) 57.

¹³ C. BODEA und E. NICOARA, *Liebigs Ann. Chem.* 622 (1959) 190.

xyde übergehen, die, wenn sie ihren Sauerstoff wieder abgeben, sich in α -Carotin oder Hydroxy- α -carotine umwandeln.

Wir sind zurzeit damit beschäftigt, die Carotinbildung in grünen Blättern während der herbstlichen Verfärbung genauer zu studieren. Dabei gelang es, bei der Aufarbeitung eines Extraktes aus gelben Ahornblättern einen Stoff zu isolieren, dessen Eigenschaften sehr gut mit denjenigen eines Monohydroxy- α -carotins übereinstimmen und der in grünen Blättern nicht vorkommt.

Der epiphasische Anteil ergab im Chromatogramm an Al_2O_3 mit Petroläther-Äther-Gemischen direkt über dem β -Carotin eine scharfe Zone. Der Farbstoff verhielt sich vollkommen epiphasisch und zeigte wie α -Carotin ein Spektrum mit Maxima bei 475, 446 und 423 $m\mu$ in Petroläther (50–70°). Ihn kristallin auszufällen gelang nicht. Die Verseifung mit methanolischer Kalilauge lieferte eine saure farblose Komponente (noch nicht identifiziert, aber wahrscheinlich Palmitinsäure) und einen Farbstoff mit demselben Spektrum wie der unverseifte, aber mit vermehrt hypophasischem Verhalten. Aus Benzol/Petroläther bildeten sich dunkelrote Kristalldrusen. Beurteilt nach der Menge handelt es sich um ein Hauptcarotinoid dieser Herbstblätter.

Eigenschaften:

Absorptionsmaxima in Petroläther (80–102°)	475	447	422 $m\mu$
Benzol	488	457 $m\mu$	
CS_2	507	473 $m\mu$	

Extinktionswerte (bezogen auf das Hauptmaximum in Petroläther)	0,87 (475 $m\mu$)
	0,65 (463 $m\mu$)
	1,00 (447 $m\mu$)
	0,67 (428 $m\mu$)
	0,70 (422 $m\mu$)
Verteilung in Petroläther/Methanol 90 %	verteilt
Petroläther/Methanol 95 %	hypophasisch
Schmelzpunkt (umkristallisiert aus Benzol/Petroläther)	172–174° (korrigiert)

Die Annahme, es handle sich um ein all-*trans*-3- oder 3'-Hydroxy- α -carotin wird durch folgende Überlegungen gestützt:

1. Die iodkatalytische Isomerisierung liefert kein längerwellig absorbierendes Isomeres.
2. Das Spektrum spricht für ein α -Carotin-Gerüst.
3. Verseifbarkeit und Verteilung lassen auf eine OH-Gruppe schließen.
4. Die natürlichen Hydroxy- α -carotine tragen OH-Gruppen nur in 3- oder 3'-Stellung.

Zur Verbrennung sowie zur Durchführung des Tests auf Allyl-OH-Gruppen lag leider zu wenig Substanz vor.

Interessant ist in diesem Zusammenhang, daß im Extrakt kein α -Carotin, dagegen Xanthophyllester gefunden wurden.

Der Firma F. Hoffmann-La Roche (Dr. A. WINTERSTEIN) danken wir für die Überlassung von Vergleichssubstanzen und für das unsern Arbeiten entgegengebrachte Interesse.

E. C. GROB und W. EICHENBERGER
Organisch-Chemisches Institut und
Botanisches Institut der Universität Bern

Zur Struktur des Palustrins*

6. Mitteilung über Schachtelhalmalkaloide

Kürzlich haben wir in dieser Zeitschrift¹ über Abbauprobe am Palustrin (Hauptalkaloid des Sumpfschachtelhalms) berichtet, welche einerseits die Natur des basischen Bezirkes klärten und andererseits die makrozyklische Natur dieses Alkaloides sicherstellten.

Es ist uns nun gelungen, ein weiteres wesentliches Baustück aus Palustrin zu isolieren:

Dihydropalustrin wurde mit Methyljodid quaterniert und nach der Umwandlung ins Hydroxyd der Pyrolyse bei 0,01 Torr unterworfen. Nach der katalytischen Reduktion der erhaltenen Desbase mit Pd/Kohle (Absorption 1 Mol H_2) folgte eine Aufspaltung der Säureamidgruppe mit halbkonzentrierter Salzsäure. Die so gewonnenen Hydrolyseprodukte wurden hierauf mit *n*-Butanol-Pyridin-Wasser (2 : 1 : 1) an einer Cellulose-säule aufgetrennt. Die gesuchte Dimethylaminocarbonsäure ließ sich anhand ihrer optischen Aktivität in den Fraktionen lokalisieren (starke Linksdrehung). Sie ist

ninhydrinnegativ und spricht auf die üblichen Alkaloidreagentien und mit Säure-Basen-Indikatoren schlecht an. Sie wandert ziemlich rasch durch die Säule (R_f 0,61; hinter ihr folgen: Pyridinhydrochlorid, R_f 0,23; Methylpropylputrescin, R_f 0,14; sowie andere, nicht identifizierte Basen).

Die papierchromatographisch einheitliche, aber nur langsam kristallisierende Dimethylaminocarbonsäure hat $[\alpha]_D^{22} -60,5^\circ$ (Äthanol); Äthylester (nach FISCHER-SPEIER), Sdp. etwa 80°/10⁻⁴ Torr (Luftbad), $[\alpha]_D^{22} -25,4^\circ$ (in Äthanol), wichtige Banden im IR (CCl_4): 3636, 3472, 3333 (OH), 1727 (Estercarbonyl). Analyse des Esters: $\text{C}_{13}\text{H}_{25}\text{O}_3\text{N}$; Hydrobromid farblose Nadeln, Smp. 174 bis 176° (unkorrigiert).

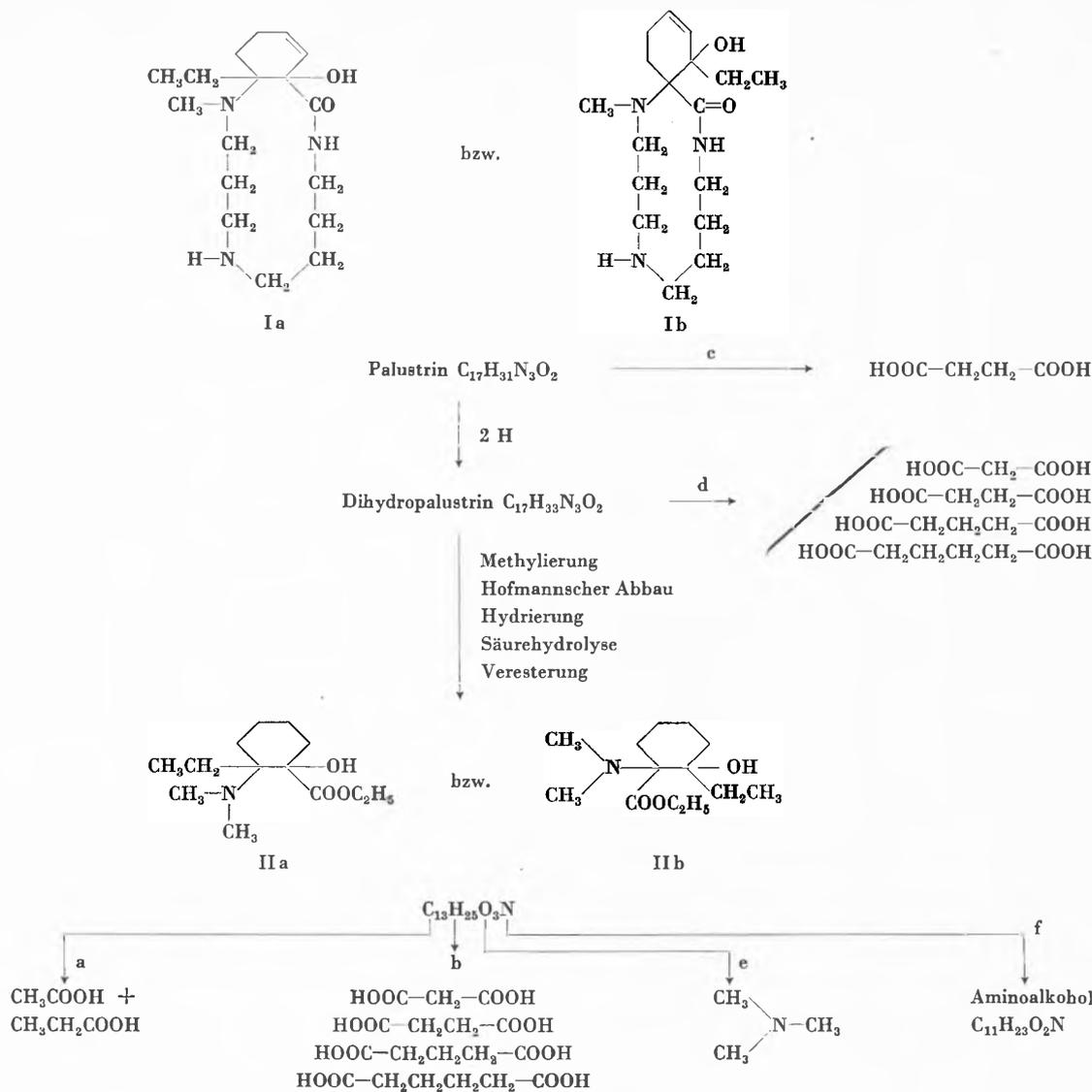
Die Struktur dieser Dimethylamino-carbonsäure kann aus folgenden Versuchen abgeleitet werden:

- a) Der modifizierte Mikrochromsäureabbau liefert Essigsäure und Propionsäure.

Dies beweist zusammen mit dem Experiment c), daß in der Dimethylaminocarbonsäure noch dieselbe Äthylseitenkette vorhanden ist wie im Palustrin und Dihydropalustrin.

* Vorläufige Mitteilung, vorgetragen am 24. September 1960 an der Sommersammlung der Schweizerischen Chemischen Gesellschaft in Aarau.

¹ 5. Mitteilung über Schachtelhalmalkaloide: C. G. BAUMANN, W. DIETSCHKE und C. H. EUGSTER, *Chimia* 14 (1960) 85.



- b) Vanadinpentoxyd-katalysierte Salpetersäure-Oxydation liefert (papierchromatographisch nachgewiesen) Malon-, Bernstein-, Glutar- und Adipinsäure.
- c) Analoge Oxydation am Dihydropalustrin ergibt dieselben Dicarbonsäuren wie unter b), während
- d) die analoge Oxydation am Palustrin nur Bernsteinsäure (und eventuell Malonsäure) liefert.
- e) Quaternierung des Dimethylaminoesters mit Methyljodid und nachfolgender Hofmannscher Abbau spaltet, in allerdings schlechter Ausbeute, Trimethylamin ab.
- f) Reduktion des Dimethylaminoesters mit LiAlH_4 in Äther führt zu einem Aminoalkohol $\text{C}_{11}\text{H}_{23}\text{O}_2\text{N}$, Sdp. etwa $100^\circ/10^{-4}$ Torr (Luftbad), $[\alpha]_{\text{D}}^{22} -10,5^\circ$.

Diese Ergebnisse erlauben, dem Aminoester die Strukturen II a bzw. II b mit einiger Sicherheit zuzuweisen. II a entspricht dabei einer «Isoserin»-Stellung der Substituenten, II b einer «Serin»-Stellung. Eine Entschei-

dung zwischen den beiden Strukturen versuchten wir durch quantitative Mikroperjodsäuretitation am Aminoalkohol (LiAlH_4 -Reduktion; f) zu erreichen: In zwei Versuchen wurde unter Standardbedingungen ein deutlicher, wenn auch langsamer Verbrauch festgestellt. Ein halbes Mol Perjodat war erst nach 35 min verbraucht, wonach die Oxydation weiterging, ohne bei 1 Mol stehen-zubleiben.

Diese Resultate erlauben noch keine Entscheidung zwischen den Strukturen Ia und Ib für Palustrin bzw. II a und II b für Dihydropalustrin.

Die Kohlenstoffdoppelbindung im Palustrin dürfte sich in Allylstellung zur tertiären Hydroxylgruppe befinden, worauf Hydrogenolyseversuche mit Pt/H_2 sowie die oben erwähnten c) und d) Salpetersäureoxydationen sprechen.

Für biogenetische Überlegungen ist das gleichzeitige Vorkommen von *Palustrin*, *Nicotin* und *Dimethylsulfon* in verschiedenen Schachtelhalmarten wichtig:

<i>Equisetum palustre</i> :	Nicotin, Palustrin, Dimethylsulfon (ferner β -Methoxypyridin, Palustridin und weitere Nebenbasen)
<i>Equisetum arvense</i> :	Nicotin, Palustrin, Dimethylsulfon (ferner β -Methoxypyridin und Nebenbasen)
<i>Equisetum maximum</i> :	Nicotin (?), Dimethylsulfon (fertile Sprosse!)
<i>Equisetum hiemale</i> :	Nicotin, Dimethylsulfon
<i>Equisetum limosum</i> :	Nicotin, Palustrin, Dimethylsulfon (sowie weitere Basen)
<i>Equisetum silvaticum</i> :	Nicotin, Palustrin, Dimethylsulfon (?) (sowie weitere Basen)
<i>Equisetum robustum</i> :	Nicotin (und weitere Basen)

Die Biogenese des Spermidins in Mikroorganismen ist heute weitgehend geklärt²: Die C₄-Kette des Spermidins stammt aus Putrescin (bzw. Ornithin), während die

² H. TABOR, S. M. ROSENTHAL und C. W. TABOR, *J. Biol. Chem.* 233 (1958) 907; *J. Amer. Chem. Soc.* 79 (1957) 2978. R. C. GREENE, *J. Amer. Chem. Soc.* 79 (1957) 3929.

C₃-Kette ihren Ursprung im Methionin hat. Dieses Aufbauprinzip trifft offensichtlich auch für den Spermidinteil des Palustrins zu, worauf unter anderem das daneben vorkommende Dimethylsulfon hinweist. Andererseits ist ebenfalls bekannt³, daß der Pyrrolidinring des Nicotins aus Putrescin (bzw. seinem biologischen Äquivalent) stammt. Folglich kann die Kondensation des Putrescins in Schachtelhalmarten einerseits *intramolekular* zur Pyrrolidinhälfte des Nicotins, andererseits *intermolekular* zum Spermidin (Palustrin) führen. Weitere Einblicke in die Biogenese des Palustrins dürfte das Studium der Nebenalkaloide aus Schachtelhalmen erbringen.

Eine ausführliche Veröffentlichung dieser Arbeit wird in den *Helvetica Chimica Acta* erfolgen.

Unsere Untersuchungen wurden vom Schweizerischen Nationalfonds in großzügiger Weise unterstützt, wofür wir unseren Dank aussprechen.

³ Siehe z. B. E. LEETE, *J. Amer. Chem. Soc.* 80 (1958) 2162, 4393.

W. DIETSCHKE und C. H. EUGSTER
Organisch-Chemisches Institut
der Universität Zürich