

## Zur Kenntnis des Möhrencarotens und seiner Begleitsubstanzen.<sup>1)</sup>

Von

Hans Euler und Ebba Nordenson.

(Aus dem Laboratorium für allgemeine und organische Chemie der Hochschule Stockholm).  
(Der Redaktion zugegangen am 29. Mai 1908.)

Durch die vor kurzem erschienene gründliche Untersuchung von R. Willstätter<sup>2)</sup> ist nunmehr die empirische Formel des Carotens  $C_{40}H_{56}$  festgestellt; das Resultat Arnauds,<sup>3)</sup> daß das Caroten ein Kohlenwasserstoff ist, wurde somit endgültig bewiesen. Das Caroten ist ungesättigt, und Willstätter hat daraus ein Jodadditionsprodukt der Zusammensetzung  $C_{40}H_{56}J_2$  dargestellt; gleichzeitig hat er zeigen können, daß einem andern, früher von Arnaud erhaltenen jodhaltigen Produkt die Formel  $C_{40}H_{56}J_3$  zukommt. Noch interessanter ist, daß sich ein natürlicher Begleiter des Chlorophylls, nämlich das Xanthophyll als Carotenoxyd erwiesen hat. Fügen wir noch die ebenfalls von Willstätter gefundene Tatsache hinzu, daß das Möhrencaroten identisch ist mit dem in Chlorophyllkörnern enthaltenen, so sind damit wohl alle chemisch bemerkenswerten, bis jetzt über diesen Stoff bekannt gewordenen Daten erwähnt.

Über die Konstitution dieses biologisch zweifellos hervorragend wichtigen Körpers sind bis jetzt keinerlei feste Anhaltspunkte gewonnen worden, denn die vermuteten Beziehungen des Carotens zu chemisch besser bekannten Körperklassen sind einstweilen Hypothesen.

Diese Lücke in unseren biologisch-chemischen Kenntnissen erklärt sich aus der außerordentlichen Schwierigkeit, das reine

<sup>1)</sup> Aus Svenska Vet. Akadem. Arkiv f. Kemi, Bd. III, 1908.

<sup>2)</sup> Liebigs Ann. der Chem., Bd. CCCLV, S. 1 (1907).

<sup>3)</sup> Compt. rend., Bd. CII, S. 1119 (1886).

Caroten in genügender Menge zu isolieren. Es braucht nur daran erinnert zu werden, daß ein so sicherer Experimentator wie Arnaud aus 100 kg Möhren höchstens 3 g Caroten erhalten konnte. Die Herstellung aus grünen Blättern ist nicht ergiebiger, denn aus 100 kg trockenem Mesophyll erhielt Willstätter ebenfalls nur 3 g Caroten.

Eine Verbesserung der Darstellungsmethoden liegt als Ausgangspunkt für weitere Arbeiten um so näher, als nicht zu bezweifeln ist, daß sowohl in der Möhre wie in den Blättern der Gehalt an reinem Caroten erheblich größer ist, als der bisherigen Ausbeute entspricht. Bis jetzt haben uns allerdings nur Apparate zur Verfügung gestanden, die zur zweckmäßigen Bearbeitung des Rohmaterials unzureichend waren, und unsere Versuche können deswegen nur als orientierende betrachtet werden. Wir hoffen, dieselben bald mit vollkommeneren Hilfsmitteln wieder aufnehmen zu können.

Auf Grund von Arnauds Angaben über die Herstellung des Rohcarotens aus Möhren (C. r., Bd. CII, S. 1120) haben wir unsere Arbeit mit Versuchen begonnen, Caroten aus frischen Möhren auszupressen.

3 kg Möhren wurden mit Sand verrieben und die Masse stark abgepreßt. Wir erhielten daraus 800 ccm Saft. Fällt man nun mit Bleiacetat, wie Arnaud tut, so läßt sich der Niederschlag nur außerordentlich schwer abfiltrieren. Wir haben deswegen die kolloiden Bestandteile der Lösung durch Kochen koaguliert und zwar nach Zusatz von 20 ccm Eisessig. Die Fällung wurde nun durch ein Sieb filtriert, im Vakuumexsikkator getrocknet und mit Äther extrahiert, die ätherische Lösung mit Chlorcalcium getrocknet.<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Dabei wurde einmal beobachtet, daß sich die ursprünglich stark rotgelbe Lösung grün färbte. Die grüne Färbung verwandelte sich durch Zusatz von etwas Wasser oder eines Tropfens verdünnten Alkalis fast augenblicklich wieder in gelbrot. Indessen konnte diese Erscheinung nicht regelmäßig reproduziert werden. Dagegen färbte sich die Lösung stets tief grün, wenn nach Zusatz von absolutem Alkohol trockener Chlorwasserstoff eingeleitet wurde. Auf Zusatz von Wasser wurden auch diese Lösungen wieder gelbrot.

Indessen war bei unseren Versuchen nur der kleinere Teil des Carotens in den Preßsaft gegangen, der Hauptteil befand sich im Preßkuchen, wie Extraktionsversuche zeigten. Ob unser von Arnauds Angaben abweichendes Resultat auf der Behandlung der Möhren oder auf deren Reifezustand beruht, können wir nicht angeben, wir halten letzteres für wahrscheinlicher.

Um bessere Carotenausbeuten zu erzielen, gingen wir zu einer Extraktionsmethode über, wie sie aus folgendem Versuch ersichtlich wird:

23 Kilo Möhren wurden 1—3 Stunden in Wasser gekocht und hierauf gut abgepreßt; der Preßkuchen A wurde mit Sand verrieben und in dünner Schicht auf Blechen bei 50° getrocknet, was ungefähr einen Tag in Anspruch nahm. Das trockene Material wurde mit Schwefelkohlenstoff bei 20° zweimal je zwei Stunden extrahiert; das Extrakt wurde abgepreßt, der Schwefelkohlenstoff abdestilliert, zuletzt unter mehrmaligem Zusatz von Äther. Der mit Äther aufgenommene Rückstand wurde über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Er hinterließ nach Abdestillieren des Äthers 21 g eines tiefroten Rohproduktes, welches in wenig Petroläther gelöst nach Zusatz von 3 Volumen Alkohol 5 g eines wenig gefärbten zähen Öles abschied, das sich nach der Reinigung als ein Gemisch von Phosphatiden erwies. Der in Lösung bleibende Anteil sei mit a bezeichnet.

Der sandige Preßkuchen A wurde ferner mit ungefähr 8 l Alkohol während 4 Stunden extrahiert. Die alkoholische Lösung färbte sich dabei intensiv rot, und erst durch den Alkohol wurde somit das Material einigermaßen vollständig extrahiert. Die alkoholische Lösung wurde mit Wasser gefällt und dann ausgeäthert. Der Rückstand der ätherischen Lösung wurde wie vorher mit wenig Petroläther aufgenommen und durch Alkoholzusatz von einem Teil der Phosphatide befreit. Der Rückstand b der Alkohol-Petrolätherlösung betrug 10 g.

Die beiden Rückstände a und b, zusammen 26 g, enthielten immer noch viel Phosphatid bzw. Lecithin und wurden gemeinsam auf dem Wasserbade mit alkoholischem Kali verseift. Nach 10 Minuten langer Einwirkung wurde durch viel

Äther eine Fällung fettsaurer Salze hervorgerufen, welche abgesaugt wurde. Nach Zersetzung mit Schwefelsäure lieferte dieselbe 5 g Palmitinsäure, was auf Lecithin berechnet rund 13 g entspricht; indessen dürfte sie zum geringen Teil auch aus Pflanzenfett stammen.

Die unter Eiskühlung mit Schwefelsäure neutralisierte Ätherlösung, welche außer Caroten und dessen Oxydationsprodukten noch Phytosterine und aus Lecithin und Fett stammende Ölsäure enthielt, wurde durch Schütteln mit ziemlich viel Wasser in drei Fraktionen geschieden. In der zurückbleibenden kleineren Ätherschicht  $\gamma$  waren Caroten und Phytosterine angereichert. Darunter befand sich eine wässrige Schicht mit dunkeln, voluminösen Flocken, welche abgesaugt wurden und nach Reinigung (siehe unten) sich als ein von Hydrocaroten verschiedenes Phytosterin erwiesen, welches wir als Daucosterin bezeichnen. Die Ausbeute an Daucosterin betrug 0,5 g. Dieser Stoff stammte ausschließlich aus dem Rückstand a, da b schon mit Wasser behandelt worden war.

Die unterste wässrige Schicht war schleimig, fast nicht gefärbt und schied nach Behandlung mit Wasser zuerst eine an Ölsäure reiche Ätherschicht, dann mit mehr Wasser etwa 3 g eines dicken Öles aus, welches nochmals verseift wurde, um die Vollständigkeit der vorhergegangenen Verseifung zu prüfen. Palmitinsäure wurde dabei nicht mehr erhalten, dagegen ein wenig Daucosterin, welches vielleicht als Ester anwesend gewesen war. In der schleimigen, wässrigen Schicht war offenbar auch ein großer Teil der durch die Verseifung freigemachten Ölsäure anwesend und sammelte sich in der oben genannten Ätherschicht an, jedoch nicht allein, denn eine Säurezahlbestimmung durch Titration mit Baryt gab einen viel geringeren Wert, als für Ölsäure berechnet wird (2 g Öl verbrauchten 17 ccm 0,1 normalen Baryt, während 2 g Ölsäure 71 ccm verlangen). In Anbetracht des Ergebnisses, daß Daucosterin ein natürliches Oxydationsprodukt von Phytosterinen sein dürfte, ist es nicht unwahrscheinlich, daß diese schleimige Mischungsschicht andere ölige Angehörige der gleichen Körperklasse enthält. Näheres können wir einstweilen nicht angeben.

Die Ätherschicht  $\gamma$  schied nach Konzentrierung und Abkühlung einen Brei von Phytosterinkrystallen aus, welche abgesaugt und mit kaltem Petroleumäther abgespült wurden.<sup>1)</sup> Das abfiltrierte Öl wurde mit Äther versetzt und durch Schütteln mit Wasser wieder in zwei Fraktionen geteilt, eine obere reine Ätherschicht  $\alpha$  und eine untere Emulsion  $\beta$ . Die obere, sehr carotenreiche Schicht  $\alpha$  wurde mehrere Tage über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, wobei ein großer Teil des Carotens vom festen Salz adsorbiert wurde: nach Abgießen der Lösung wurde das Caroten mit Äther ausgelöst und schied sich beim Konzentrieren in schimmernden Krystallen ab.

Diesen Krystallen waren jedoch offenbar auch solche von Xanthophyll beigemischt, welche durch schön granatrote Farbe, glänzende blaue Reflexe, ihre Krystallform sowie durch die Unlöslichkeit in kaltem Petroläther der Beschreibung Willstätters völlig entsprechen (Liebig's Ann. 355, S. 7).

Sie waren in warmem Eisessig recht schwer löslich und schieden sich daraus schnell wieder schimmernd ab. Wenn auch wegen anderweitiger Verwendung des Materials keine Analyse ausgeführt wurde, ist nicht daran zu zweifeln, daß in unserem Material Xanthophyll vorlag.

Es zeigt sich also, daß Xanthophyll das Caroten auch in nicht grünen Pflanzenteilen begleitet, und man darf wohl vermuten, daß in der Pflanze Xanthophyll normal aus Caroten hervorgeht. Außerhalb der Pflanze ist es bis jetzt nicht gelungen, den Übergang Caroten—Xanthophyll zu vermitteln: die künstliche Oxydation führt nämlich gleich zu viel höher oxydierten Produkten (siehe unten).

<sup>1)</sup> Eine Analyse des über Schwefelsäure verwitterten Möhren-phytosterins, F. 136,5° (Hydrocarotens), stimmte besser auf die Formel  $C_{26}H_{48}O$  als auf die von Arnaud angegebene  $C_{26}H_{44}O$ , welche sich auf geschmolzenes Material bezieht.

	Berechnet für			Gefunden
	$C_{26}H_{44}O$	$C_{26}H_{42}O$	$C_{26}H_{48}O + H_2O$	
% H	11,92	11,45	11,43	11,38

Die Formel  $C_{26}H_{48}O$  wird auch wahrscheinlicher, wenn man für das Cholesterin, wie nunmehr meist geschieht, die Formel  $C_{27}H_{44}O$  annimmt.

Allerdings teilt Tschirch<sup>1)</sup> mit, er habe beobachten können, daß Möhren caroten an der Luft in Xanthophyll übergehe. Indessen scheint uns seine kapillaranalytisch-spektrometrische Methode ohne chemische Kontrolle sein Resultat nicht genügend sicher zu stellen. Ferner erkennt Tschirch<sup>2)</sup> sein Xanthophyll nur an der violetten Endabsorption, während das von Willstätter charakterisierte chemische Individuum außerdem zwei Absorptionsbänder besitzt, die denjenigen des Carotens sehr nahe liegen.

Die Emulsion  $\beta$  enthielt ebenfalls noch Caroten, besonders aber viel von den halbfesten fettähnlichen Oxydationsprodukten des Kohlenwasserstoffs (siehe unten).

Die beschriebene Arbeitsmethode gibt eine ziemlich gute Vorstellung von den Bestandteilen, welche sich in den Schwefelkohlenstoff- bzw. Alkoholextrakten der getrockneten Möhren finden. Man kann ihre Mengen folgendermaßen schätzen:

In 26 g Rohprodukt, nach der Phosphatidfällung (a + b) sind enthalten:

13	g	Phosphatide und Lecithin, nebst Fett,
0,5	»	Daucosterin,
1,3	»	Phytosterin (Hydrocaroten),
0,7	»	Caroten und Xanthophyll,
3,5	»	Öl unbekannter Art.
<u>19,0</u>		g

Die 7 g, welche die Differenz ausmachen, sind halbfeste, fettähnliche ungefärbte Stoffe, welche der Hauptsache nach Oxydationsprodukte des Carotens darstellen dürften.

Wie schon erwähnt, ist unsere Carotenausbeute in erster Linie dadurch vermindert worden, daß das Material beim Trocknen

<sup>1)</sup> Bot. Ber., Bd. XXII, S. 414 (1904).

<sup>2)</sup> Es war uns übrigens überraschend, zu erfahren, daß Tschirch überhaupt aus dem Ätherextrakt der Möhre direkt eine Krystallisation von Caroten erzielen konnte. Dieses Ätherextrakt muß ja einen nicht unbeträchtlichen Teil des Lecithins bzw. der Phosphatide enthalten, welche eine Krystallisation erschweren, abgesehen von dem nicht geringen Gehalt an Phytosterin (F. 136,5°), welches immer zuerst ausfällt.

der Oxydation ausgesetzt war. Vermeidet man diesen Übelstand, so wird sich unsere Arbeitsweise vorteilhaft mit der Arnaudschen Absorptionsmethode kombinieren lassen, die sich zur Abscheidung des Carotens aus dem Rohextrakt sehr wirksam erweist. Es empfiehlt sich somit folgende Vorschrift:

Kochen der Möhren in Wasser, zerreiben, stark abpressen, unter Luftabschluß trocknen; extrahieren mit Schwefelkohlenstoff und darauf eventuell mit Alkohol. Abdestillieren, in möglichst wenig Petroläther lösen und mit Alkohol die Phosphatide fällen. Aus der Lösung wird dann das Caroten durch Absorption mit geeigneten Salzen abgeschieden und nach Arnaud gereinigt, wobei die Verseifung überflüssig wird. Nur ist zu beachten, daß man hierbei zuerst eine Mischung von Caroten und Xanthophyll erhalten kann, aus welcher die beiden Stoffe am besten nach Willstätter mit Petroläther getrennt werden.

#### Daucosterin.

Beim Schütteln der nach der Verseifung erhaltenen Ätherlösung mit nicht zu wenig angesäuertem Wasser schieden sich dunkle, voluminöse Flocken ab, welche nach dem Waschen und Abpressen durch Erwärmen mit wenig Alkohol von den dunkeln Beimengungen befreit wurden und dann aus viel heißem Alkohol selbst umkrystallisiert werden konnten. Beim Erkalten fällt der Körper wieder in voluminösen, jetzt farblosen Flocken aus, welche sich zu mikroskopischen Nadelchen zusammenbacken. In heißem Alkohol ist er schwer löslich, in den anderen gewöhnlichen Lösungsmitteln, wie Eisessig, Äther, Benzol und Petroläther, ist er kaum oder garnicht löslich; verdünnte Alkalien lösen nicht.

Wahrscheinlich enthielten die zuerst auskrystallisierenden Fraktionen ein wenig Beimengungen von noch schwerer löslichen und höher oxydierten verwandten Verbindungen, denn sie schmolzen unscharf zwischen 248 und 260° und die Analyse (I) ergab etwas weniger Kohlenstoff, als bei dem später in feinen Nadelaggregaten auskrystallisierenden, erst bei 283° (unkorr.) schmelzenden Präparat. Analyse II bezieht sich auf letzteres und stimmt mit der empirischen Formel  $C_{26}H_{42}O_4$ ,

welche sich von derjenigen des Möhrenphytosterins (Hydrocarotens) durch einen Mehrgehalt von 3 Sauerstoffatomen unterscheidet. Für einen genetischen Zusammenhang zwischen beiden Körpern spricht ferner der Umstand, daß Daucosterin Sal-kowski-Hesses Reaktion sehr schön zeigt.

Analyse des aschefreien, bei 90° getrockneten Materiales.

I. 0,1133 g Substanz gaben 0,3028 g CO<sub>2</sub> und 0,1017 g H<sub>2</sub>O.  
 II. 0,1071 „ „ „ 0,2928 „ „ „ 0,0951 „ „

	Berechnet für	Gefunden:	
	C <sub>26</sub> H <sub>42</sub> O <sub>4</sub>	I.	II.
% C	74,56	72,9	74,56
% H	10,13	10,06	9,95

Was den gefundenen Wasserstoffgehalt betrifft, so stimmen unsere Werte besser mit der angewandten Formel C<sub>26</sub>H<sub>42</sub>O<sub>4</sub> als mit der Formel C<sub>26</sub>H<sub>44</sub>O<sub>4</sub>, welche 10,57% H verlangt. Die absolute Entscheidung kann man natürlich den Analysen nicht entnehmen. Selbst für Cholesterin ist, trotz der großen Menge von Analysen, die Frage nach der Zusammensetzung C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O oder C<sub>27</sub>H<sub>46</sub>O nicht erledigt. In den neuesten Arbeiten wird indessen die wasserstoffärmere Formel des Cholesterins bevorzugt und demgemäß wären die gewöhnlichen Phytosterine wohl als C<sub>26</sub>H<sub>42</sub>O zu schreiben.

Die Zusammensetzung und der hohe Schmelzpunkt schienen auf Beziehungen des Daucosterins zu der Säure C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O<sub>4</sub> hinzudeuten, welche Diels und Abderhalden<sup>1)</sup> durch Oxydation von Cholesterin mit Natriumhypobromit in der Kälte, sowie Windaus<sup>2)</sup> durch Oxydation von Cholesterin mit Chromsäuremischung erhalten hatten. Indessen erwies sich Daucosterin bei Anwendung von Rosolsäure als Indikator vollständig neutral, im Gegensatz zu der Säure von Diels-Abderhalden und Windaus.

Ein dem Daucosterin analoges Pflanzenprodukt scheint bis jetzt nicht aufgefunden worden zu sein.<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> Chem. Ber., Bd. XXXVII, S. 3092 (1904).

<sup>2)</sup> Chem. Ber., Bd. XXXIX, S. 2249 (1904).

<sup>3)</sup> Ob das von Étard (C. r., Bd. CXIV, S. 231) beschriebene Önocarpol der Traubenschalen zum Daucosterin in Beziehung steht, läßt

Unser Phosphatidmaterial haben wir dazu verwendet, das Verhältnis N : P zu bestimmen. Bekanntlich sind in neuerer Zeit sowohl aus dem Tierkörper als aus Pflanzen<sup>1)</sup> Produkte erhalten worden, in welchen das Atomverhältnis von Stickstoff zu Phosphor ein anderes ist, als im eigentlichen Lecithin, welches als Monoaminophosphatid definiert wird.<sup>2)</sup> Lecithin unterscheidet sich von den Diaminophosphatiden durch seine Leichtlöslichkeit in Alkohol. Durch die Alkoholfällung hat man also ein gutes, aber, wie es scheint, bei pflanzenchemischen Arbeiten noch nicht ausgiebig angewandtes Mittel, diese Phosphatide von Lecithin zu trennen, wie auch unsere Versuche bestätigen konnten.

Das Rohprodukt wurde mit viel 95%igem Alkohol erwärmt, die dabei erhaltene Lösung von einem kleineren Rückstand dekantiert und nach Erlandsen mit Cadmiumchlorid gefällt. Analysen dieses Produktes lieferten 1,9% Stickstoff und 2,45 bzw. 2,75% Phosphor. Aus diesem Niederschlag wurde das Phosphatid nach Auswaschen mit Ammoniumcarbonat regeneriert. Das zur Analyse verwendete Präparat war bei 60° kurze Zeit getrocknet. Da es uns nur auf die Bestimmung des Verhältnisses N : P ankam, wurde auf den sicher noch vorhandenen Feuchtigkeitsgehalt des Präparates keine Rücksicht genommen.

sich aus den Mitteilungen des genannten Verfassers nicht entnehmen: sie bedürfen noch in wesentlichen Punkten der Ergänzung. Besonders vermißt man die Angabe, ob Önocarpol Phytosterinreaktionen zeigt. Die Zugehörigkeit des Önocarpols zu den alizyklischen Verbindungen ist nicht unwahrscheinlich, da es bei der Destillation leicht alles Wasser abgibt und der beständige Rückstand  $C_{26}H_{36}$  dieses teilweise wieder aufnimmt. Andererseits gibt Étard für das Önocarpol Eigenschaften an, die das Daucosterin nicht zeigt; so verliert ersterer Körper beim Trocknen (im Exsikkator?) ein Molekül Wasser und wird deshalb  $C_{26}H_{39}(OH)_3H_2O$  formuliert. Nicht gut verständlich ist, daß Önocarpol mit KOH eine wenig lösliche, unsmelzbare Verbindung von der Zusammensetzung  $C_{26}H_{39}(OH)_3KOH, H_2O$  bzw.  $C_{26}H_{39}(OH)_4OK$  geben soll.

<sup>1)</sup> Hierzu die Arbeiten von E. Schulze und besonders die jüngst erschienene, sehr eingehende Untersuchung von Winterstein und Hie-stand (Diese Zeitschrift, Bd. LIV, S. 288).

<sup>2)</sup> I. Bang, *Ergebn. d. Physiologie*, Bd. VI, S. 156.

Analyse: 0,3317 g	Substanz gaben	7,28	ccm	Stickstoff
0,3068	>	>	>	7,49
0,6850	>	>	>	1,5110 g
0,3825	>	>	>	0,8361

(NH<sub>4</sub>)<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 12 MoO<sub>3</sub>

Gefunden: N 2,53, 2,75%, P 3,64 und 3,61%.

Atomverhältnis N : P = 1 : 0,6.

Wie die Löslichkeit, so deuten also auch die Analysenergebnisse darauf hin, daß wenigstens ein Teil und wahrscheinlich der Hauptteil des mit Alkohol ausgefällten, phosphorhaltigen Öles aus Phosphatiden besteht, welche auf 1 Atom Phosphor mehr als 1 Atom Stickstoff enthalten. Das Atomverhältnis 1 : 0,6 ist indessen so auffallend, daß wir noch keine Schlüsse daraus ziehen wollen, bis sowohl die Darstellung des Materiales als die Analysen wiederholt worden sind.

#### Oxydation des Carotens mit Chromsäure.

Ausgehend von reinem Blättercaroten hat Willstätter gefunden, daß Carotenkristalle im Maximum 34,2% Sauerstoff aufzunehmen vermögen, also pro Molekül Caroten mehr als 11 Atome Sauerstoff.

Mit dem geringen uns zu Gebote stehenden Material haben wir versucht, ob durch kurze und gemäßigte Einwirkung eines Oxydationsmittels etwa Zwischenprodukte gefaßt werden könnten, welche eventuell Anhaltspunkte für den vielfach behaupteten Zusammenhang zwischen Caroten und Phytosterinen liefern würden. An dem Oxydationsprodukt C<sub>40</sub>H<sub>56</sub>O<sub>18</sub> hatte Willstätter keine Phytosterinreaktion wahrnehmen können.

Das in Eisessig gelöste Caroten wird mit einer Lösung von 0,25 g Chromsäure in 25 ccm Eisessig versetzt. Man beobachtet, wie die Farbe unmittelbar in braun umschlägt und das Caroten entfärbt wird. Es scheiden sich farblose Öltropfen aus und die Lösung erwärmt sich. Wir ließen die Temperatur nicht über 30—40° steigen und kühlten zwei Minuten nach dem Vermischen durch Zusatz des doppelten Volumens Eiswasser ab.

Wir neutralisierten nun in der Kälte mit konzentrierter

Kalilauge und extrahierten die schwach alkalische Lösung 2 mal mit Äther. Die ätherische Lösung wird mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und der Äther abdestilliert. Der Rückstand, ein fettartiges farbloses Öl, erstarrte nicht in einer Kältemischung bei etwa  $-10^{\circ}$ . Ein Titrationsversuch zeigt, daß das Öl keine sauren Eigenschaften besaß. Das Öl wurde bei  $60^{\circ}$  bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und analysiert.<sup>1)</sup>

0,1200 g Substanz	gaben	0,3102 g CO <sub>2</sub>	und	0,0964 g H <sub>2</sub> O.
0,1090 „	„	0,2897 „	„	0,0869 „
0,0989 „	„	0,2647 „	„	0,0764 „

	Berechnet für		Gefunden *)		
	C <sub>40</sub> H <sub>56</sub> O <sub>8</sub>	C <sub>40</sub> H <sub>60</sub> O <sub>8</sub>	I.	II.	III.
C	72,2	71,8	70,5	72,5	73,0
H	8,5	9,1	9,0	8,9	8,7

Das Präparat I war durch Oxydation von vollständig phyto-sterinfreien, schön ausgebildeten Caroten- und Xanthophyllkrystallen erhalten worden. Präparat II und III waren aus Material dargestellt, für welches die vollständige Abwesenheit von Phytosterin nicht garantiert werden kann.

Wir heben ausdrücklich hervor, daß unser Analysenresultat wegen der geringen Menge des Ausgangsmateriales und des Oxydationsproduktes, das eine weitere Fraktionierung oder Reinigung nicht gestattete, nur als orientierend anzusehen ist. Wir können also nicht behaupten, daß das analysierte Öl eine reine chemische Verbindung darstellte.

<sup>1)</sup> Es ist hervorzuheben, daß bei Oxydationsversuchen, bei welchen man nicht von reinem, krystallisiertem Caroten ausgeht, sondern von Präparaten, welche durch wiederholte Krystallisationen möglichst von Hydrocaroten befreit worden waren und aus einer halbfesten Mischung des Carotens und seiner Oxydationsprodukte bestanden, das farblose, durch Chromsäure erhaltene ölige Oxydationsprodukt in der Kältemischung beim Reiben mit Alkohol etwas Phytosterin abscheidet. Dieser Umstand erklärt, daß ein geringer, früher nicht wahrnehmbarer Phytosterinegehalt des Carotenmaterials nach der Oxydation leichter hervortritt und leicht das Resultat vortäuscht, daß ein Übergang von Caroten in Phytosterin stattfindet. (Tschirch spricht sogar von Carotenkrystallen, die in einer Phytosterinmetamorphose begriffen sind.)

<sup>2)</sup> Die Ausführung dieser Analysen verdanken wir Dr. Astrid Euler.

Dreierlei geht indessen mit Deutlichkeit aus unserem Oxydationsversuche hervor:

1. Selbst eine so gemäßigte Oxydation, wie die oben beschriebene, führt sofort zu farblosen Produkten, welche weit sauerstoffreicher sind als Phytosterin. Übrigens fanden wir, daß das von uns analysierte Öl die Salkowski-Hessesche Cholesterinreaktion nicht gibt. Auch Willstätter hat mit seiner aus Caroten durch Sauerstoffabsorption erhaltenen Substanz keine Phytosterinreaktion erhalten. Die Behauptung, daß Phytosterine und Carotene chemisch nahe verwandte Stoffe sind, ist also bis jetzt unbewiesen.<sup>1)</sup>

2. Unter den genannten Versuchsbedingungen scheint eine destruktive Spaltung des Carotenmoleküls nicht einzutreten, da das Verhältnis C : H im Oxydationsprodukt von demjenigen im Caroten nicht oder nur wenig verschieden ist.

3. Durch die Einwirkung unseres Oxydationsmittels ( $\text{CrO}_3$ ) sind wir zu einem Körper gelangt, der weniger hoch oxydiert ist als derjenige, welcher aus Caroten durch Absorption von Sauerstoff schließlich entsteht. Außer der bereits erwähnten Substanz vom angenäherten Atomverhältnis  $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}_{11}$  hat Willstätter sogar ein Produkt  $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}_{18}$  erhalten, während unser Öl dem Atomverhältnis  $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}_8$  am nächsten kommt.

Ein Widerspruch zwischen diesen Resultaten Willstätters und dem Ergebnis unseres Oxydationsversuches besteht indessen nicht. Vielmehr wird man zu der Vermutung geführt, und eine experimentelle Prüfung derselben ist wohl nicht ohne Interesse, daß Willstätters sauerstoffreiche Produkte labile Verbindungen sind, welche unter der Einwirkung von Oxydationsmitteln oder Oxydationskatalysatoren molekularen Sauerstoff abspalten; wir erinnern in diesem Zusammenhang nur an die Sauerstoffentwicklung aus den Systemen  $\text{CrO}_3 - \text{H}_2\text{O}_2$  und  $\text{KMnO}_4 - \text{H}_2\text{O}_2$ .

Bereits Arnaud hat die Hypothese geäußert, daß das Caroten am Atmungsprozeß der Pflanze beteiligt ist. Dies ist

<sup>1)</sup> Viele gegenteilige Angaben sind zweifellos darauf zurückzuführen, daß das Caroten, mit dem die Versuche angestellt waren, nicht genügend von Phytosterin befreit war.

nach allem, was wir über diesen Stoff wissen, im hohen Grade wahrscheinlich, und zwar dürften weitere Versuche das Caroten als einen Sauerstoffdepolarisator bzw. einen Regulator des Sauerstoffdruckes erweisen. Jedenfalls braucht man dem Caroten keine assimilatorische Funktion beizulegen, um darzutun, daß es im Stoffwechsel der Pflanze eine bemerkenswerte Aufgabe erfüllt.

---