

**144. Walter Koschara: Über ein Lyochrom aus Harn (Uro-flavin).**

[Aus d. Pharmakolog. Institut d. Medizin. Akademie Düsseldorf.]

(Eingegangen am 24. März 1934.)

Wenn man biologisches Material auf Lyochrome<sup>1)</sup> untersucht, so sind Wasser-Löslichkeit und Fluorescenz hinreichende Erkennungsmerkmale. Die Löslichkeit kann durch Bindung der Farbstoffe an einen hochmolekularen Träger verwischt sein. Um die Lyochrome in das wäßrige Extrakt zu bringen, ist es in solchen Fällen erforderlich, mit verd. Mineralsäuren den Farbstoff von seinem Träger abzulösen<sup>2)</sup>. Die Fluorescenz, deren Farbe und  $p_{\text{H}}$ -Abhängigkeit ein untrügliches Beweismittel für das Vorhandensein von Lyochromen bildet, kann völlig durch Begleitsubstanzen, vornehmlich Farbstoffe, verdeckt sein. Für diese Tarnung bildet der Harn ein ausgeprägtes Beispiel.

Von den zahlreichen Harn-Farbstoffen<sup>3)</sup> sind nur das Urochrom, das Uro-erythrin und das Urobilin wesentlich an der Harnfarbe beteiligt<sup>4)</sup>. Die über Urochrom mitgeteilten Ergebnisse weichen so stark voneinander ab, daß es sich empfiehlt, als „Urochrom“ vorläufig die Restfarbe zu bezeichnen, die nach Abzug der bekannten Harn-Farbstoffe dem Harn verbleibt<sup>4)</sup>. Es ist kaum ein Zweifel, daß dieses „Urochrom“ sich als eine Reihe von Farbstoffen<sup>5)</sup> entpuppt wird, deren gemeinsames Merkmal ihre Wasserlöslichkeit und Unlöslichkeit in indifferenten Lösungsmitteln ist. Die Schwierigkeiten, die sich der Isolierung von Substanzen mit solchen Löslichkeitseigenschaften in den Weg stellen, sind bei den Lyochromen der Molke erfolgreich überwunden worden<sup>1) 6)</sup>. Es war reizvoll, die dort entwickelte Arbeitsweise auf den Harn anzuwenden, zunächst im Hinblick auf die „Urochrom“-Frage, vor allem aber um festzustellen, ob und in welchem Maße die biologisch so wichtigen Lyochrome oder Lyochrom-Derivate in den Harn übergehen. Es sei vorweg bemerkt, daß das „Urochrom“ durch Adsorption an Fuller-Erde in der bei den Lyochromen üblichen Weise nicht zu fassen ist<sup>7)</sup>. Der weitaus größte Teil der Harnfarbe bleibt bei Behandlung des Harns mit Fuller-Erde gelöst<sup>8)</sup>.

1) Ph. Ellinger u. W. Koschara, B. **66**, 315 [1933].

2) So u. a. bei der Frauen-Milch: Ph. Ellinger u. W. Koschara, B. **66**, 808 [1933].

3) s. Neubauer-Huppert, Die Analyse des Harns, 11. Aufl. [1913], S. 1283; ferner E. Abderhalden, Handbuch d. biolog. Arbeitsmethoden, Abt. V, Tl. 5, 1, S. 513, sowie die kritische Zusammenfassung in Olof Hammarstens Lehrbuch der physiol. Chemie, 9. Auflage [1922], S. 587.

4) L. Heilmeyer, „Die Spektrophotometrie des Harns“ in E. Abderhalden, Handbuch d. biolog. Arbeitsmethoden, Abt. IV, Tl. 5, 1, S. 785.

5) Ansätze zu einer präparativen Aufteilung des „Urochroms“ bei: Heilmeyer u. Otto, Ztschr. ges. exp. Med. **74**, 490 [1930], sowie L. Heilmeyer, Klin. Wchschr. **12**, 229 [1933]. 6) R. Kuhn, P. György u. Th. Wagner-Jauregg, B. **66**, 317 [1933].

7) In einer Mitteilung (Naturwiss. **21**, 720 [1933]) berichten K. G. Stern u. G. D. Greville über Versuche zur Isolierung der Harn-Lyochrome. Sie vergessen anzuführen, daß das Vorkommen von Lyochromen im Harn schon von Ph. Ellinger u. W. Koschara (Fußnote 1) festgestellt worden ist. Es ist sicher, daß das Farbstoff-Konzentrat, das K. G. Stern und G. D. Greville aus Harn gewinnen, mit dem „Urochrom“ nichts und mit einem Lyochrom nur sehr wenig zu tun hat. Vergl. die ähnliche Beurteilung der Arbeit von K. G. Stern u. G. D. Greville durch Th. Wagner-Jauregg u. H. Wollschitt, Naturwiss. **22**, 107 [1934].

8) Das gilt für essigsauren Harn. Nimmt man die Adsorption in mineral-saurer Lösung vor, so wird um so mehr Farbstoff von der Fuller-Erde aufgenommen, je mehr Säure dem Harn zugefügt wird.

Frischer Harn leuchtet im ultravioletten Licht (Woodsches Licht) kräftig blau bis blaugrün auf. Er läßt somit das Vorhandensein von Lyochromen nicht erkennen. Adsorption an Fuller-Erde und Elution mit Pyridin liefert schwarzbraune Farbstoff-Konzentrate, deren grüne bis blaugrüne Fluoreszenz noch nicht für Lyochrom-Gegenwart spricht. Diese kann auf zwei Arten dargetan werden: Die die Fluoreszenz verdeckenden Substanzen werden von Kaliumpermanganat bei 0° so weit zerstört, daß die gelbgrüne Farbe und Fluoreszenz der neuen Farbstoffe nach Entfernung des Permanganat-Überschusses hervortritt. Ferner kann die Entlarvung durch alkalische Photolyse geschehen, die chloroform-lösliche Farbstoffe mit Lyochrom-Fluoreszenz liefert<sup>9)</sup>. War somit die Existenz von Harn-Flavinen gesichert, so wuchsen die Schwierigkeiten bei ihrer präparativen Bearbeitung erheblich. Es erwies sich als notwendig, eine vereinfachte Arbeitsweise zur Isolierung von Lyochromen zunächst an der Molke zu erproben.

Dabei wird die bisher verwandte braunrote Fuller-Erde<sup>10)</sup> durch eine hellgraue Bleicherde<sup>11)</sup> von der gleichen Adsorptionskraft ersetzt<sup>12)</sup>. Die konzentrierten und pyridin-freien Eluate der von der Bleicherde adsorbierten Molken-Farbstoffe werden nach Entfernung hochmolekularer Ballaststoffe durch Säure-Koagulation mit Ammoniumsulfat gesättigt. Die Lyochrome bleiben gelöst<sup>13)</sup>. Es folgt eine Adsorption der Farbstoffe an Bleisulfid<sup>14)</sup>. Die Elution mit 5-proz. wäßrigem Pyridin liefert Farbstoff-Lösungen, aus denen beim Konzentrieren ohne zusätzliche Reinigung das Lacto-flavin d<sup>14)</sup> kristallisiert. Der neue Isolierungsweg ist einfacher und um 300 % ergiebiger als der von Ph. Ellinger und W. Koschara<sup>14)</sup> angegebene<sup>15)</sup>.

Dieses Ergebnis bildete die Grundlage für die Versuche zur Isolierung der Harn-Lyochrome. Bei ihnen wird die Adsorption an Bleicherde und die Elution mit Pyridin wie bei der Molke ausgeführt. Die pyridin-freien Farbstoff-Konzentrate können durch Fällung mit Bleiessig stark aufgehellt werden. Im Filtrat der Fällung adsorbiert man die Farbstoffe an Bleisulfid. Die Eluate sind hellrotbraun gefärbt bei starker gelber Fluoreszenz im Wood-Licht. Sättigung mit Ammoniumsulfat läßt auch die Farbe der Lyochrome hervortreten. Im Filtrat vom Ammoniumsulfat-Niederschlag werden die Adsorption an Bleisulfid und Elution wiederholt. Aber selbst die so gewonnenen, weit gereinigten Farbstoff-Lösungen sind in größerer Konzentration noch hellrot<sup>16)</sup>. Weder durch Aceton-Fällung, noch über Schwermetallsalze ließ sich eine weitere Reinigung herbeiführen.

<sup>9)</sup> O. Warburg u. W. Christian, *Naturwiss.* **20**, 980 [1932]. — Mit Hilfe der gleichen Reaktion weisen auch Th. Wagner-Jauregg u. H. Wollschitt, *Naturwiss.* **22**, 107 [1934], Flavine im Harn nach.

<sup>10)</sup> Riedel-de Häen A.-G., Berlin.

<sup>11)</sup> „Floridin“-Bleicherde XXF, zu beziehen von Hermann Bensmann, Bremen. XXF bezeichnet einen Mahlungsgrad.

<sup>12)</sup> Die Bleicherde ist ausgezeichnet durch gleichmäßiges Korn und gutes Seditimentieren.

<sup>13)</sup> Sie können der Salzlösung mit Pyridin quantitativ entzogen werden.

<sup>14)</sup> Ph. Ellinger u. W. Koschara, *B.* **66**, 1411 [1934].

<sup>15)</sup> Noch höhere Ausbeuten erzielen R. Kuhn, H. Rudy u. Th. Wagner-Jauregg, *B.* **66**, 1950 [1933], durch Reinigung von auf anderem Wege erhaltenen Farbstoff-Konzentraten mit Hilfe des Thalliumsalzes.

<sup>16)</sup> Erst durch Einwirkung von Permanganat (s. o.) und Zerstören des überschüssigen Permanganats mit Wasserstoffperoxyd tritt die reine Lyochrom-Farbe hervor.

Die Darstellung eines krystallisierten Lyochroms aus Harn ist erst gelungen mit Hilfe der chromatographischen Adsorptions-Analyse. Dieses elegante Verfahren, das von Tswett zuerst angegeben und dessen Leistungsfähigkeit insbesondere von R. Kuhn erwiesen wurde, ist vor kurzem von A. Winterstein und G. Stein<sup>17)</sup> näher beschrieben, ausgebaut und in seinem Verwendungs-Bereich für Substanzen in organischen Lösungsmitteln umrissen worden. In der vorliegenden Arbeit wird die fruchtbare Untersuchungsmethode für die Bearbeitung wäßriger Lösungen gewonnen<sup>18)</sup>. Dabei gestattet die Beobachtung des Chromatogramms im Wood-Licht (Fluorescenz-Erscheinungen) eine schärfere Beurteilung, als sie im Tageslicht möglich ist.

Da in den aus Harn gewonnenen Farbstoff-Konzentraten nach der 2. Bleisulfid-Adsorption noch ein Strauß verwandter Stoffe vorliegt, ist bei der Herstellung des Chromatogramms ein mildes Adsorptionsmittel mit einem schwachen Entwickler zu kombinieren. Bleicherde und Methanol-Wasser-Pyridin-Gemische führen zu einer Trennung der Bestandteile. Aus der im Chromatogramm sich entwickelnden stärksten Farbzone läßt sich ein krystallisiertes Lyochrom gewinnen. Es wird vorläufig Uro-flavin genannt. Aus 1700 l Männer-Harn werden rund 50 mg Uro-flavin gewonnen<sup>19)</sup>. Uro-flavin krystallisiert aus Wasser in rotgelben Nadelchen, die zu wattigen Drusen vereinigt sind. Es schmilzt unter vollkommener Zersetzung bei 272<sup>0</sup> (unkorr., langsames Erhitzen). Die Elementaranalyse führt zu der Formel  $C_{18}H_{22}O_7N_4$ . Es zeigt alle Lyochrom-Eigenschaften. Im Chromatogramm erweist sich Uro-flavin als einheitlich. Leider fehlen noch seine spektroskopischen Daten.

Der Vergleich von Uro-flavin mit Lacto-flavin d zeigt im Krystallbild und Lyochrom-Charakter Übereinstimmung. Der Schmelzpunkt des Lacto-flavins d (1-mal aus Wasser umkrystallisiert) liegt bei 267—268<sup>0</sup> 20). Ebenda schmilzt auch ein Gemisch der beiden Farbstoffe. Der um 4<sup>0</sup> höhere Schmelzpunkt des Uro-flavins wird in mehreren vergleichenden Versuchen gefunden und kommt selbst dem Roh-krystalliat zu. Die Prüfung im Chromatogramm läßt bei einem Gemisch gleicher Teile von Lacto-flavin d und Uro-flavin keine Differenzierung erkennen<sup>21)</sup>. Die Formeln von Lacto-flavin d ( $C_{17}H_{20}O_7N_4$ )<sup>22)</sup> und Uro-flavin ( $C_{18}H_{22}O_7N_4$ ) sind noch zu wenig gestützt, als daß sie sichere Schlüsse zuließen. Es scheint Uro-flavin von Lacto-flavin d verschieden zu sein.

<sup>17)</sup> Ztschr. physiol. Chem. **220**, 247. Dort auch die ältere Literatur.

<sup>18)</sup> In der angeführten Arbeit sagen A. Winterstein u. G. Stein über das Chromatogramm wäßriger Lösungen lediglich: „Inwieweit sich die Tswettsche Methode auch auf wasser-lösliche Verbindungen wird übertragen lassen, haben wir noch nicht näher untersucht. In einem Fall konnten wir die Anreicherung eines wasser-löslichen Farbstoffs aus biologischem Material durch Adsorption an Talkum erzielen.“

<sup>19)</sup> Der Harn enthält weniger Lyochrome als die Molke

<sup>20)</sup> Der l. c. angegebene Schmp. 270—273<sup>0</sup> wurde bei schnellem Erhitzen gefunden.  
<sup>21)</sup> Es ist möglich, daß bei geeigneter Wahl von Adsorptionsmittel und Entwickler die Trennung gelingt.

<sup>22)</sup> Die Formel  $C_{17}H_{20}O_7N_4$  für Lacto-flavin (= Lacto-flavin d) von R. Kuhn, H. Rudy u. Th. Wagner-Jauregg, B. **66**, 1950 [1933], ist stärker gesichert als die oben genannte.

In eingehender Prüfung haben R. Kuhn und Th. Wagner-Jauregg<sup>23)</sup> die Identität von Ovo-flavin und Lacto-flavin wahrscheinlich machen können. Sollte sich auch Uro-flavin als identisch mit dem Milch-Farbstoff erweisen, so wird man dennoch nicht von „dem“ Lyochrom oder „dem“ Flavin sprechen können. Das natürliche Vorkommen verschiedener Farbstoffe von Lyochrom-Charakter<sup>24)</sup> scheint neuerlich erwiesen durch die Erfahrungen bei der chromatographischen Analyse der Harn-Konzentrate. Es treten regelmäßig neben dem stärksten Farbstoffring, aus dem man das Uro-flavin isolieren kann, noch drei Farbringe auf, die sich in wiederholten Chromatogrammen gut trennen lassen. Es besteht kaum ein Zweifel, daß sich jedem dieser Ringe ein besonderes Lyochrom zuordnen läßt, so daß diese Arbeitsweise insgesamt 4 Lyochrome im Harn aufweist<sup>25)</sup>.

Die Lyochrome des Harns werden aus der Nahrung stammen. Die Bedeutung des Uro-flavin-Vorkommens wird gewürdigt werden, wenn die Beziehungen zum Lacto-flavin klargestellt sind. Es ist ferner geplant, die Abhängigkeit der Uro-flavin-Menge von verschiedenen Faktoren zu untersuchen. Dabei erlaubt die chromatographische Adsorptions-Analyse, die Lyochrome aus 100 ccm Harn in 2—3 Stdn. nicht nur sichtbar zu machen, sondern auch zu bestimmen. Es ist selbstverständlich, daß die analytische wie die präparative Bedeutung des Chromatogramms sich nicht nur auf den Harn beschränkt. So ist beispielsweise die Abtrennung reiner Lyochrom-Lösungen aus Leber-Konzentraten mit dem Chromatogramm-Verfahren glatt gelungen.

### Beschreibung der Versuche.

#### a) Bereitung der Uro-flavin-Konzentrate.

Im Laufe von 24 Stdn. werden 100 l Männer-Harn in einem Ballon, der 1,5 l 25-proz. Salzsäure enthält<sup>26)</sup>, gesammelt und mit 2 kg Bleicherde 10 Min. verrührt. Nach 15 Min. hat sich die Bleicherde vollständig abgesetzt. Die klare Lösung abhebern. Den zurückbleibenden Schlamm (8 l) auf der Nutsche absaugen, mit 5 l Wasser waschen und die Farbstoffe mit 10 l 40-proz. wäßrigen Pyridins herauslösen. Die braunroten Eluate im Vakuum auf 1 l eingengen. Die dabei auftretende Fällung (im wesentlichen Harnsäure) abtrennen, die schwarzbraune Mutterlauge mit 200 ccm einer 10-proz. Bleiessig-Lösung versetzen und die braune, käsige Fällung absaugen. Das dunkelrote Filtrat nach Hinzufügen von 50 ccm der Bleiessig-Lösung mit Schwefelwasserstoff sättigen. Bleisulfid abfiltrieren und mit Wasser gut waschen. Die Elution der Farbstoffe geschieht mit 400 ccm eines Gemisches von 7 Tln. Methanol, 2,5 Tln. Pyridin und 1 Tl. Wasser. Wenn man mit dem Gemisch das Bleisulfid erschöpft hat, so zeigen die Oxydation einer Probe des Bleisulfids mit konz. Salpetersäure und folgendes Abstumpfen mit Natriumacetat noch ganz erhebliche Mengen Lyochrome an. Setzt man die Elution mit dem oben genannten Gemisch, dem 0,5 Tle. Eisessig zugefügt sind, fort, so löst man jetzt

<sup>23)</sup> B. 66, 1577 [1933].

<sup>24)</sup> vergl. P. György u. R. Kuhn, Naturwiss. 21, 405 [1933].

<sup>25)</sup> Diese Farbstoffe haben nichts mit Lacto-flavin a—c (B. 66, 808 [1933]) zu tun. Die Einheitlichkeit der dort beschriebenen Verbindungen wird von R. Kuhn u. Th. Wagner-Jauregg, B. 66, 1579 [1933], bestritten. Die Entscheidung soll durch chromatographische Adsorption erbracht werden.

<sup>26)</sup> Salzsäure Adsorption scheint etwas ergiebiger zu sein als essigsäure bei allerdings vermehrten Begleitfarbstoffen.

allen Farbstoff ab<sup>27)</sup>. Der fördernde Einfluß des Eisessig-Zusatzes bei der Elution der Lyochrome<sup>1)</sup> tritt hier besonders scharf hervor. Der Eisessig-Effekt deutet an, daß es am Bleisulfid zwei Arten von aktiven Stellen gibt.

Die gesammelten Eluate, insgesamt 1000 ccm, einengen auf 100 ccm und 12 Std. mit Äther extrahieren. Schmutzigbraune Niederschläge abtrennen, die dunkelrote, klare Mutterlauge mit Ammoniumsulfat sättigen, das lyochrom-gelbe Filtrat des entstehenden Niederschlags mit 100 ccm Wasser verdünnen, mit 10 ccm 10-proz. Bleiessig-Lösung versetzen und mit Schwefelwasserstoff sättigen. Nach Waschen des Bleisulfids wird die Elution mit 200 ccm einer 5-proz. wäßrigen Pyridin-Lösung, der 1 ccm Eisessig zugesetzt ist, angeschlossen. Einengen der Eluate auf 30 ccm. 6 Std. ausäthern. Dabei fallen rotbraune Niederschläge<sup>28)</sup>, die abgetrennt werden. Die ausgeätherte, hellrote Farbstoff-Lösung im Vakuum von Äther und durch Schwefelwasserstoff von Spuren Blei befreien. Einengen auf 10 ccm. Diese Lösung wird der chromatographischen Analyse unterworfen<sup>29)</sup>.

#### b) Chromatographische Adsorptionsanalyse von Lyochrom-Lösungen.

Die Herstellung des Chromatogramms geschieht in der von Tswett beschriebenen Weise. Die sinnreiche Anordnung, wie sie in der Arbeit von A. Winterstein und G. Stein<sup>17)</sup> angeführt wird, hat ihre großen Vorzüge, wenn die Farbzonen mechanisch getrennt werden. Entwickelt man jedoch bis zum Austritt der Farbringe („flüssiges Chromatogramm“), so ist die im folgenden geschilderte Anordnung einfacher: Ein gerader Vorstoß (Durchmesser 31 mm) mit eingeschmolzener Glassiebplatte und Rundfilter wird in 3 Portionen mit 15 g Bleicherde XXF<sup>11)</sup> trocken angefüllt. Jede Portion ist sorgfältig und gleichmäßig festzustampfen (Glasstab mit Korken). Man gießt auf die 34 mm hohe Erdsäule vorsichtig ein Lyochrom-Konzentrat (40 ccm), das in der unter a) beschriebenen Weise aus 400 l Harn erhalten worden ist. Nachdem die Erdsäule in ihrer ganzen Höhe durchfeuchtet ist, wird der Vorstoß über eine Saugflasche an ein schwaches Vakuum angeschlossen. Am oberen Rand der Bleicherde werden die Lyochrome in 8 mm breiter Schicht fixiert. Gleichzeitig bildet sich in der Mitte des Rohres ein Farbring, der im Wood-Licht (ebenso wie der obere Farbstoff-Rand) durch grellgelbe Fluoreszenz scharf hervortritt und schon mit wenig Wasser durch die Säule wandert und austritt. Es spricht alles dafür, daß es sich bei dem Lyochrom dieses Ringes um einen besonderen Farbstoff handelt, der von den bisher bekannten Flavinen durch seine geringe Haftfestigkeit an Bleicherde<sup>30)</sup> zu unterscheiden ist. Da reine Uro-flavin-Lösungen diesen Farbring im Chromatogramm nicht zeigen, handelt es sich nicht um eine permutit-ähnliche Wirkung der Bleicherde.

Die 8 mm breite Hauptschicht wird mit 150 ccm Wasser gewaschen (Entfernung grüner und gelber Begleitfarbstoffe) und wandert dabei einige

<sup>27)</sup> Daß dabei etwas Blei in Lösung geht, ist für die Weiterverarbeitung belanglos.

<sup>28)</sup> Sie scheinen ähnliche Verbindungen zu enthalten, wie sie bei der Molke als Lacto-flavin a—c beschrieben sind.

<sup>29)</sup> Zuhilfenahme des Chromatogramms auf einer früheren Stufe wird den Arbeitsgang vereinfachen können.

<sup>30)</sup> In saurer Lösung wird der Farbstoff besser fixiert.

Millimeter zur Rohrmitte<sup>31)</sup>. Anschließend eluiert man mit einem starken Entwickler, am besten mit 100 ccm einer 5-proz. wäßrigen Pyridin-Lösung. Die getrennt aufgefangene Lyochrom-Fraktion wird auf 10 ccm eingeengt und ein zweites Mal über Bleicherde filtriert: Rohr 27 mm; 15 g Bleicherde; Schichthöhe 46 mm. Das mit Wasser auswaschbare Lyochrom tritt in diesem zweiten Chromatogramm nur ganz schwach auf. Waschen mit 50 ccm Wasser. Dadurch Ausdehnung der Farbzone von 3 auf 7 mm. Entwickelt wird mit einem Gemisch von 3 Tln. Methanol, 1 Tl. Wasser und 1 Tl. Pyridin. Mit 250 ccm dieses schwachen Entwicklers werden 3 Lyochrom-Farbringe allmählich scharf voneinander getrennt<sup>32)</sup>. Die Lyochrom-Konzentrationen der 3 Farbringe verhalten sich (Reihenfolge im Chromatogramm von unten nach oben) nach roher Schätzung wie 6:2:1. Aus der 1. und stärksten Farbzone gewinnt man nach Austreiben und Einengen der Fraktion auf 3,5 ccm wäßriger Lösung das kristallisierte Uro-flavin.

Zur Analyse<sup>33)</sup> wird das Uro-flavin noch 2-mal aus Wasser umkristallisiert und bei 75° im Vakuum über Phosphorpentoxid 3 Stdn. getrocknet.

3.166 mg Sbst.: 6.175 mg CO<sub>2</sub>, 1.480 mg H<sub>2</sub>O, 0.006 mg Asche. — 3.790 mg Sbst.: 7.410 mg CO<sub>2</sub>, 1.805 mg H<sub>2</sub>O, 0.007 mg Asche. — 3.060 mg Sbst.: 0.366 ccm N (20°, 758 mm). — 2.946 mg Sbst.: 0.343 ccm N (20°, 758 mm).

C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>O<sub>7</sub>N<sub>4</sub>. Ber. C 53.2, H 5.4, N 13.8.

Gef. „ 53.19, 53.33, „ 5.23, 5.33, „ 13.90, 13.53.

Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft sage ich für die Gewährung eines Forschungs-Stipendiums meinen besten Dank.

#### 145. Yasuhiko Asahina und Yaitiro Tanase: Untersuchungen über Flechtenstoffe, XXXVIII. Mitteil.: Über die Proto-cetrarsäure und ihre Alkyläther.

[Aus d. Pharmazeut. Institut d. Universität Tokyo.]

(Eingegangen am 21. März 1934.)

Wie Hesse<sup>1)</sup> richtig erkannte, kommt die Cetrarsäure in *Cetraria islandica* Ach. nicht fertig gebildet vor, sondern ist aus der Fumar-protocetrarsäure durch Alkoholyse hervorgegangen. Es ist weder Zopf noch Hesse gelungen, die zugrunde liegende Proto-cetrarsäure mit Sicherheit in der Natur nachzuweisen. Zopf<sup>2)</sup> vermutete aber, daß die von Hesse aus *Ramalina farinacea* erhaltene Ramalinsäure mit Proto-cetrarsäure identisch ist. Vor kurzem haben Asahina und Yanagita<sup>3)</sup> gezeigt, daß die Caprarsäure aus *Parmelia caperata* nichts anderes ist als Proto-cetrarsäure. Gleichzeitig haben Asahina und Tukamoto<sup>4)</sup> das Vorkommen der letzteren in *Usnea montis Fuji* Motyka nachgewiesen.

Wir haben nun *Parmelia Zollingeri* Hépp aus Formosa, eine ansehnliche, tropische Blattflechte, chemisch untersucht und darin reichlich (12 %) Proto-cetrarsäure, neben geringeren Mengen Atranorin und einer Spur Leca-

<sup>31)</sup> Die Haftfestigkeit des Farbrings steigt mit dem Reinheitsgrad.

<sup>32)</sup> Daneben treten blaugrün-grün fluoreszierende schmale Zonen auf.

<sup>33)</sup> Ausgeführt von Weiler, Charlottenburg.

<sup>1)</sup> Journ. prakt. Chem. [2] **70**, 458 [1904]. <sup>2)</sup> Zopf, Die Flechtenstoffe, S. 176.

<sup>3)</sup> B. **66**, 1217 [1933].

<sup>4)</sup> B. **66**, 1257 [1933].