

66. A. Hantzsch und A. Burawoy: Schlußwort zu P. Petrenko-Kritschenkos „Gesetz der Periodizität“.

(Eingegangen am 8. Januar 1935.)

Zu unserer Kritik dieses nach dem Autor bestehenden Gesetzes, das wir kritisch behandeln mußten¹⁾, hat sich derselbe nochmals ausführlich geäußert²⁾. Hierauf ebenso ausführlich einzugehen, halten wir für unnötig. Wir beschränken uns auf folgende Erklärung: P. Petrenko-Kritschenko hat offenbar nicht erkannt, daß wir nicht die von ihm gefundenen Gesetzmäßigkeiten der chemischen Reaktionsfähigkeit halogenierter Methane, sondern nur die hieraus gezogene Folgerung eines mit der Konstitution der Verbindungen verknüpften Gesetzes der Periodizität kritisiert haben. Es liegt daher für ihn auch kein Anlaß vor, sich darüber zu wundern, daß wir nach vollkommener Widerlegung dieses angeblichen Gesetzes seine experimentellen Befunde als durchaus bemerkenswert bezeichnet haben.

67. Harry Willstaedt: Über die Farbstoffe des echten Reizkers (*Lactarius deliciosus* L.) (I. Mittel.).

[Aus d. Medizin.-chem. Institut d. Universität Uppsala.]

(Eingegangen am 14. Januar 1935.)

Die Farbstoffe der höheren Pilze haben am Ende des vorigen Jahrhunderts, nach der Entdeckung der Spektralanalyse, eine ziemlich lebhaft bearbeitet erfahren. Daß diese Bearbeitung sich oft nur auf die Ermittlung der Absorptionsspektren erstrecken konnte, erklärt sich daraus, daß bei solchen Farbstoffen, deren Abscheidung als chemische Individuen gelang, die Konstitutions-Aufklärung mangels mikro-chemischer Methoden durch die Schwierigkeiten der Material-Beschaffung behindert wurde, und daraus, daß für manche schwieriger rein zu erhaltende Farbstoffe erst die methodischen Fortschritte der letzten Zeit die Reindarstellung ermöglichten. Eine Reihe von zumeist erschöpfend aufklärenden Untersuchungen über die Struktur von Pilz-Farbstoffen verdankt man F. Kögl¹⁾ und seinen Mitarbeitern. Vom allgemein-biologischen Standpunkt erscheint die Beantwortung der Frage interessant, ob die Pilze Farbstoffe bilden, die auch in assimilierenden Pflanzen angetroffen werden. Bejahend ist diese Frage für das bis jetzt vorliegende Material nur hinsichtlich der Carotinoide und der Anthrachinon-Farbstoffe zu beantworten, jedoch mit der Einschränkung, daß die präparative Darstellung eines Carotinoids aus einem höheren Pilz noch nicht erfolgt ist²⁾.

¹⁾ B. 67, 788 [1934]. ²⁾ B. 67, 1349 [1934].

¹⁾ Zusammenfassende Darstellungen vergl. bei F. Kögl, Kleins Handbuch der Pflanzen-Analyse, Band III, 2. Abt. S. 1410 ff., Wien 1932, und bei H. Willstaedt, Carotinoide, Pilz- und Bakterien-Farbstoffe, Stuttgart 1934. Ältere Literatur vergl. bei F. Czapek, Biochemie der Pflanzen 3, 369—379, Jena 1921, und bei J. Zellner, Chemie der höheren Pilze, Leipzig 1907.

²⁾ Bei Bakterien ist dagegen eine präparative Isolierung von Carotinoiden z. T. möglich gewesen, vergl. E. Chargaff, Compt. rend. Acad. Sciences Paris 197, 946 [1933]; Ann. Inst. Pasteur 52, 415 [1934], ebenso bei niederen Pilzen, z. B. *Monascus purpureus* Wentii, H. Salomon u. P. Karrer, Helv. chim. Acta 15, 18 [1932], Hefen, Chargaff u. Dieryck, Naturwiss. 20, 872 [1932].

In der vorliegenden Arbeit wird das gemeinsame Vorkommen in assimilierenden Pflanzen und höheren Pilzen auch für die Gruppe der Lyochrome (Flavine) erwiesen. Daß übrigens in niedrigen Organismen, wie Pilzen und Bakterien, gelegentlich ganz neue Verbindungs-Klassen aufgefunden werden, zeigen die Untersuchungen über das Pyocyanin³⁾, das Chlororaphin³⁾, bei denen man in Bakterien-Organismen auf das vorher in der Natur nicht aufgefundene Ringsystem des Phenazins stieß. Ebenso erwiesen sich die in Pilzen aufgefundenen Farbstoffe Telephorsäure³⁾ und Xylindein³⁾ als Phenanthren-Farbstoffe; auch diese Farbstoff-Klasse war vorher in der Natur nicht aufgefunden worden. Diejenigen Farbstoffe höherer Pilze, die bisher konstitutionell geklärt sind, gehören ausnahmslos zur Gruppe der Chinone, und zwar als Derivate des Terphenyls, Anthracens oder Phenanthrens. Die Anzahl der bisher eingehend untersuchten Farbstoffe ist allerdings nicht so groß, daß man bereits allgemeine Schlüsse auf ihren Aufbau ziehen könnte. Die Untersuchung weiterer Farbstoffe konnte deshalb als wünschenswert erscheinen⁴⁾.

Ein in ganz Mitteleuropa verbreiteter, leicht kenntlicher und wegen seines Wohlgeschmacks geschätzter Pilz ist der echte Reizker (Wacholder-Milchling, Röstling, *Lactarius deliciosus* L.). Er enthält in Hut und Stiel in der gesamten oberflächlichen Schicht einen ziegelroten Milchsaft. Liegt der Pilz zerbrochen an der Luft, so färben sich die orangefarbenen Partien der Bruchfläche allmählich grün. Eine ähnliche grüne Verfärbung tritt beim Altern des Pilzes in allen seinen Teilen auf, so daß Mitte Oktober gesammelte, schon leicht vertrocknete Exemplare völlig grün erscheinen können. Ich konnte beobachten, daß die grüne Verfärbung auch schnell erfolgt, wenn der fein zerriebene, frische Pilz mit verd. Ammoniak übergossen wird. Eine Salz-Bildung liegt nicht vor, da die Umwandlung durch Säure nicht reversibel ist.

Über die Farbstoffe des Reizkers liegt bisher nur eine spektroskopische Untersuchung von Bachwald⁵⁾ vor. Bei der Extraktion der Pilze mit Methanol erhielt der Autor braunrote Lösungen. Beim Eindampfen schieden sich talg-artige Massen ab, von denen er abtrennte. Der schließlich verbliebene Rückstand gab an Äther einen violetten Farbstoff ab. Ich konnte diese Angaben bestätigen.

Absorption der rohen Lösung des violetten Farbstoffs.

					EA
Bachwald	635—626	582—561	543—530	512—487	429
Willstaedt (Maxima)	625.5	577	520	483	450

Auch die Angabe von Bachwald, daß der violette Farbstoff beim Schütteln seiner ätherischen Lösung mit verd. Säure teilweise mit bernstein-gelber Farbe in die Säure übergeht, konnte ich bestätigen.

³⁾ Literatur vergl. die unter 1) genannten Zusammenfassungen.

⁴⁾ Die Konstitutions-Ermittlung von Pflanzen-Bestandteilen bietet nicht nur für die Chemie und die Pflanzen-Physiologie, sondern auch für die Pflanzen-Morphologie Interesse, vergl. z. B. Molisch, Pflanzen-Chemie und Pflanzen-Verwandtschaft, Jena 1933.

⁵⁾ Programm des Gymnasiums zu Plauen 1886, 18. Gelegentlich des Versuchs der Einsicht in die Originalarbeit stellte es sich heraus, daß der Name des Autors Bachwald (nicht, wie fast ausschließlich zitiert wird, Bachmann) lautet. Es gelang mir aber nicht, der Originalarbeit habhaft zu werden. Das Ergebnis der Untersuchung ist zitiert nach Kögl und nach Zellner (vergl. Fußnote 1).

Die Grünfärbung der Bruchfläche des Pilzes sollte nach Bachwald darauf zurückzuführen sein, daß eine substraktive Farbmischung des violetten Farbstoffs mit einem gelben Farbstoff erfolgt. Diese Annahme trifft nicht zu. Die Löslichkeits-Eigenschaften des auf der Bruchfläche oder beim Altern gebildeten grünen Farbstoffs sind von denen des gelben und violetten Farbstoffs völlig verschieden. Während sich diese leicht in den üblichen organischen Lösungsmitteln lösen, ist der genannte grüne Farbstoff nur durch Eisessig, und auch dann nur in äußerst geringer Menge, in Lösung zu bringen. Außerdem kommt aber in geringer Menge auch im frischen Pilz ein anderer grüner Farbstoff vor, der sich in organischen Lösungsmitteln leicht löst. Er erweist sich als einheitlich, nicht als Gemisch von gelb und blau (vergl. weiter unten).

In den letzten Jahren hat bei der Erforschung von Natur-Farbstoffen die chromatographische Analyse mit großem Erfolg Anwendung gefunden. Man kann wohl der Ansicht Zechmeisters⁶⁾ beipflichten, daß dieses ursprünglich von dem russischen Botaniker Tswett⁷⁾ aufgefundene Verfahren „den stärksten Impuls darstellt, den die Erforschung der Natur-Farbstoffe seit der Entdeckung der Spektralanalyse von physikalischer Seite erfahren hat“. Die Ausgestaltung des chromatographischen Verfahrens zu einer präparativen Methode ist den Arbeiten von Dhéré und Vegezzi⁸⁾, sowie von Kuhn und Mitarbeitern⁹⁾ zu verdanken. Auf typische Pilz-Farbstoffe ist es bisher nicht angewendet worden. In dem hier untersuchten Fall eines in Petroläther gut löslichen Farbstoffs schien die Anwendung der chromatographischen Adsorption vorteilhaft. Es gelang auch, auf diese Weise zu zeigen, daß die Extrakte aus *Lactarius deliciosus* nicht nur zwei alkohol-lösliche Farbstoffe enthalten, sondern im ganzen fünf oder sechs, und zwar zwei orangegelbe, ein oder zwei grüne, einen blauen und einen rotvioletten Farbstoff. Im Gemisch geben diese Farbstoffe den rotbraunen Ton, wie ihn die Roh-Extrakte zeigen. Der Hauptfarbstoff ist der rotviolette, er konnte aus dem Chromatogramm ohne Mühe kristallisiert erhalten werden. Die anderen Farbstoffe sind nur in so geringer Menge vorhanden, daß ihre Darstellung in kristallisierter Form noch nicht gelungen ist. Die Absorptionsspektren des kristallisierten rotvioletten Farbstoffs, der Eluate der blauen und grünen Chromatogramm-Zone sind in Abbild. 1 angegeben. Der rotviolette Farbstoff (Abbild. 1, Nr. 1) zeigt im sichtbaren Spektrum zwei breite Absorptionsbanden mit Maxima bei 560 und 506 m μ , dann folgt eine sehr kräftige Bande im Violett mit einem Maximum bei 394 m μ ; die Intensität der Absorption nimmt dann etwas ab (Nebenminimum bei 360 m μ), um dann wieder maximal zu werden. Der blaue Farbstoff (Abbild. 1, Nr. 2), dessen Isolierung in kristallisierter Form noch nicht gelungen ist, scheint noch etwas vom rotvioletten Farbstoff

⁶⁾ A. 509, 269 [1934].

⁷⁾ Ber. Dtsch. botan. Ges. 24, 234 [1906].

⁸⁾ Dissertat. Vegezzi, Fribourg 1916. Hrn. Prof. Dr. Ch. Dhéré, der mir in entgegenkommender Weise ein Exemplar dieser sonst schwer zugänglichen Publikation überlassen hat, möchte ich auch an dieser Stelle dafür meinen herzlichsten Dank aussprechen.

⁹⁾ vergl. die ausführliche Übersicht bei A. Winterstein in Kleins Handbuch d. Pflanzen-Analyse, Band IV, S. 1403ff., Wien 1933. Dort auch Angaben über Prinzip und Ausführung, ferner A. Winterstein u. G. Stein, Ztschr. physiol. Chem. 220, 263 [1933]; Anwendung auf wäßrige Lösungen vergl. W. Koschara, B. 67, 761 [1934].

enthalten zu haben. Er zeigt in der Abbildung Absorptionsmaxima bei 645 und 620 $m\mu$ (abgesehen von den mit denen des rotvioletten Farbstoffs identischen Banden). Bei visueller Betrachtung sieht man im roten Teil des Spektrums 3 scharfe Banden, deren Maxima bei 670, 640 und 615 $m\mu$ liegen. Der grüne Farbstoff (Abbild. 1, Nr. 3) zeigt nur ein ausgesprochenes Absorptionsmaximum, nämlich bei 413 $m\mu$ ¹⁰⁾.

Für den rotvioletten Farbstoff schlage ich den Namen Lactaro-violin vor. Sein Schmp. liegt bei 53°. Dieser auffallend niedrige Schmelzpunkt und die Anzahl der Begleitfarbstoffe machen es gut verständlich, daß es früher nicht gelungen ist, den Farbstoff krystallisiert zu erhalten. Lactaro-violin ist stickstoff-frei. Analyse und Molekulargewichts-Bestimmung deuten auf die Formel $C_{15}H_{14}O$. In seinem chemischen Verhalten unterscheidet sich das Lactaro-violin von den bisher bekannten Pilz-Farbstoffen durch das Fehlen jeglicher saurer Eigenschaften. Im Gegenteil geht es aus einem organischen Lösungsmittel in wäßrige Mineralsäuren und bildet beim Einleiten von Chlorwasserstoff in seine Lösung in Petroläther ein orangefarbenes Produkt, das durch Wasser wieder den Ausgangsstoff zurückliefert. Es dürfte sich bei dieser Verbindung um ein Oxoniumsalz handeln. Gegen Reduktionsmittel ist das Verhalten des Farbstoffs wechselnd. Bei der katalytischen Hydrierung ist schon nach Aufnahme eines Mols Wasserstoff völlige Entfärbung eingetreten. Bei der Reduktion mit Zinkstaub in Pyridin bei Gegenwart von wenig Eisessig nach Kuhn und Winterstein¹¹⁾ tritt eine blaue Färbung auf. Die bernsteingelbe Farbe der Lösung des Farbstoffs in 5-n. Salzsäure geht bei der Einwirkung von Zinnchlorür in der Wärme allmählich in ein schönes Grün über. Einwirkung von naszierendem Wasserstoff (Zink in salzsaurem Milieu) bewirkt schnelle Entfärbung. Bei der Mikro-Zinkstaub-Destillation konnte bisher kein krystallisiertes Reaktionsprodukt erhalten werden. Die beschriebenen Eigenschaften des Farbstoffs gestatten noch keine begründeten Schlüsse auf seine chemische Natur.

Das in den Lactarien vorhandene Lyochrom wurde aus den eingangs erläuterten Gründen ebenfalls einer näheren Untersuchung unterworfen. Die weite Verbreitung der Lyochrome in pflanzlichem Material ist durch Untersuchungen von H. v. Euler, E. Adler und A. Schlötzer¹²⁾, sowie von R. Kuhn, Th. Wagner-Jauregg und H. Kaltschmitt¹³⁾ erwiesen. Die bisher aus Pflanzen präparativ isolierten Lyochrome¹⁴⁾ ließen keine Unterschiede gegenüber dem Lacto-flavin erkennen¹⁵⁾. Die Aufarbeitung des

¹⁰⁾ Die Spektralaufnahmen wurden von Hrn. Assistenten fil. lic. H. Hellström im Institut von Hrn. Prof. v. Euler in Stockholm ausgeführt; ich möchte nicht verfehlen, beiden Herren auch an dieser Stelle für ihr großes Entgegenkommen meinen besten Dank auszusprechen. ¹¹⁾ B. **65**, 646, 1737, 1742 [1932].

¹²⁾ Ztschr. physiol. Chem. **226**, 87 [1934]. ¹³⁾ B. **67**, 1452 [1934].

¹⁴⁾ Aus Löwenzahn und aus Grünmalz, Karrer und Mitarbeiter, Helv. chim. Acta **17**, 771, 1013 [1934], aus Heu, Kuhn u. Kaltschmitt, B. **68**, 128 [1935]. Das Toxo-flavin von van Veen u. Mertens (Rec. Trav. chim. Pays-Bas **53**, 257, 398 [1934]) dürfte nach Zusammensetzung und Molekulargewicht nicht den eigentlichen Lyochromen zuzuzählen sein.

¹⁵⁾ An Lyochromen, die sich im chemischen Verhalten von Lacto-flavin unterscheiden, ist bisher nur das Aquo-flavin von Koschara (Ztschr. physiol. Chem. **229**, 103 [1934]) beschrieben. In Leinsamen ist ein Farbstoff mit Lyochrom-Eigenschaften enthalten (Willstaedt, Svensk Kem. Tidskr. **46**, 259 [1934]), der ein schwach von den Eigenschaften des Lacto-flavins abweichendes Verhalten zeigt, dessen Isolierung aber noch aussteht.

Lactarien-Lyochroms erfolgte im Anschluß an die von Kuhn und Mitarbeitern¹⁶⁾ angegebene Vorschrift. Da die Schmelzpunkte in der Lyochromreihe wenig charakteristisch sind, außerdem auch die zur Verfügung stehende Materialmenge zur Ausführung mehrfacher Umkrystallisationen nicht ausreichend gewesen wäre, griff ich zur chemischen Identifikation des Lyochroms zu den beiden bequemen, in letzter Zeit angegebenen Reaktionen, einerseits der Farbreaktion der durch energische alkalische Hydrolyse auftretenden Base mit Eisenchlorid¹⁷⁾, andererseits der Verschiebung der Fluorescenz-Farbe nach blau bei Belichtung in neutraler Lösung infolge Bildung von Lumi-chrom¹⁸⁾. Der positive Ausfall beider Reaktionen berechtigt wohl zu dem Schluß, daß in dem aus *Lactarius deliciosus* isolierten Lyochrom das vorbekannte Lacto-flavin vorliegt.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Hrn. Prof. Dr. G. Blix für die freundliche Aufnahme zu danken, die er mir in seinem Institut gewährt hat und die die Ausführung dieser Untersuchung ermöglichte.

Beschreibung der Versuche.

Aufarbeitung der Pilze.

3 kg Pilze werden im Mörser gut zerrieben und mit 2 l Alkohol übergossen. Am nächsten Tage filtriert man durch Tuch und preßt die Pilze gut ab, um sie nochmals mit 1 l Alkohol einen Tag zu extrahieren. Die vereinigten Filtrate werden dann durch große Faltenfilter klar filtriert und mit ihrem halben Volumen Äther versetzt. Durch Zusatz von Wasser bewirkt man Entmischung, wobei die für die braunrote Färbung der Alkohol-Extrakte verantwortlichen Farbstoffe mit schön roter Farbe in den Äther gehen (die wäßrig-alkoholischen Lösungen dienen zur Darstellung der Lyochrome, vergl. unten). Die ätherische Lösung wird mit etwa $\frac{1}{20}$ ihres Volumens alkohol. Natronlauge geschüttelt und bleibt damit über Nacht stehen. Bald beginnt die Abscheidung farbloser Krystalle, und am nächsten Morgen ist der Boden des Kolbens mit einer flockig-krystallinen Masse bedeckt, von der der Äther abdekantiert wird. Durch Waschen mit Wasser befreit man von Alkohol und Alkali. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat dampft man den Äther auf dem Wasserbade völlig ab und nimmt den Rückstand in Petroläther auf. Von einem flockigen Niederschlag befreit man durch Filtration und unterwirft das Filtrat der chromatographischen Analyse an Aluminiumoxyd (standardisiert nach Brockmann¹⁹⁾; Säule 15 cm hoch, 5 cm Durchmesser). Der rote Hauptfarbstoff bleibt dabei als breite Zone oben haften, während geringe Mengen eines braungelben Farbstoffs schnell durch die ganze Säure wandern. Beim Nachwaschen mit Petroläther, bzw. besser bei Entwicklung mit Benzol-Petroläther (1:5), wandert der Hauptfarbstoff tiefer in die Säule hinein, während darüber eine ziemlich schmale, grünlich-graue Zone verbleibt. Bei der Entwicklung wird aus der Hauptzone ein rein blauer Farbstoff herausgelöst, der dann allmählich weiter nach unten

¹⁶⁾ Abgekürzte Angaben vergl. bei Kuhn u. Wagner-Jauregg, B. 67, 1770 [1934], u. zw. S. 1772. ¹⁷⁾ Ebenda.

¹⁸⁾ P. Karrer u. Mitarbeiter, Helv. chim. Acta 17, 1010 [1934]; P. Karrer, B. 67, 2061 [1934].

¹⁹⁾ Calciumcarbonat (sowohl gewöhnliches als auch laevissimum) adsorbiert die hier untersuchten Farbstoffe nicht.

wandert. Die einzelnen Zonen der Säule werden wie üblich mit Petroläther-Methanol eluiert und nochmals an einer kleineren Säule (10 cm hoch, $2\frac{1}{2}$ cm Durchmesser) chromatographiert. Dabei löst sich die grünlich-graue Zone der ersten Adsorption in eine grau-braune, eine orangegelbe, eine grüne²⁰⁾ und eine purpurfarbige Zone (letztere identisch mit dem Hauptfarbstoff) auf. Die hier vorliegenden Farbstoffmengen sind jedoch sehr gering, so daß eine präparative Weiterbearbeitung dieser Farbstoffe noch nicht möglich war. Die Hauptzone der ersten Chromatographie wird bei der zweiten Adsorption von etwas noch anhaftendem blauen und grünen Farbstoff befreit. Das Eluat zeigt eine intensiv rotviolette Farbe. Es wird mit Wasser frei von Methanol gewaschen und auf dem Wasserbade auf ein kleines Volumen eingedampft. Bei 2-stdg. Stehen im Kühlschrank bei -15° scheiden sich schöne Krystalle ab, die makroskopisch als Nadeln erscheinen, bei mikroskopischer Betrachtung sich aber als kräftige Stäbe erweisen (Abbild. 2). In der Aufsicht erscheinen sie schwarzviolett, in der Durchsicht rot. Zum Umkrystallisieren eignet sich Petroläther unter Zusatz von etwas Benzol. Der Farbstoff schießt daraus in mehreren mm großen, schimmernden Krystallen an. Schmp. 53° (ohne sichtbare Zersetzung). Der Farbstoff ist in den üblichen organischen Lösungsmitteln mit roter Farbe und violetter Fluoreszenz gut löslich (besonders leicht in Chloroform und Pyridin); aus nicht mit Wasser mischbaren Lösungsmitteln läßt er sich durch verd. Mineralsäuren (aber nicht durch verd. Essigsäure) mit bernsteingelber Farbe in die wäßrige Schicht treiben (nicht quantitativ, es stellt sich nur ein gewisser Gleichgewichts-Zustand ein). Mit Antimontrichlorid unter den Bedingungen der Carr-Priceschen Reaktion liefert der Farbstoff ebenfalls eine bernsteingelbe Lösung. Zur Analyse wird der Farbstoff (Lactaro-violin) zwei Tage im Vakuum bei $15-20^{\circ}$ getrocknet.

5.305 mg Sbst.: 16.660 mg CO_2 , 3.170 mg H_2O . — 3.130 mg Sbst.: 0.000 ccm N.
 $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}$. Ber. C 85.70, H 6.66. Gef. C 85.68, H 6.66.

Molekulargewicht: 0.0035 g Sbst. in 0.0427 g Camphen²¹⁾ (K für Camphen 31080):
 $\Delta = 14.1^{\circ}$.

$\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}$. Molgew. ber. 210, gef. 180.

(Der zu niedrige Wert dürfte auf die Schwierigkeit zurückzuführen sein, bei der tiefroten Lösung des Farbstoffs in Camphen den Schmelzpunkt ganz exakt abzulesen.)

Die blauen Zonen der ersten Chromatogramme (von mehreren Aufarbeitungen vereinigt) werden eluiert und nochmals chromatographiert und so frei von allen Begleit-Farbstoffen erhalten²²⁾. Die Menge Farbstoff war auch hier zu gering, um die Isolierung in krystallisiertem Zustand zu gestatten. (Bezüglich des Absorptionsspektrums vergl. oben.) Im Gegensatz zum Lactaro-violin geht der blaue Farbstoff beim Schütteln seiner Petroläther-Lösung mit verd. Mineralsäure nicht in die wäßrige Schicht.

²⁰⁾ Der aus dem grünen Ring eluierte Farbstoff zeigt folgende interessante Eigenschaft: Gibt man in seine Lösung in Petroläther etwas Frankonit KL, so wird der Farbstoff quantitativ adsorbiert. Das Adsorbat ist rosarot gefärbt. Auf Zusatz von Methanol wird der Farbstoff mit der ursprünglichen grünen Farbe wieder eluiert.

²¹⁾ Der Firma Schimmel & Co. (Miltitz b. Leipzig), die dem Institut das benötigte reinste Camphen freundlichst überließ, sei dafür auch an dieser Stelle bestens gedankt.

²²⁾ Es bewährte sich hier der von Zechmeister u. Tuzson (Ztschr. physiol. Chem. **225**, 189 [1934]) angegebene Kunstgriff für die Behandlung von solchen Farbstoffen, die zunächst Neigung zeigen, durch das Chromatogramm durchzulaufen.

Zur Aufarbeitung auf Lyochrome dienten die bei der Entmischung der Alkohol-Extrakte der Pilze mit Äther erhaltenen wäßrig-alkoholischen Schichten (vereinigt von 8 Extraktionen). Sie zeigen braungelbe Farbe und lebhaftes Ultraviolett-Fluoreszenz. Die Aufarbeitung erfolgte durch Adsorption an Bleicherde XXF²³⁾ aus salzsaurer Lösung und nachfolgende Elution mit Pyridin-Methanol-Wasser. In dem auf ein kleines Volumen eingeeengten Eluat wurde das Flavin durch Silbernitrat gefällt und aus dem gewaschenen Niederschlag durch Schwefelwasserstoff wieder in Freiheit gesetzt. Daran schloß sich eine Adsorption aus schwach essigsaurer Lösung an Frankonit KL²⁴⁾ und Elution mit Pyridin-Methanol-Wasser. Eine Vorprobe zeigte, daß aus dem auf wenige ccm eingeeengten Eluat durch Pikrinsäure nichts ausgefällt wird. Es wurde daher direkt mit Ammoniak bis zum bleibenden schwachen Geruch danach versetzt und etwas kaltgesättigte Thalliumsulfat-Lösung zugefügt. Beim Stehen über Nacht im Kühlraum schieden sich schöne Nadelbüschel ab (vergl. Abbild. 3), die abgesaugt wurden. Sie wurden in der geringst möglichen Menge kochenden Wassers gelöst; zu der noch warmen Lösung wurde etwas Silbernitrat gefügt. Einige Tropfen verd. Ammoniaks vervollständigen die Fällung. Nach dem Stehen über Nacht wurde der Niederschlag abzentrifugiert, 2-mal mit Wasser gewaschen und dann mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Aus dem Filtrat des Silbersulfid-Niederschlags entfernte man (wie übrigens auch bei der weiter oben erwähnten ersten Silberfällung) den Hauptteil des Schwefelwasserstoff-Überschusses durch Durchleiten von Kohlendioxyd, den Rest durch kurzes Aufkochen. Die Lösung enthielt dann noch etwas kolloidales Silbersulfid, daß sich aber beim langsamen Eindunsten im Exsiccator (brauner Exsiccator im Dunkelraum) zuerst abschied. Der schließlich hinterbleibende orangegelbe Rückstand zeigte bei der mikroskopischen Untersuchung Krystalle, die aber noch mit etwas Öl durchtränkt waren. Ein Teil wurde in Methanol gelöst und diente zur Lumichrom-Probe¹⁸⁾, der Rest wurde in Wasser gelöst und diente zur Ausführung der Farbreaktion nach Kuhn und Wagner-Jauregg¹⁷⁾.

Katalytische Hydrierung des Lactaro-violins.

Der von Kuhn und Möller²⁵⁾ angegebene Apparat zur Ausführung der katalytischen Hydrierung im Mikro-maßstab stand mir leider nicht zur Verfügung. Es mußte deshalb versucht werden, die Mikro-hydrierung unter Benutzung eines normalen Warburg-Apparates auszuführen²⁶⁾. Es ließ sich mit der gewählten Anordnung nicht dieselbe Genauigkeit erzielen, wie mit der von Kuhn und Möller angegebenen Apparatur, größenordnungsmäßig läßt sich jedoch die aufgenommene Wasserstoffmenge damit recht gut bestimmen.

²³⁾ Zuerst von Koschura (B. **67**, 761 [1934]) zur Flavin-Adsorption verwendet, erhältlich bei der Fa. Hermann Bensmann, Bremen.

²⁴⁾ vergl. Kuhn, György, Wagner-Jauregg, B. **66**, 1037 [1933]; erhältlich bei den Pflirschinger Mineralwerken, Kitzingen a. M.

²⁵⁾ Angew. Chem. **47**, 145 [1934].

²⁶⁾ Ich möchte auch an dieser Stelle Hrn. Assistenten med. lic. H. Rydin meinen besten Dank für die Gefälligkeit aussprechen, mit der er mir die Benutzung einer Warburg-Apparatur des Pharmakologischen Instituts ermöglichte.

Es wurden Warburg-Gefäße mit seitlichem Ansatz benutzt. In den Hauptraum wurde die Lösung der zu hydrierenden Substanz in Eisessig einpipettiert, in den seitlichen Ansatz eine Suspension von Palladium-Mohr (Merck) in Eisessig. Vor dem Verschließen wurden die Gefäße von der Manometer-Capillare aus 1 Stde. mit Wasserstoff durchspült. Als Vergleichs-Substanz wurde Azobenzol benutzt²⁷⁾. Außerdem wurde ein nur mit Eisessig und Palladium-Mohr beschicktes Gefäß mitgeschüttelt. Die an diesem Gefäß abgelesene Wasserstoff-Aufnahme wurde von den Wasserstoff-Aufnahmen der anderen Gefäße in Abzug gebracht. Wenn die Manometer der im Thermostaten geschüttelten Apparate nur noch ganz geringe Druck-Schwankungen aufwiesen (0.05 bis 0.1 cmm Wasserstoff-Aufnahme innerhalb 10 Min. entsprechend), mischte man in üblicher Weise Reaktions-Lösung und Katalysator-Suspension. Der Versuch wurde abgebrochen, wenn dieselbe geringe Wasserstoff-Aufnahme wie vor der Mischung wieder erreicht war.

0.910 mg Azobenzol	79.76 cmm H (0°, 760 mm ²⁸⁾),
0.376 mg Lactaro-violin . .	28.46 cmm H (0°, 760 mm).

Azobenzol hat demnach 71.1%, Lactaro-violin 70.8% der für eine Doppelbindung berechneten Wasserstoffmenge aufgenommen. Beide Lösungen erscheinen nach der Hydrierung völlig farblos.

Bei einem in etwas größerem Maßstabe durchgeführten Versuch unter sonst gleichen Bedingungen, bei dem es infolge eines experimentellen Mißgeschicks leider nicht möglich war, die aufgenommene Wasserstoff-Menge abzulesen, wurde das Hydrierungsprodukt in farblosen, zu Büscheln vereinigten Nadeln krystallisiert erhalten. Die Menge war jedoch zu einer weiteren Untersuchung noch nicht ausreichend.

Chlorwasserstoff-Additionsprodukt von Lactaro-violin.

In eine Lösung von 8 mg Lactaro-violin in 8 ccm Petroläther leitet man einen langsamen Strom von trockenem Chlorwasserstoff. Die Lösung nimmt eine orangerote Farbe an, und ein orangerotes Pulver fällt aus, während der Petroläther völlig farblos hinterbleibt. Man saugt ab, wäscht mit wenig kaltem Petroläther und trocknet kurz im Schwefelsäure-Exsiccator (Paraffin-Stückchen einlegen!). Zersetzungspunkt der Substanz 83—84°.

3.003 mg Sbst.: 1.460 mg AgCl.

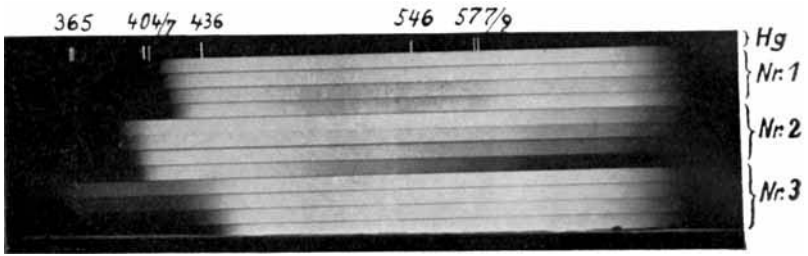
$C_{15}H_{18}OCl$. Ber. Cl 14.38. Gef. Cl 12.03.

Der zu geringe Chlor-Gehalt ist vermutlich auf Verluste an Chlorwasserstoff beim Waschen und Trocknen zurückzuführen, da der Wasch-Petroläther etwas violett gefärbt abließ.

Beim Schütteln der Substanz mit Wasser und Petroläther färbt sich der Petroläther mit der normalen Nuance des Lactaro-violins, während das Wasser nicht angefärbt wird. Schüttelt man mit verd. Salzsäure und Petroläther, so tritt, wie mit Lactaro-violin selbst, Gelbfärbung der wäßrigen und Violett-färbung der Petroläther-Phase auf.

²⁷⁾ Ein Makro-versuch ergab, daß Azobenzol sowohl in Alkohol, als auch in Eisessig recht genau 1 Mol Wasserstoff aufnahm. Das ist auch von anderer Seite festgestellt worden (vergl. z. B. F. Schlenk, Dissertat., Universität Berlin, 1934).

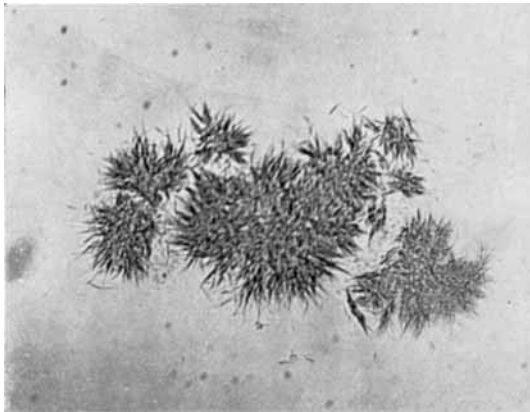
²⁸⁾ Die zur Umrechnung der Volumina auf Normal-Bedingungen benötigten Konstanten wurden der 5. Aufl. des Landolt-Börnstein-Roth-Handbuchs entnommen.



Abbild. 1.



Abbild. 2.



Abbild. 3.

Harry Willstaedt, B. 68, 333 [1935].