

Zur Chemie der höheren Pilze

(XVI. Mitteilung)

Über Pilzlipoide

Von

Rudolf Rosenthal

(Mit 4 Textfiguren)

(Vorgelegt in der Sitzung vom 23. März 1922)

Im Laufe einer Reihe von Untersuchungen über die Chemie der höheren Pilze hatte Zellner in den Pilzen zwei Gruppen von Lipoiden aufgefunden, von denen die eine zweifellos den Phytosterinen, die andere mit hoher Wahrscheinlichkeit den Cerebrinen zuzuzählen ist. Die folgende Untersuchung sollte nun auf der einen Seite zur Klärung der chemischen Natur der Pilzsterine und der zwischen ihnen bestehenden Beziehungen beitragen und auf der anderen Seite die bisher nirgends erfolgte chemische Untersuchung der Pflanzencerebrine einleiten.

I. Die Phytosterine.

Über die Sterine der Pilze liegt eine ausgedehnte Literatur vor, in der noch viele Unklarheiten herrschen. Mit Rücksicht auf den beschränkten, zur Verfügung stehenden Raum kann auf eine kritische Besprechung der Einzelheiten nicht eingegangen werden; es seien bloß die Spezies, aus denen Sterine isoliert wurden und die zugehörigen Literaturstellen angeführt:

Amanita muscaria L. (Zellner, Wiener Akad. Ber., Bd. CXIX, 1910), *Amanita rubescens* Fr. (Bougeault und Charaux, Journ. de Pharm. et de chim., 1912, I, 70; Mary Taylor Ellis, The Biochem. Journal 12, 173, 1918), *Lepiota procera* Scop. (Goris und Mascré, Compt. rend., 153, 1082, 1911), *Armillaria mellea* Vahl. (Zellner, Monatshefte, 34, Febr. 1913; Bougeault und Charaux l. c.), *Lactarius piperatus* L. (Zellner, Monatsh., 34, Febr. 1913; Goris und Mascré l. c.), *Lactarius scrobiculatus* Scop. (Zellner, Monatsh., 36, 611,

1915), *Lactarius theiogalus* Bull., *L. scripfitus* D. C. und *L. volemus* Fr. (Bougeault und Charaux l. c.), *Lactarius subdulcis* Bull. (Mary Taylor Ellis l. c.), *Tricholoma Georgii* Fr., *T. album* Fr., *T. pessundatum* Schaeff und *T. terreum* Schaeff (Goris und Mascré l. c.), *Tricholoma acerbum* und *T. sulfureum* Bull. (Bougeault und Charaux l. c.), *Russula Queletii* (Bougeault und Charaux l. c.), *Hygrophorus limacinus* Scop. (Goris und Mascré l. c.), *Hygrophorus chlorophana* (Bougeault und Charaux l. c.), *Hebeloma firmum* Pers., *Collybia maculata* A. S. und *C. phaepodia* (Goris und Mascré l. c.), *Pholiota squarrosa* Müll. (Zellner, Monatsh., 34, 321, 1913), *Paxillus involutus* Batsch. (Bougeault und Charaux l. c.), *Psalliota campestris* L. (Gobley, Journ. de pharm., [3] 29, 81; Hofmann, Über die chem. Bestandteile einiger Pilze, Diss., Zürich, 1901, 39; Goris und Mascré l. c.), *Psalliota xanthoderma* Genev. (Goris und Mascré l. c.), *Hypholoma fasciculare* Huds. (Zellner, Wiener Akad., Ber. CXX, Okt. 1911), *Cantharellus cibarius* Fr. (Hofmann l. c.), *Boletus edulis* Bull. (Hofmann, l. c., Winterstein, Reuter und Korolew, Chem. Zentralbl., 1913, I 1989), *Boletus luridus* Schaeff. (Böhm, Archiv d. experim. Pathol. und Pharmak., 19, 60), *Boletus aurantiacus* Sow. und *B. subtomentosus* L. (Bougeault und Charaux l. c.), *Polyporus officinalis* L. (Schmieder, Über Bestandteile des *P. off.*, Dissert., Erlangen, 1886, 35), *Polyporus igniarius* Fr. (Zellner, Wiener Akad., Ber. CXVII, Okt. 1908), *Polyporus betulinus* Fr. (Zellner, Monatsh., 34, 321, 1913; Mary Taylor Ellis l. c.), *Polyporus applanatus* Wallr. (Zellner, Monatsh., 36, 611, 1915), *Trameles suaveolens* Fr. (Wiener Akad., Ber. CXVI, Okt. 1907), *Fistulina hepatica* Huds. (Bougeault und Charaux l. c.), *Hydnum ferrugineum* Fr. und *H. imbricatum* L. (Zellner, Monatsh., 36, 612, 1913), *Hydnum repandum* L., *Craterellus cornucopioides* Fr. und *Clavaria flaccida* Fr. (Goris und Mascré l. c.), *Peziza aurantia* Fl. dan. (Bougeault und Charaux l. c.), *Polysaccum crassipes* D. C. (Zellner, Monatsh., 39, 603, 1918), *Lycoperdon Bovista* L. (Goris und Mascré l. c.; Bamberger und Landsiedl, Monatsh., 1905, 1109), *Scleroderma aurantium* (Bamberger und Landsiedl, Monatsh., 1906, 963), *Elaphomyces hirtus* (Issoglio, Gazz. chim. Ital., 47, 31, 1917, Zentralbl., 1918, II), *Bulgaria inquinans* Fr. (Bougeault und Charaux l. c.), *Claviceps purpurea* Tul. (Tanret, Ann. de chim. et de phys., [8] 15, 313; Compt. rend., 147, 75; Chem. Zentralbl., 1908, II 716 und 1933; Ottolenghi, Zentralbl., 1906, I 541), *Penicillium glaucum* (Tanret, Compt. rend., 114, 1544; Zentralbl., 1892, II 287), *Saccharomyces* (Hinsberg und Roos, Zentralblatt, 1903, I 1429) und *Aethalium septicum* (*Fuligo varians*) (Reinke, Untersuch. aus d. botan. Institut d. Univ. Göttingen, 1881, 54; Liebig's Annal., Bd. 207, 229, 1881).

Bei Durchsicht dieser zahlreichen Literaturangaben zeigt sich, daß die meisten der beschriebenen Stoffe zu unvollständig charakterisiert sind, um eine Vergleichung zu gestatten; Elementaranalysen liegen nur in relativ wenigen Fällen vor, häufiger sind Angaben bezüglich des optischen Drehungsvermögens und namentlich des Schmelzpunktes. Die Abweichungen sind vielfach keine sehr bedeutenden, aber doch viel zu groß, um einen Schluß auf Identität zu rechtfertigen. Nun ist es aus pflanzenchemischen Gründen ganz unwahrscheinlich, daß in einer großen Reihe systematisch nahestehender Pflanzenformen sehr viele verschiedene chemisch nahverwandte Stoffe sich vorfinden sollten, vielmehr liegt die Annahme näher, daß es sich um wechselnde Gemische einiger weniger chemischer Individuen handelt. Die vielfachen Abweichungen in den Zahlenangaben sind, wie Zellner¹ schon vor vielen Jahren betont hat, teilweise darauf zurückzuführen, daß das Auftreten der

¹) Monatshefte, CXIX, Dezember 1910.

augenscheinlich weit verbreiteten Cerebrine übersehen wurde, und die Abtrennung dieser letzten Stoffe schwierig ist. Seit Tanret das im Mutterkorn vorkommende Sterin, das er selbst anfänglich für ein chemisches Individuum angesehen hatte, in zwei Stoffe gespalten hat, die wohl als gut definierte, wirklich einheitliche Substanzen betrachtet werden dürfen, ist es nun sehr wahrscheinlich geworden, daß es sich auch bei den anderen Pilzen um Gemische von Sterinen handelt, deren Trennung voneinander noch schwieriger ist als die Abscheidung der Cerebrine, zumal den meisten Autoren nur geringe Substanzmengen zur Verfügung standen, da der Prozentsatz der in Rede stehenden Stoffe im nativen Material ein nur sehr geringer ist. Nachdem Tanret für sein Ergosterin den Schmelzpunkt 165° und für sein Fungisterin den Schmelzpunkt 144° angegeben hat, ist es gewiß auffallend, daß bei der überwiegenden Zahl der in der oben zitierten Literatur beschriebenen Stoffe die Schmelzpunkte, beziehungsweise die Schmelzlinien zwischen 140° und 165° liegen. Nur die aus *Scleroderma aurantium* und *Elaphomyces hirtus* isolierten Stoffe scheinen wesentlich anderer Art zu sein.

Um eine Klärung dieser Fragen auf experimentellem Wege wenigstens anzubahnen, habe ich einerseits aus dem Mutterkorn, andererseits aus dem pflanzensystematisch weit entfernten Fliegenpilz die Phytosterine dargestellt und verglichen, worüber im Folgenden berichtet wird.

Aus lufttrockenen Fliegenpilzen wurde zunächst nach dem von Zellner¹ angegebenen Verfahren ein rohes Gemenge von Phytosterin und Cerebrin dargestellt. Wegen der Ähnlichkeit der Lösungsverhältnisse ist die Trennung schwierig. Annähernd geschah sie dadurch, daß das trockene Gemenge im Soxhlet'schen Apparat so lange mit Äther extrahiert wurde, bis der Rückstand schließlich nur mehr eine schwache Liebermann'sche Reaktion gab. Der Rückstand (A) erwies sich unter dem Mikroskop als ziemlich reines Cerebrin, der Extrakt (B) hingegen enthielt neben Phytosterin einen bedeutenden Anteil Cerebrin. Die weitere Trennung wurde durch kalten Äther bewerkstelligt, worin sich die Phytosterine leichter lösen als das Cerebrin.

Die erhaltenen Rohphytosterine waren stark gelb gefärbt. Durch wiederholtes Kochen mit feiner Tierkohle und darauf erfolgendes rasches Durchsaugen der heißen alkoholischen Lösung durch ein dichtes Filter gelang es schließlich, die zäh haftenden gelben Stoffe größtenteils zu entfernen. Beim Abkühlen schieden sich die Phytosterine in mangelhaft ausgebildeten Krystallen, jedoch nach mehrfachem Umlösen aus Alkohol-Äthergemisch in farblosen, mehrere Millimeter langen Nadeln ab. Das Umlösen wurde so oft

¹ Monatsh., März 1905.

wiederholt, bis sich unter dem Mikroskop neben den Phytosterinkrystallen keine unkrystallisierten Körper mehr zeigten. Die so erhaltenen Krystalle wiesen jedoch eine lang ausgedehnte bei etwa 120° beginnende und erst bei 160° endigende Schmelzlinie auf. Es lag also anscheinend auch hier ein Gemenge nahe verwandter Phytosterine vor.

Tanret, der als erster eine präzise Trennung von Pilzsterinen vorgenommen hatte, war bei der Untersuchung des Mutterkorns¹ so vorgegangen, daß er zahlreiche fraktionierte Krystallisationen aus Äther ausführte und das optische Drehungsvermögen jeder Fraktion bestimmte. Dadurch gelangte er in der Folge der schwerer löslichen Anteile zu Stoffen mit steigendem, in der Folge der leichter löslichen zu solchen mit fallendem Drehungsvermögen, bis er schließlich zwei mit konstantem Drehungsvermögen, das Ergosterin und das Fungisterin, erhielt. Dieses Verfahren konnte nicht angewendet werden, da die Substanzmenge dazu nicht reichte; denn infolge des langwierigen Reinigungsverfahrens und des unvermeidlichen häufigen Erhitzens, wogegen die Phytosterine eben so wenig wie gegen Licht beständig sind, betrug das Phytosterin-gemenge nur einige Gramme. Es wurde daher bloß darauf abgezielt, durch abwechselndes Krystallisieren und Lösen mit Alkohol (Alkohol wurde an Stelle des Äthers verwendet, da es sich mit ihm reinlicher und mit geringeren Substanzverlusten arbeiten läßt) wenigstens einen Stoff mit konstantem Schmelzpunkt zu erhalten.

Als solcher stellte sich endlich einer heraus, der im geschlossenen, mit CO_2 gefüllten Schmelzröhrchen bei 159° zu sintern begann und bei 164 – 165° schmolz. Die unter gewöhnlichen Verhältnissen bestimmten Schmelzpunkte sind unscharf, auch verfärbten sich dann die Substanzen vor dem Schmelzen. Tanret gibt als Schmelzpunkt für das Ergosterin 165° an (im rohen Zustand 154°). Auf die Gewinnung des leichter löslichen, niedriger schmelzenden und weniger drehenden Bestandteils des Gemenges mußte verzichtet werden. Der vorhin erwähnte Stoff bestand aus glänzenden Nadeln, die sich unter dem Mikroskop als langgezogene Parallelogramme oder Sechsecke mit den Winkeln 105 – 107° und 127 – 128° erwiesen (Tanret's Ergosterin 106° und 127°). Zwischen gekreuzten Nicol'schen Prismen zeigten sie gerade Auslöschung.

Diese Krystalle wurden mit den von Zellner in früheren Jahren aus *Polyporus applanatus*, *Pholiota squarrosa* und *Hydnum imbricatum* dargestellten Phytosterinen verglichen. Sie erwiesen sich in Form und im optischen Verhalten als identisch mit ihnen.

Die Analyse der bei Zimmertemperatur im Vakuum getrockneten Substanz ergab folgende Werte:

¹ Literatur siehe oben.

3·416 mg Substanz gaben 10·17 mg CO₂, daher 81·220/0 C.
 3·416 mg > > 3·27 mg H₂O, > 10·710/0 H.

Zellner¹ hatte 1910 gefunden: C = 80·370/0 und H = 10·820/0; doch war sein Präparat wahrscheinlich noch nicht ganz rein, wodurch sich das Defizit an C erklärt. Tanret (l. c.) hatte beim Mutterkorn-Ergosterin die Werte erhalten:

I. C = 80·910/0 H = 11·590/0.
 II. C = 81·010/0 H = 11·300/0.

Dementsprechend gibt er dem Ergosterin die Formel:

C₂₇H₄₂O.H₂O mit den (theoretischen) Werten:

C = 81·00 und H = 11·000/0.

Hiermit stimmen die Zahlen meines Präparates überein.

Derivate:

Benzoylprodukt.

Die für das tierische Cholesterin gebräuchliche Methode des Schmelzens unter Zusatz von Benzoësäureanhydrid wurde nicht versucht, da mit Rücksicht auf die Zersetzlichkeit des Phytosterins bei hoher Temperatur eindeutige Resultate nicht zu erwarten waren. Schwaches Erhitzen mit Benzoylchlorid führte zu keinem kristallisierten Produkt.

Acetylprodukt.

2 g Phytosterin wurden mit der fünffachen Menge Essigsäureanhydrids durch 1 Stunde unter schwachem Sieden erhalten. Das sich beim Erkalten in großen, glänzenden, zunächst gelblichen Blättchen ausscheidende Acetylprodukt wurde gründlich mit Wasser gewaschen, hierauf aus Äther, worin es sehr leicht löslich ist, dann aus Alkohol mehrmals umkristallisiert. Auch aus Alkohol-Benzolgemisch läßt es sich in gut ausgebildeten Krystallen erhalten. Unter dem Mikroskop erscheinen sie als langgezogene Parallelogramme, zwischen gekreuzten Nicol'schen Prismen geben sie gerade Auslöschung. Die reine Substanz ist farblos, beginnt bei 176° zu sintern und schmilzt bei 180 bis 181° (im geschlossenen mit CO₂ gefüllten Schmelzröhrchen). Die Analyse ergab folgende Werte:

4·575 mg Substanz gaben 13·68 mg CO₂, daher 81·580/0 C.
 4·575 mg > > 4·20 mg H₂O, > 10·270/0 H.

Zellner (l. c.) hatte gefunden: 81·690/0 C und 10·430/0 H. Es besteht also volle Übereinstimmung.

¹ Wiener Akad., Ber. CXIX. 1211 (1910).

Drehungsvermögen der in Chloroform gelösten Substanz.

Bei 4 Messungen (Temperatur = 20° C) wurden folgende Werte erhalten:

Substanz in g	CHCl ₃ in g	Drehung im 2 dm-Rohr in Ventzkegraden	Spezifisches Drehungsvermögen (berechnet)
1. 0·2668	26·87	— 6·3	— 73·9
2. 0·3603	26·78	— 9·1	— 78·8
3. 0·3567	27·08	— 8·5	— 75·2
4. 0·3470	27·21	— 8·2	— 74·9

Im Mittel also 75·7° nach rechts.

Die gefundenen Werte weichen nicht unerheblich von denen Zellner's und Tanret's ab: Zellner fand — 89·2 und Tanret für das Acetylprodukt des Ergosterins zuerst — 80, später — 91·8. Die Ursache für die Abweichung könnte darin liegen, daß kleine Mengen vom Acetylprodukt des Fungisterins mit seinem niedrigen Drehungsvermögen von — 15° beigemischt waren.

Durch Verseifen des Acetylproduktes ließen sich Krystalle herstellen, die in ihrer äußeren Gestaltung und Schmelztemperatur dem ursprünglichen Phytosterin glichen.

Acetylprodukt des Mutterkorn-Ergosterins.

Ein in früheren Jahren von Zellner aus dem Mutterkorn dargestelltes Ergosterinpräparat, das infolge der langen Aufbewahrung bereits gelb gefärbt war, wurde unter den gleichen Bedingungen acetyliert. Das erhaltene rohe Acetylprodukt wurde fünfmal aus verschiedenen Lösungsmitteln umkrystallisiert und zeigte dann, sowohl mit freiem Auge als auch unter dem Mikroskop betrachtet, das gleiche Aussehen wie das vorhin erwähnte, aus dem Fliegenpilz dargestellte. Es schmolz bei 177°. Die Angaben Tanret's für den gleichen Stoff sind 180·5° (beziehungsweise 176° in der früheren Arbeit). Die Übereinstimmung des von mir dargestellten Acetylproduktes des Mutterkornsterins mit dem Tanret'schen und dieser beiden mit dem entsprechenden Produkt des Fliegenpilzes ist also in Anbetracht der Empfindlichkeit der Substanzen eine genügende.

Der Mischschmelzpunkt der beiden Substanzen (im geschlossenen, mit CO₂ gefüllten Röhrchen) lag bei 175°.

Analyse:

- | | | | | | | | |
|-------------|----------|-------|-----------|-------------------|-------|----------|----|
| 1. 4·050 mg | Substanz | gaben | 12·160 mg | CO ₂ , | daher | 81·910/0 | C. |
| 4·050 mg | > | > | 4·000 mg | H ₂ O | > | 11·050/0 | H. |
| 2. 4·135 mg | > | > | 12·370 mg | CO ₂ | > | 81·610/0 | C. |
| 4·135 mg | > | > | 4·045 mg | H ₂ O | > | 10·950/0 | H. |

Gefunden im Mittel: C = 81·760/0 und H = 11·000/0.

Es ergeben sich mithin folgende Werte:

	Acetylgerosterin aus Mutterkorn (Rosenthal)	Acetylgerosterin aus Mutterkorn (Tanret)	Acetylprodukt aus dem Fliegenpilz (Rosenthal)	Acetylprodukt aus dem Fliegenpilz (Zellner)	Berechnet für $C_{27}H_{41}O$, C_2H_3O
% C	81·76	81·59	81·58	81·69	82·08
% H	11·00	10·47	10·27	10·43	10·38

Sämtliche experimentell ermittelten Werte stimmen gut überein mit einziger Ausnahme des H in der ersten Kolonne, der nicht unerheblich zu hoch gefunden wurde. Im ganzen würden die Zahlen für eine Formel $C_{27}H_{43}O \cdot C_2H_3O$ besser passen als für die von Tanret angenommene, obwohl gegen die wasserstoffreichere Formel andere Gründe sprechen.

Hält man alle bisherigen Beobachtungen zusammen, so ergibt sich mit großer Wahrscheinlichkeit, daß die Acetylprodukte und somit auch die ursprünglichen Phytosterine aus Mutterkorn und Fliegenpilz identisch sind.

Halogenaddition.

Zu einer gesättigten ätherischen Lösung des Acetylproduktes (aus Amanita) wurde die für das Tetrabromid berechnete Menge Brom, in Chloroform gelöst¹, tropfenweise zugefügt. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels blieb eine amorphe Masse zurück, die nicht zur Krystallisation gebracht werden konnte.

Ein befriedigenderes Resultat ergab hingegen die Bestimmung der Jodzahl nach Hübl bei dem Amanitasterin selbst.

0·2395 g Phytosterin verbrauchten eine Jodmenge, die 26·6 cm³ Na₂S₂O₃-Lösung vom Titer 0·0124 g J. pro cm³ entsprach. Es wurden also 0·329 g Jod gebunden, entsprechend einer Jodzahl von 137.

Daraus folgt unter der Annahme des Molekulargewichtes 400 für das Phytosterin (entsprechend der Formel $C_{27}H_{42}O \cdot H_2O$), daß von 1 Mol Phytosterin 4·3 g Atome Jod addiert wurden. Wird berücksichtigt, daß neben jeder derartigen Addition im geringen Grade eine Substitution parallel verläuft und daß das Hübl'sche Verfahren nur annähernde Resultate gibt, so kann mit ziemlicher Sicherheit aus den vorliegenden Zahlen geschlossen werden, daß die Molekel des Phytosterins 4 Atome Jod zu addieren imstande ist, also zwei Doppelbindungen besitzt. Dieses Resultat macht es verständlich, daß die Pilzsterine weit weniger

¹ Bezüglich der Bromierung von Sterinacetaten finden sich Angaben bei Burian (Monatsh., 1897, p. 551) und bei Windaus und Hauth (Berl. Ber., 1906, p. 4378).

beständig gegen Licht und Wärme sind als das tierische Cholesterin, dessen Molekel nur eine Doppelbindung zeigt.

Durch die beschriebene Untersuchung der Pilzsterine konnten also einerseits die Angaben Tanret's über das Ergosterin des Mutterkornes, beziehungsweise dessen Acetylproduktes bestätigt und andererseits die Übereinstimmung dieser Stoffe mit den entsprechenden Substanzen des Fliegenpilzes dargetan werden. Dadurch wird es äußerst wahrscheinlich, daß man in der Mehrzahl der eingangs erwähnten, größtenteils nicht einheitlichen, phytosterinartigen Körper das Tanret'sche Ergosterin als mehr oder weniger überwiegenden Bestandteil finden wird. Bezüglich der niedriger schmelzenden, leichter löslichen und schwächer drehenden Komponenten können nur Untersuchungen Aufschluß geben, die mit entsprechenden Materialmengen durchgeführt und daher auf bessere Zeiten verschoben werden müssen.

II. Die Cerebrine.

Im Pflanzenreich konnten Cerebrine bisher nur in jener Klasse aufgefunden werden, die sowohl im natürlichen System als auch in ihrem Chemismus den Tieren nahesteht, nämlich in der der Pilze. Es geschah dies zuerst durch Bamberger und Landsiedl¹, die aus *Lycoperdon Bovista* einen Stoff erhielten, den sie als Cerebrosid ansprachen. Zellner wies in *Amanita muscaria*² und in *Hypholoma fasciculare*³ solche Stoffe nach. M. X. Sullivan⁴ stellte aus faulem Eichenholz saure Spaltprodukte der Cerebrine (Lignocerin- und Cerebronsäure) dar, nachdem schon von anderen amerikanischen Forschern⁵ in manchen Bodenarten solche Säuren (neben Sterinen) gefunden worden waren. In den letztgenannten Fällen stammen diese Körper wohl auch von Pilzmycelien oder Bakterien her.

Chemische Untersuchungen der Pflanzencerebrine liegen bisher nicht vor; auf die Zugehörigkeit dieser Stoffe zu den Cerebrinen wurde geschlossen aus der Ähnlichkeit der äußeren Gestalt, der physikalischen Eigenschaften und der elementaren Zusammensetzung. In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, dem chemischen Studium der Pilzcerebrine näherzutreten, so weit es die geringe Menge des schwer zugänglichen Materials zuließ. Dabei wurden jene Methoden benützt, die mit Erfolg bei den tierischen Cere-

¹ Monatsb., 1905, p. 1109.

² Wiener Akad., Ber. CXIX, Dezember 1910.

³ Ebenda. CXX, Oktober 1911.

⁴ Journ. of Indust. and Engin. Chem. VIII, 1027; Chem. Zentralbl., 1918, I 632.

⁵ Schreiner und Shorey, Journ. of Biol. Chem. IX 9 (1911); Zentralbl., 1911, II 1609.

brosiden¹ angewendet worden waren. Ich vermeide für die von mir untersuchten Stoffe die Ausdrücke Cerebroside und Cerebrogalaktoside, weil, wie später beschrieben werden wird, eine Zuckerkomponente nicht nachgewiesen werden konnte.

Zur Darstellung des Cerebrins aus *Amanita* wurde der Rückstand A verwendet, der sich bei dem im ersten Teil dieser Arbeit beschriebenen Trennungsv erfahren ergeben hatte. Die Menge der anhaftenden Verunreinigungen war zwar nicht groß, ihre völlige Beseitigung stieß aber auf große Schwierigkeiten; denn die Löslichkeitsverhältnisse der Cerebrine und der Phytosterine in den gebräuchlichen Lösungsmitteln sind sehr ähnliche und überdies tritt hier wahrscheinlich noch als erschwerend die Neigung dieser Stoffe hinzu, mit anderen flüssig - krystallinische Gemische zu bilden. Schließlich gelang es, auf folgendem Wege reines Cerebrin zu erhalten. Die gelblich gefärbte Substanz wurde mit Tierkohle gekocht und dann heiß durch ein dichtes Filter gesaugt. Nach mehrmaliger Wiederholung war die Lösung nahezu farblos. Die sich beim Erkalten ausscheidende Masse wurde mit kaltem Äther extrahiert, wodurch der größte Teil des beigemengten Phytosterins entfernt wurde. Der nun gebliebene Rückstand wurde zahlreichen Umlösungen, zunächst aus Alkohol-Benzolgemisch, dann aus reinem Äthylalkohol unterworfen. Die entstandenen Ausscheidungen wurden jedesmal mikroskopisch untersucht. Mit zunehmender Reinheit zeigte sich, daß die anfangs vielfach auftretenden Phytosterinkristalle verschwanden und andererseits die amorphen Anteile sich zu stärkeähnlichen Körperchen zusammenschlossen. Die Substanz wurde als rein angesehen, als das Gesichtsfeld gleichmäßig mit

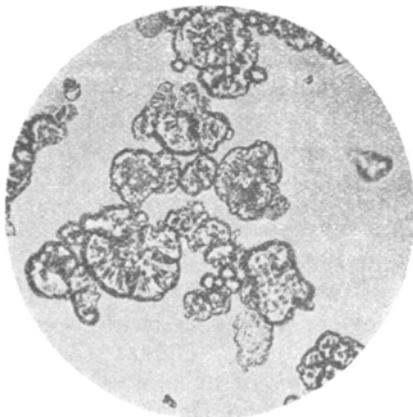


Fig. 1.
Vergrößerung 240.

¹ Literatur: Eine Übersicht bis zum Jahre 1913 findet sich in Abderhalden's biochem. Handlexikon, Bd. 3 und 8. W. Müller, Liebig's Annalen, 105, p. 361 (1858); Thudichum, Reports of the Medical Officers etc., New Series Nr. III, London, 1874; derselbe, Chem. Konstitution des Gehirns des Menschen und der Tiere, Tübingen, 1901; H. Thierfelder und seine Mitarbeiter: Zeitschr. für physiolog. Chemie, 14, 209 (1890); 30, 542 (1900); 43, 21 (1904); 44, 366 (1905); 46, 521 (1905); 49, 286 (1906); 77, 202, 508, 511 (1912); 85, 35 (1913); 89, 248 (1914); O. Rosenheim, Biochemical Journal, 4, 331 (1909); 7, 604 (1913); 8, 110, 121 (1914); Rosenheim und Maclean, ebenda 9, 103 (1915); 10, 142 (1916); P. A. Levene und seine Mitarbeiter: Journ. of Biol. Chem. 11, 547 (1912); 12, 381 (1912); 14, 257 (1913); 15, 153, 359 (1913); 16, 549 (1914); 18, 477 (1914); 26, 115 (1916); 31, 627 (1917); Meyer, Brod und Soyka, Monatsh. für Chemie 34, 1113 (1913).

solchen Körperchen erfüllt war, die auch häufig charakteristische, vom Mittelpunkt ausgehende Sprünge aufwiesen. (Siehe Fig. 1.)¹ Zwischen gekreuzten Nicol'schen Prismen zeigten sie sich hell auf dunklem Grunde. Im einzelnen Gebilde konnte bei der geringen Vergrößerung des zur Verfügung stehenden Polarisationsmikroskopes ein schwarzes Kreuz nicht mit Sicherheit erkannt werden. Wohl gelang dies aber bei dem in früheren Jahren von Zellner aus *Hyppholoma fasciculare* dargestellten Cerebrin. Hier zeigten sich die einzelnen Scheibchen größer. In ihnen konnte ein zentrisches schwarzes Kreuz festgestellt werden.

Das aus *Amanita* dargestellte Cerebrin schmilzt ziemlich scharf bei 135 bis 136·5° C, ohne sich zu zersetzen. Es ist in Methyl- und Äthylalkohol, Alkohol-Benzolgemisch, Äther, Essigester und Chloroform in der Wärme löslich. Beim Erkalten scheidet es sich meistens aus der Lösung in Form von amorphen Gallerten aus. Die vorhin durch ihr mikroskopisches Verhalten gekennzeichnete Form erscheint makroskopisch als rein weißes, weiches, körniges Pulver und wird am besten durch langsames, vorsichtiges Abkühlen der äthylalkoholischen Lösung erhalten. Die Substanz reagiert neutral und ist gegen chemische Eingriffe recht resistent. Wie spätere Versuche dartun werden, ist sie dies nicht nur gegen verdünnte Säuren, sondern sogar auch gegen heiße konzentrierte Schwefelsäure. In heißem Wasser quillt sie auf und bildet nach längerem Kochen hühnerweißähnliche Flocken. Von Eiweißreaktionen fiel die Millon'sche negativ, die Raspail'sche (Rohrzuckerlösung + conc. H₂SO₄) hingegen positiv aus. Die Orcinreaktion² verlief negativ, was auf einen Mangel an einer Zuckerkomponente hinwies.

Analyse:

C- und H-Bestimmung:

- | | | | | | | | | |
|----|----------|----------|-------|-----------|-------------------|-------------------|--------|--------|
| 1. | 4·870 mg | Substanz | gaben | 13·100 mg | CO ₂ , | daher | 73·38% | C. |
| | 4·870 | » | » | 5·540 | » | H ₂ O, | » | 12·73% |
| 2. | 4·665 | » | » | 12·570 | » | CO ₂ , | » | 73·51% |
| | 4·665 | » | » | 5·405 | » | H ₂ O, | » | 12·97% |

N-Bestimmung: (Temperatur = 26° C, Druck = 730 mm Hg.)

- | | | | | | | | | |
|----|----------|----------|-------|-----------------------|----|-------|-------|-------|
| 1. | 4·715 mg | Substanz | gaben | 0·113 cm ³ | N, | daher | 2·63% | N. |
| 2. | 4·450 | » | » | 0·098 | » | » | » | 2·42% |

Daraus folgt die durchschnittliche Zusammensetzung des Cerebrins mit 73·44% C, 12·85% H, 2·52% N.

Die Werte für den Kohlenstoff liegen nicht unerheblich höher als die sämtlicher vorhergehender Literaturangaben (68 bis 70%), der Wasserstoffgehalt etwa um 1% höher als die bisher bekanntgewordenen Werte. Dies ist vielleicht durch folgende Erwägungen zu erklären. Es ist mir, wie auch spätere Versuche zeigen werden,

¹ Vgl. auch die Fig. bei Zellner, Monatsh. 1910.

² S. Fränkel und K. Linnert, Biochem. Zeitschrift 26 (1910), p. 41.

auf keine Weise möglich gewesen, eine Zuckerkomponente nachzuweisen, und zwar weder in der ursprünglichen Substanz, noch in den Hydrolysenprodukten. Daraus kann geschlossen werden, daß sich das vorliegende Cerebrin, unbeschadet seiner sonstigen Ähnlichkeiten, dadurch von den bisher bekannt gewordenen Stoffen unterscheidet, daß es frei von Zuckerkomponenten ist. Ob diese Eigenschaft dem nativen Stoff zukommt oder ob sie erst durch die Darstellungsweise (Verseifung) hervorgerufen wurde, entzieht sich vorläufig der Beurteilung. Jedenfalls würde das Fehlen des Galaktoserestes eine Verminderung des Sauerstoffgehaltes und dadurch eine Erhöhung der Prozentsätze für die anderen Elemente erklären. Darauf dürften auch die auffallenden Differenzen zwischen den früheren Zellner'schen Beobachtungen und den meinen zurückzuführen sein. Dadurch würde auch die Tatsache erklärlich, daß Bamberger und Landsiedl (l. c.), die das Cerebrin aus *Lycoperdon*

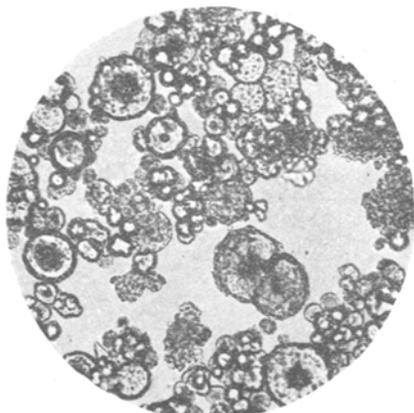


Fig. 2.
Vergrößerung 165.

bovista unmittelbar aus dem alkoholischen Auszug ohne Anwendung verseifender Mittel gewonnen haben, für diesen Stoff einen weit höheren Schmelzpunkt (etwa 180°) und niedrigere Werte für C, H und N sowie das Vorhandensein einer Zuckerkomponente angeben.

Zum Vergleich mit dem Amanitacerebrin wurde auch das erwähnte, aus *Hypholoma fasciculare* durch Zellner auf gleiche Weise isolierte Cerebrin, das unter dem Mikroskop in besonders gut ausgebildeten Sphäriten erschien (Fig. 2) und bei 139° schmolz, analysiert.

C- und H-Bestimmung:

1.	4·345 mg	Substanz	gaben	11·710 mg	CO ₂ ,	daher	73·690/0	C.
	4·345	»	»	4·815	»	H ₂ O,	»	12·430/0
	4·345	»	»	0·010	»	Asche.		
2.	4·275	»	»	11·440	»	CO ₂ ,	daher	73·520/0
	4·275	»	»	4·710	»	H ₂ O,	»	12·420/0
	4·275	»	»	0·030	»	Asche.		
3.	4·390	»	»	11·680	»	CO ₂ ,	daher	73·000/0
	4·390	»	»	4·880	»	H ₂ O,	»	12·510/0
	4·390	»	»	0·025	»	Asche.		

N-Bestimmung:

- 3·690 mg Substanz gaben 0·140 cm³ N bei 719 mm Hg und 14° C, daher N = 3·980/0.
- 3·570 mg Substanz gaben 0·134 cm³ N bei 719 mm Hg und 16° C, daher N = 4·190/0.

Im C- und H-Gehalt zeigen die beiden Stoffe aus *Amanita* und *Hypholoma* volle Übereinstimmung, dagegen ist der Unterschied im N-Gehalt sehr groß. Die Ursache davon aufzudecken, hinderte der Mangel an Material. Trotzdem dürften die beiden Stoffe identisch sein. Wenigstens deutet der Mischschmelzpunkt (135°) darauf hin.

Es wurde nun daran gegangen, Anhaltspunkte für den Aufbau dieses pflanzlichen Cerebrins zu gewinnen, soweit es die durch die zahlreichen Fraktionierungen recht klein gewordene Menge an Substanz zuließ.

Acetylprodukt.

Dieser Stoff konnte auf einem Wege gewonnen werden, der jenem entsprach, den Thierfelder bei der Herstellung des

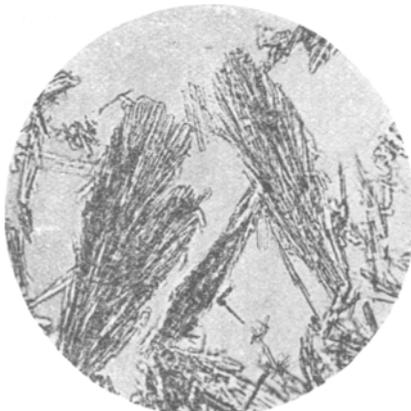


Fig. 3.
Vergrößerung 140.

Acetylcerebrons eingeschlagen hatte.¹ 1 g Cerebrin wurde mit der gleichen Menge entwässerten Natriumacetats und der zehnfachen Essigsäureanhydrids eine halbe Stunde unter gelindem Sieden erhalten, das Reaktionsprodukt nach dem Erkalten in einem Scheidetrichter mit Äther versetzt und wässriges KOH bis zur alkalischen Reaktion zugefügt. Die ätherische Lösung wurde mehrmals mit Wasser durchgeschüttelt und hierauf filtriert, der Äther dann verdampft. Die zurückgebliebene glasige Masse wurde durch Umlösen aus Alkohol gereinigt. Die Substanz ist in Wasser unlöslich, in Alkohol, Äther und den üblichen organischen Lösungsmitteln auch in der Kälte ziemlich gut löslich. Aus der alkoholischen Lösung schieden sich bei allmählicher Verdunstung des Lösungsmittels radiär gestreifte, am Rand der Schale aufsitzende Knollen ab. Unter dem Mikroskop zeigten sie fächerförmig angeordnete Nadeln. Durch entsprechende Verdünnung des Alkohols mit Wasser gelang es, die Substanz in farblosen, bis zu 1 cm langen Krystallnadeln zu erhalten, die sich auf dem Boden der Schale zu schönen, halbkugelförmigen Rosetten vereinigt hatten. (Fig. 3.) Schmelzpunkt 62 bis 63°.

Es ist somit ein Derivat gefunden worden, das schön krystallisiert erhalten werden kann, einen scharfen

¹ Ztschr. f. physiol. Chem. 89 (1914), p. 248; (1914), I, p. 998.

Schmelzpunkt zeigt und bei einer künftigen Untersuchung dieser pflanzlichen Cerebrine als geeignetes Ausgangsmaterial für die weitere Ermittlung der chemischen Konstitution dienen kann.

Analyse:

C- und H-Bestimmung.

- | | | | | | | | | |
|----|----------|----------|-------|-----------|-------------------|-------------------|--------|--------|
| 1. | 4·935 mg | Substanz | gaben | 12·735 mg | CO ₂ , | daher | 70·40% | C. |
| | 4·935 | » | » | 4·960 | » | H ₂ O, | » | 11·25% |
| 2. | 4·400 | » | » | 11·395 | » | CO ₂ , | » | 70·65% |
| | 4·400 | » | » | 4·430 | » | H ₂ O, | » | 11·27% |

N-Bestimmung (Temp. = 26° C, Druck = 736 mm Hg).

- | | | | | | | | | |
|----|----------|----------|-------|-----------------------|----|-------|-------|----|
| 1. | 4·570 mg | Substanz | gaben | 0·104 cm ³ | N, | daher | 2·50% | N. |
| 2. | 4·320 | » | » | 0·096 | » | » | 2·44% | » |

Daraus folgt die durchschnittliche Zusammensetzung des Acetylcerebrins mit 70·52% C, 11·26% H, 2·47% N.

Ein Vergleich dieser Prozentzahlen mit denen des ursprünglichen Cerebrins auf der einen und denen der analogen tierischen Stoffe auf der anderen Seite ergibt, daß bei den pflanzlichen Cerebrinen eine geringere Anzahl von Acetylgruppen eingetreten ist. Dies ließe sich daraus ableiten, daß die Zuckerkomponente mit den vier acetylierbaren Gruppen fehlt. Damit steht auch die Tatsache in Übereinstimmung, daß die durch den Eintritt der Acetylgruppen bewirkte Depression des Schmelzpunktes hier wesentlich geringer ist als bei den analogen tierischen Produkten.¹

Hierauf wurde versucht, durch Verseifung des Acetylproduktes das ursprüngliche Cerebrin wieder zu erhalten. Zu diesem Zwecke wurde das Acetylprodukt eine viertel Stunde mit alkoholischem Kaliumhydroxyd erhitzt und dann das erhaltene Reaktionsprodukt mehrmals aus Alkohol umgelöst. Die so erhaltene Substanz stellte ein rein weißes, weiches, körniges Pulver dar, das in seinem mikroskopischen Aussehen dem ursprünglichen Cerebrin stark ähnelte. Schmelzpunkt: 118 bis 121°.

Analyse:

C- und H-Bestimmung.

- | | | | | | | | | |
|----|----------|----------|-------|-----------|-------------------|-------------------|--------|--------|
| 1. | 4·055 mg | Substanz | gaben | 10·815 mg | CO ₂ , | daher | 72·76% | C. |
| | 4·055 | » | » | 4·595 | » | H ₂ O, | » | 12·68% |
| 2. | 4·720 | » | » | 12·545 | » | CO ₂ , | » | 72·51% |
| | 4·720 | » | » | 5·280 | » | H ₂ O, | » | 12·52% |

N-Bestimmung.

- | | | | | | | | | | | |
|----|----------|----------|-------|-----------------------|----|-------|-------|----|----------------|--------------------|
| 1. | 4·285 mg | Substanz | gaben | 0·075 cm ³ | N, | daher | 1·92% | N, | Temp. = 26° C, | Druck = 731 mm Hg. |
| 2. | 4·215 mg | Substanz | gaben | 0·082 cm ³ | N, | daher | 2·16% | N, | Temp. = 24° C, | Druck = 734 mm Hg. |

¹ Thierfelder, Ztschr. f. physiol. Ch. 89 (1914), p. 248; Levene and West, Journ. of Biol. Chem., 31 (1917), p. 635.

Daraus folgt die durchschnittliche Zusammensetzung des durch Verseifung des Acetylcerebrins gewonnenen Stoffes mit 72·63% C, 12·60% H, 2·04% N.

Die Abweichung vom ursprünglichen Cerebrin in der prozentischen Zusammensetzung beträgt beim C 0·8%, beim H bloß 0·2% und beim N 0·5%; der Schmelzpunkt liegt um etwa 16° tiefer. Trotz dieser Abweichungen dürfte es sich um den ursprünglichen Stoff oder einen ihm sehr nahestehenden handeln. Infolge der geringen Substanzmenge war eine Reinigung bis zum konstanten Schmelzpunkt nicht durchführbar und die Anwesenheit selbst kleiner Mengen unverseiften Acetylproduktes wäre ein hinreichender Grund für die Verminderung der oben verzeichneten Größen.

Abbau.

Um jene Komplikationen zu vermeiden, die beim Abbau der tierischen Cerebrine infolge von Alkohololyse eintreten, wurde die Spaltung nicht mit alkoholischer, sondern mit wässriger Säure unter Anwendung von Druck versucht. Es zeigte sich jedoch, daß 3- bis 5prozentige Schwefelsäure im Autoklaven bei Drücken von $\frac{1}{2}$ bis 4 Atmosphären und einer Einwirkungsdauer von 4 bis 7 Stunden den Stoff völlig unzersetzt läßt. Schließlich wurde mit konzentrierter H_2SO_4 erhitzt, aber auch danach konnte weder mit Fehling'scher Lösung noch mit α -Naphthol ein reduzierender Zucker als Spaltprodukt nachgewiesen werden. Nach den beendeten Hydrolysenversuchen war das ursprünglich körnige Cerebrin stark gequollen und bildete eiweißähnliche Flocken; doch hatte es seine weiße Farbe beibehalten. Auch die Säure war farblos geblieben. Äußere Anzeichen einer Zersetzung waren also nicht sichtbar. Die vereinigten Kochflüssigkeiten gaben beim Eindampfen keine Ausscheidung.

Nachdem also keine Zuckerabspaltung erzielt werden konnte, wurde eine ähnliche Methode angewendet wie die, mittels der Levene¹ in den tierischen Cerebrinen nach Ausscheidung der Galaktose die noch gebliebenen sauren und basischen Bestandteile voneinander trennte. Auf diesem Wege konnte auch eine Säure isoliert und die Anwesenheit einer stickstoffhaltigen Base wahrscheinlich gemacht werden.

Das Cerebrin wurde mit Methylalkohol am Rückflußkühler erhitzt und zur siedenden Lösung eine gesättigte Lösung von Bariumhydroxyd in Methylalkohol hinzugefügt. Es trat zunehmende Gelbfärbung der Flüssigkeit ein. Nach 10 Stunden wurde das Erhitzen abgebrochen und soviel Aceton zugefügt, bis die entstandene Ausscheidung nicht mehr zunahm. Nach längerem Stehenlassen wurde filtriert. (Niederschlag N, Filtrat F.)

¹ Journ. of Biol. Chem. 31, p. 627.

Der Niederschlag (N), in dem die Bariumsalze der Säuren zu erwarten waren, wurde getrocknet und Beimengungen mit Petroläther extrahiert. Hierauf wurden die Bariumsalze mit warmer Salzsäure zerlegt und dann die überschüssige Salzsäure durch Waschen entfernt. Der Rückstand wurde in Wasser suspendiert, ein wenig Benzol hinzugefügt und auf dem Wasserbade erwärmt. Nach dem Verdampfen des Benzols waren die festen Teilchen zu einem Kuchen zusammengeschnitten, der auf der Oberfläche des Wassers schwamm, verhielten sich also so wie die höheren Fettsäuren. Der Kuchen wurde in Aceton gelöst, von den ungelösten anorganischen Beimengungen filtriert und dann das Lösungsmittel abgedampft. Der bräunliche Rückstand zeigte einen Schmelzpunkt von etwa 78° . Er wurde in warmem Alkohol-Benzolgemisch gelöst. Beim Abkühlen schied sich ein feinkörniges Pulver aus.

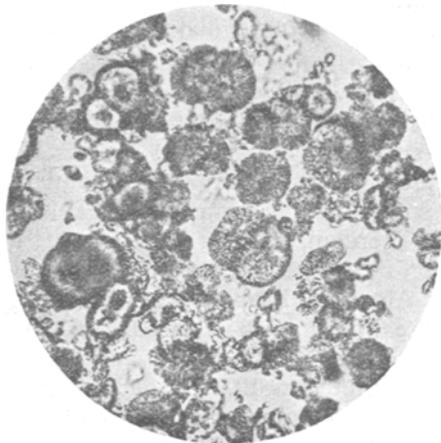


Fig. 4.

Vergrößerung 165.

Dieses wurde wiederholt aus Alkohol umgelöst, mit Tierkohle entfärbt und ergab schließlich einen Stoff, der große Ähnlichkeit mit Cerebronsäure zeigte. Er schmolz bei 95° und bildete ein weißes, lockeres Pulver. Unter dem Mikroskop zeigten sich kreisrunde Scheibchen mit deutlicher radiärer Streifung, zwischen gekreuzten Nicol'schen Prismen entstand ein zentrisches schwarzes Kreuz. Es lagen also doppeltbrechende Nadelkugeln, Sphärokrystalle, vor (Fig. 4). Die alkoholische Lösung reagierte deutlich sauer. Mit alkoholischem Magnesiumacetat ergab sie sofort einen weißen Niederschlag, der auch in viel heißem Alkohol unlöslich war.

Analyse:

C- und H-Bestimmung.

- | | | | | | | | | |
|----|----------|----------|-------|-----------|-------------------|-------------------|--------|--------|
| 1. | 4·990 mg | Substanz | gaben | 13·680 mg | CO ₂ , | daher | 74·79% | C. |
| | 4·990 | » | » | 5·780 | » | H ₂ O, | » | 12·96% |
| 2. | 4·070 | » | » | 11·170 | » | CO ₂ , | » | 74·87% |
| | 4·070 | » | » | 4·730 | » | H ₂ O, | » | 13·01% |

N-Bestimmung:

- 4·025 mg Substanz gaben 0·044 cm³ N, daher 1·220% N, Temp. = 24° C, Druck = 736 mm Hg.
- 4·570 mg Substanz gaben 0·064 cm³ N, daher 1·550% N, Temp. = 25° C, Druck = 736 mm Hg.

Daraus folgt die durchschnittliche Zusammensetzung des sauren Spaltproduktes des Cerebrins mit 74·83% C, 12·99% H,

1·38% N (Cerebronsäure $C_{25}H_{30}O_3$: 75·30% C, 12·65% H). Wider Erwarten zeigte sich also diese Säure stickstoffhaltig. Es dürfte sich um eine Aminofettsäure mit hohem Molekulargewicht handeln. Nachdem auch das andere Spaltprodukt stickstoffhaltig befunden wurde, muß angenommen werden, daß in der ursprünglichen Cerebrinmolekel zwei Stickstoffatome vorhanden sind, wofern die Spaltung einheitlich verläuft. Auf eine volle Analogie mit den tierischen Cerebrogalaktosiden ist ja wohl mit Rücksicht auf die Herkunft nicht zu rechnen gewesen.

Es wurde nun versucht, unter Benützung des Filtrates (F) näheres über die Natur der nicht sauren Bestandteile des Cerebrins zu erfahren. Das Filtrat wurde eingeengt, wobei es einen eigenartigen, aromatischen Geruch entwickelte, hierauf mit viel Wasser versetzt und die trübe Flüssigkeit mit Äther ausgeschüttelt. Nach dem Verdampfen des Äthers blieb ein roter Syrup zurück, ähnlich wie es bei den tierischen Cerebrinen an der entsprechenden Stelle des Abbaues beobachtet worden war. Der Syrup gab die Stickstoffreaktion nach Lassaigne. Aus der alkoholischen Lösung konnte der Syrup nicht zur Krystallisation gebracht werden. Es wurde nun geprüft, ob darin eine Base enthalten ist, die so wie das Sphingosin mit Schwefelsäure ein schwer lösliches Sulfat gibt. Zu diesem Zwecke wurde ein Teil des Syrups in Alkohol gelöst und mit alkoholischer Schwefelsäure versetzt. Doch schieden sich auch nach längerem Stehen keine Krystalle ab. Ein anderer Teil wurde mit entwässertem Natriumacetat und Essigsäureanhydrid behandelt; doch wurde auf diesem Wege bloß ein braunes Öl erhalten, das nicht zur Krystallisation gebracht werden konnte. Hingegen gelang es einen gelben, in schönen, langen Nadeln krystallisierenden Stoff zu erhalten, dadurch, daß die alkoholische Lösung mit einer ebensolchen von Pikrinsäure versetzt und einige Tage stehen gelassen wurde. Dieser Stoff scheint ein Pikrat der unbekanntenen Base zu sein. Die Analyse ergab keine zuverlässigen Resultate, da er trotz aller Vorsichtsmaßregeln verpuffte.

Zusammenfassung.

Die wichtigeren Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sind somit folgende:

1. Isolierung eines Phytosterins in reinem Zustand aus *Amanita muscaria* und Nachweis der Identität mit dem Tanretischen Ergosterin aus *Claviceps purpurea* auf Grund der Analysen, Schmelzpunkte und Löslichkeitsverhältnisse.

2. Darstellung der Acetylprodukte aus den beiden genannten Stoffen; der Vergleich dieser Derivate bestätigt die Identität.

3. Nachweis, daß das Phytosterin zwei Doppelbindungen in der Molekel enthält.

4. Isolierung eines Cerebrins aus dem Fliegenpilz und Feststellung seiner chemischen Zusammensetzung und physikalischen Eigenschaften. Nachweis, daß eine Zuckerkomponente fehlt, wobei allerdings die Möglichkeit offen bleibt, daß diese Komponente im Laufe der Darstellung, die energische chemische Eingriffe in sich schließt, aus dem nativen Stoff abgespalten wurde.

5. Isolierung eines Cerebrins aus *Hypholoma fasciculare*; die Analysenzahlen, die physikalischen und chemischen Eigenschaften weisen, wenn auch nicht mit voller Bestimmtheit, auf die Identität der beiden Cerebrine hin. Die Mikrophotographien (Fig. 1 und 4) der beiden Stoffe zeigen die eigenartige sphärokrystallinische Struktur noch deutlicher, als wie sie in den Rosenheim'schen Abbildungen¹ der tierischen Cerebrogalaktoside zum Ausdruck kommt. Dadurch gewinnt die Annahme von der Zugehörigkeit der beschriebenen Pflanzenstoffe zur Gruppe der Cerebrine an Begründung.

6. Aus dem Amanitacerebrin wird ein gut krystallisierendes Acetylprodukt gewonnen (Fig. 2) und dessen Zusammensetzung ermittelt. Dieses Derivat erscheint wichtig für das weitere Studium dieser Stoffe.

7. Das Amanitacerebrin ist resistent gegen verdünnte Säuren und selbst gegen konzentrierte Schwefelsäure. Der Abbau mit methylalkoholischem Ätzbaryt liefert eine Säure, die in radiär gestreiften Sphärokrystallen erhalten wird (Fig. 3). Auch im Schmelzpunkt, in den Löslichkeitsverhältnissen, in den Prozentzahlen für C und H zeigt sie sich den aus tierischen Cerebrinen gewonnenen Fettsäuren ähnlich, erweist sich aber im Gegensatz zu diesen als stickstoffhaltig.

Schließlich erfülle ich die angenehme Pflicht, den Förderern meiner Arbeit an dieser Stelle meinen Dank auszusprechen, und zwar Herrn Prof. Otto Rosenheim (London) für die Überlassung von Separatabdrücken seiner Arbeiten über die Cerebrogalaktoside, Herrn Dr. O. Pfeiffer-Wellheim (Wien) für die freundliche Herstellung der Mikrophotographien, Herrn Dr. G. Klein (Wien) für die Untersuchungen mit dem Polarisationsmikroskop und endlich den Herren Dr. A. Rollet (Graz) und Dr. E. Strauß (Frankfurt a. M.) für die Durchführung der Mikroanalysen.

¹ The Biochem. Journ. 8 (1914), p. 122.