

# **Spongosterin, eine cholesterinartige Substanz aus *Suberites domuncula*, und seine angebliche Beziehung zum Lipochrom dieses Tieres.**

Von  
**M. Henze.**

---

(Aus dem chemisch-physiologischen Laboratorium der zoologischen Station zu Neapel.)  
(Der Redaktion zugegangen am 17. Januar 1904.)

---

Trotz der allgemeinen Verbreitung der Cholesterine vermögen wir über ihre Bedeutung für den Organismus kaum etwas Bestimmtes auszusagen. Das gleiche gilt auch in bezug auf ihre chemische Konstitution und Abstammung.

In der Absicht, einen Anhaltspunkt auf die letzte dieser noch offenen Fragen zu finden, stieß ich in der Literatur auf zwei übereinstimmende Angaben. Die eine stammt von Kruckenberg.<sup>1)</sup> Er behauptet, daß bei einem häufigen Kieselschwamm des Mittelmeeres (*Suberites domuncula*) Cholesterin durch die Umwandlung eines Lipochroms entstehe, welches dem Schwamme die charakteristische rote Farbe gibt. Kruckenberg konstatiert also (wenigstens bei diesem Tier) den chemischen Zusammenhang zwischen Lipochromen und Cholesterinen. Der Übergang soll sich bei Einwirkung des Sonnenlichtes vollziehen. Die andere Angabe findet sich bei J. Cotte,<sup>2)</sup> der die Beobachtung von Kruckenberg von neuem völlig bestätigt.

Die Darstellungen der beiden Autoren schienen mir jedoch durchaus nicht zwingend zu sein, umsomehr als sich dieselben eigentlich nur auf Farbenreaktionen, die mit dem direkten Chloroformextrakt<sup>o</sup> des Schwammes angestellt wurden, und auf

---

<sup>1)</sup> Vergleichende physiologische Studien, Bd. II, S. 50; Bd. III, S. 111.

<sup>2)</sup> Jules Cotte: Contribution à l'étude de la nutrition chez les spongiaires. Bulletin scientifique de la France et de la Belgique. Vol. XXXVIII, p. 509.

mikroskopische Kristallbilder stützen. Abgesehen davon ist auch nicht gezeigt worden, ob es sich wirklich um Cholesterin resp. Isocholesterin, wie Kruckenberg meint, handelt. J. Cotte bemerkt allerdings, daß er unter Cholesterin einen cholesterinartigen Körper im weitesten Sinne des Wortes verstehe.

Eine Klarlegung dieser Verhältnisse erforderte in erster Linie eine Isolierung und getrennte Untersuchung der beiden in Betracht kommenden Stoffe. Dann war es erst möglich, das Lipochrom speziell auf seine Umwandlung zu prüfen.

Vor der Verarbeitung wurden die Schwämme sauber von der von ihnen gewöhnlich umhüllten Schneckenschale abgelöst, die in den meisten Fällen von dem Krebs Pagurus bewohnt ist, dann durch Ausdrücken einigermaßen von dem aufgesogenen Wasser befreit und zerkleinert. Hierbei macht sich der intensiv widerwärtige Geruch eines flüchtigen Körpers geltend, auf den ich später noch zu sprechen komme. Die Schwämme wurden anfangs in frischem Zustande so lange mit absolutem Alkohol und Äther extrahiert, bis erneute Mengen dieser Lösungsmittel keine Lipochrom-Rotfärbung mehr zeigten.

Später trocknete ich die Schwämme stets vorher an der Luft, da sich in den hierauf gewonnenen Extrakten kein Unterschied von den aus frischem Material erhaltenen Auszügen bemerken ließ. Natürlich ist die Extraktion hierbei eine viel vollkommenerere.

Beim Verdampfen oder Abdestillieren der Extraktionsflüssigkeiten hinterbleibt eine durch das Pigment stark rotgelb gefärbte butterartige Masse. Kruckenberg und Cotte sagen, sie zeige keine oder fast keine Kristallisation. Lasse man sie aber einige Zeit im Sonnenlichte stehen oder erhitze man sie, so werde das Pigment unter Verschwinden seiner Farbe umgewandelt. Die Umwandlung soll man in einer zunehmenden Kristallausscheidung von Cholesterin erkennen. Ich habe dazu folgendes zu bemerken: Man braucht die ätherisch-alkoholische Lösung der Schwämme nur nicht ganz bis zur Trockene zu verdampfen, ihr einige Zeit zum Kristallisieren zu lassen (Licht spielt dabei absolut keine Rolle), und man wird sehen, wie sich massenhaft Kristalle vom sogenannten Cholesterin ausscheiden.

Schon damit scheint mir die Behauptung der Autoren, es bedürfe zur Entstehung des Cholesterins zunächst der Einwirkung des Lichtes oder der Wärme, ziemlich zweifelhaft geworden zu sein. Die gleichzeitig mit aus der Schwammmasse extrahierten Substanzen (Fette, Lipochrome, flüchtige Öle etc.) werden, wenn man jegliches Lösungsmittel verdampft, hemmend auf die Kristallisation des sogenannten Cholesterins wirken, sodaß es nötig ist, längere Zeit zu warten, bis dieselbe eintritt. Durch Erwärmen läßt sie sich etwas beschleunigen, weil jedenfalls flüchtige Öle verdampfen, wie der Geruch lehrt. Es schien mir das der näher liegende Schluß zu sein. Cotte stützt seine Ansicht durch Reaktionen mit konzentrierter Schwefelsäure, mit der ein frischer Chloroformextrakt der Schwammmasse, der also allerhand Substanzen enthält, anfangs Blaufärbung gibt. Ist der Extrakt dagegen längere Zeit belichtet worden, so versagt die Blaufärbung, indem an deren Stelle eine rötliche Cholesterinreaktion eintritt. Wie es sich mit dieser Beobachtung verhält, soll später erörtert werden.

Zur Isolierung des sogenannten Cholesterins wurde folgender Weg eingeschlagen.

Das Lipochrom wird, wie schon Kruckenberg angibt, durch Kalilauge nicht angegriffen. Demzufolge konnte man das aus der Schwammmasse durch Alkoholätherextraktion gewonnene butterartige Substanzgemenge nach der Auflösung in heißem Alkohol mit Natriumalkoholat behandeln. Die vorhandenen Fette wurden dadurch verseift. Auf 30 g Extrakt kamen 5 g Natrium. Die alkoholische Flüssigkeit wurde zuletzt auf dem Wasserbad zur Trockene verdampft und zu dem in warmem Wasser aufgenommenen Rückstand Calciumchlorid gegeben. Die entstehenden Kalkseifen emulgieren und reißen Lipochrom samt Cholesterin mit sich. Man koliert, wäscht mit Wasser nach und trocknet im Dampftrockenschrank, so weit es möglich ist. Es ist nunmehr am vorteilhaftesten, die getrocknete Masse mehrfach mit Aceton auszukochen, welches nur das Lipochrom und den cholesterinartigen Körper aufnimmt. Die Kalkseifen, über deren Natur später noch berichtet werden soll, bleiben zurück.

Nach dem Abdestillieren der Hauptmenge des Acetons kristallisiert das Cholesterin aus. Die Mutterlaugen sind durch das Lipochrom intensiv rotgelb gefärbt und selbstredend noch cholesterinhaltig. Um einigermaßen größere Mengen des cholesterinartigen Körpers zu gewinnen, muß man freilich große Quantitäten der Schwämme in Arbeit nehmen.

Bisher ist im tierischen Organismus außer dem eigentlichen Cholesterin nur noch Isocholesterin gefunden worden, abgesehen von Koprosterin und Hippokoprosterin der Fäces, die als Reduktionsprodukte des Cholesterins aufgefaßt werden. Die Zahl der pflanzlichen Cholesterine oder Phytosterine ist bei weitem größer,<sup>1)</sup> alle sind sie jedoch isomer mit dem tierischen Cholesterin. Die gleich näher zu charakterisierende Verbindung weicht schon in ihrer chemischen Zusammensetzung von den eigentlichen Cholesterinen ab. In gewissen Beziehungen wird man jedoch eine Analogie zum Cholesterin nicht verkennen. Ich bringe für dieselbe den Namen: Spongosterin in Vorschlag.

Zur definitiven Reinigung des rohen Spongosterins benutzt man am besten Methylalkohol. Mitunter ist es notwendig, die letzten hartnäckig anhaftenden Reste des roten Lipochroms durch Behandeln mit Tierkohle zu entfernen. Zuletzt wurde das Spongosterin aus 95 %igem Alkohol umkristallisiert, aus dem es in Form von weißen, fettig glänzenden Täfelchen oder Blättchen, deren meist ausgezähnte Ränder die eigentliche Form unkenntlich machen, ausfällt. In Alkohol ist das Spongosterin leichter löslich als Cholesterin. Äther, Chloroform, Schwefelkohlenstoff nehmen es sehr leicht auf. Aus Äther schießt das Spongosterin in langen, spießigen Formen an. Bei langsamer Verdunstung einer Ätherlösung erhielt ich gelegentlich sehr große rhomboedrische Kristalle.

Der Schmelzpunkt des Spongosterins liegt bei 119—120 °, also viel tiefer als der des Cholesterins (145 °) oder Isocholesterins (194°), sowie auch sämtlicher bekannten Phytosterine. Der Schmelzpunkt ließ sich trotz vielfachen Umkristallisierens

---

<sup>1)</sup> Vergl. Zusammenstellung bei Burian, Sitzungsberichte der K. Akademie der Wissenschaften in Wien. Math.-Naturw. Klasse, Bd. CVI, Abt. II, 6. Juli 1897.

nicht erhöhen. Um ganz sicher zu gehen, wurde das Spongosterin (cf. unten) in den Essigester übergeführt und durch Verseifung daraus wiedergewonnen. Der Schmelzpunkt blieb auch jetzt konstant auf 119—120°.

Die für das Cholesterin charakteristischen Reaktionen ergeben, auf das Spongosterin übertragen, folgendes Resultat:

Behandelt man einige auf einem Objektträger befindliche Kristalle mit Schwefelsäure (1:5), so zeigt sich keine Veränderung. Cholesterin färbt sich rot. Die Probe nach Salkowski tritt langsam und nicht mit dem schönen roten Farbton ein; die Schwefelsäure fluoresziert grün.

Die Liebermann-Burchardsche Probe ist deutlich positiv.

Obermüllers Reaktion versagte (siehe auch: Propionsäureester). Raucht man einige Spongosterinkristalle mit konz. HNO<sub>3</sub> in einem Schälchen ab, so tritt beim Befeuchten des Rückstandes mit Ammoniak Rotfärbung ein.

Das Spongosterin ist optisch aktiv und zwar linksdrehend.

Die Bestimmung im Laurentschen Halbschattenapparat ergab folgendes:

Angewendete Substanz = 1,0714 g (bei 105° getrocknet) in 25 ccm Chloroform gelöst.

Die Lösung drehte im 2-dm-Rohr — 1° 41' = — 1,68°. Temperatur 25°.

Hieraus berechnet sich:

$$[\alpha]_{D}^{25^{\circ}} = -19,59\%$$

Die Kristalle des Spongosterins scheinen analog denen des Cholesterins Kristallwasser zu binden und zwar ziemlich fest, sodaß die letzten Spuren erst beim Schmelzen der Substanz völlig zu entfernen sind. Zu einem definitiven Schluß bin ich in dieser Hinsicht noch nicht gekommen. Einige Bestimmungen ergaben die folgenden Zahlen:

I.	0,1517 g Substanz verloren (bei 110° getrocknet)	0,0062 g an Gewicht
II.	0,1623 » » » » 110° »	0,0075 » » »
III.	1,1270 » » » » 110° »	0,0556 » » »

Der Gewichtsverlust (Kristallwassergehalt [?]) beträgt demnach pro 100 Teile lufttrockener Substanz:

I.	II.	III.
4,09	4,62	4,93

Die Elementaranalysen des Spongosterins gaben folgende Resultate:

I. 0,1455 g bis zur Gewichtskonstanz getrockneter Substanz lieferten

$$\text{CO}_2 = 0,4367 \text{ g}$$

$$\text{H}_2\text{O} = 0,1650 \text{ »}$$

II. 0,18069 g bis zur Gewichtskonstanz getrockneter Substanz lieferten

$$\text{CO}_2 = 0,5425 \text{ g}$$

$$\text{H}_2\text{O} = 0,2034 \text{ »}$$

I. Gefunden: C = 81,81%, H = 12,60%

II. » C = 81,92%, H = 12,52%

Mit Berücksichtigung der Resultate, welche die Elementaranalysen der Spongosterinderivate gaben, berechnet sich aus den obigen Daten eine Formel, die am besten in Einklang zu bringen ist, mit

$$\text{C}_{19}\text{H}_{32}\text{O} \text{ mit theoretisch C} = 81,95\%$$

$$\text{H} = 12,03\%$$

Ich bemerke ausdrücklich, daß ich die Formel durchaus nicht als absolut feststehend ansehe, dazu bedarf es noch eingehenderer Untersuchungen. Die Elementaranalyse auch der Ester reicht bei dem hohen Molekulargewicht der Verbindung nicht aus.

Die Bestimmung der Molekulargröße nach der kryoskopischen Methode in Naphtalin als Lösungsmittel deutet auf die obige einfache Formel des Spongosterins:

I. 0,1108 g Substanz bewirkten in 28 g Naphtalin eine Depression des Erstarrungspunktes um 0,072°;

II. 0,2390 g Substanz bewirkten in 28 g Naphtalin eine Depression des Erstarrungspunktes um 0,180°.

Legt man der Berechnung die Depressionskonstante 70 für Naphtalin zugrunde, so erhält man für

I.	II.
385	332

Die Fähigkeit des Spongosterins, sich zu verestern, ist beweisend für das Vorhandensein einer Hydroxylgruppe im Molekül. Die folgenden Ester wurden dargestellt.

### Spongosterylacetat.

Zu seiner Darstellung wurde das entwässerte Spongosterin etwa 1 Stunde auf dem Wasserbad mit Essigsäureanhydrid erwärmt. Hierauf wurde durch wiederholtes Abdampfen mit ab-

solutem Alkohol der Überschuß des Anhydrids entfernt und das Produkt mehrmals aus 95%igem Alkohol umkristallisiert. Die resultierenden glänzenden Blättchen schmolzen bei 124,5°. Die Schmelze zeigte kein Farbenspiel, wie dies vom Cholesterylacetat bekannt ist.

Bei der Verseifung des Acetats mit alkoholischer Kalilauge erhält man das Spongosterin mit den gleichen Eigenschaften und dem gleichen Schmelzpunkt 120° zurück.

### Spongosterylpropionat.

Man erwärmt das gut getrocknete Spongosterin mit Propionsäureanhydrid auf dem Wasserbad. Nach ca. 1 Stunde wird die beim Erkalten erstarrende Reaktionsflüssigkeit mit verdünntem kaltem Alkohol gewaschen und bis zum Konstantbleiben des Schmelzpunktes umkristallisiert. Es wurde 95%iger Alkohol verwendet, in dem das Propionat ziemlich schwer löslich ist. Man erhält das Spongosterylpropionat in Form schöner großer perlmutterglänzender Blättchen. Ihr Schmelzpunkt liegt bei 135—136°. Im Gegensatz zu dem von Obermüller für das Cholesterylpropionat als typisch bezeichneten Irisieren seines Schmelzflusses zeigt die vorliegende Verbindung keine Spur einer derartigen Farbenerscheinung.

Bei der Elementaranalyse lieferten 0,1650 g Substanz 0,4793 CO<sub>2</sub> und 0,1766 H<sub>2</sub>O.

Gefunden: C = 79,22%, H = 11,81%

Berechnet für C<sub>19</sub>H<sub>31</sub>OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>CO: C = 79,52%, H = 10,88%

### Spongosterylbenzoat.

Man erhält diese Verbindung in glatter Weise, wenn man das getrocknete Spongosterin mit einem Überschuß von Benzoylchlorid im Kölbchen auf ca. 160° erhitzt. Nach der Reaktion, die in wenigen Minuten vollendet ist, wäscht man das überschüssige Benzoylchlorid mit verdünntem Alkohol weg und kristallisiert aus einem Gemisch von Alkoholäther um. Aus diesem Lösungsmittel scheidet sich der Benzoeester in Gestalt rechteckiger Täfelchen aus. In Alkohol ist die Verbindung sehr schwer löslich. Der Schmelzpunkt wurde zu 128° bestimmt. Die Schmelze zeigte kein Farbenspiel beim Erkalten.

Bei der Verbrennung gab der Ester folgende Zahlen:

I. 0,1492 g Substanz lieferten	0,4468 g CO <sub>2</sub>
	0,1422 » H <sub>2</sub> O
II. 0,1423 » » »	0,4300 » CO <sub>2</sub>
	0,1370 » H <sub>2</sub> O
Gefunden I.:	C = 81,68%, H = 10,59%
» II.:	C = 82,41%, H = 10,69%
Berechnet für C <sub>19</sub> H <sub>31</sub> OC <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CO:	C = 82,10%, H = 9,48%

### Einwirkung von Brom auf das Spongosterin.

Das Cholesterin enthält eine Doppelbindung, wie namentlich aus seinem Verhalten gegen Brom folgt. Es bildet damit glatt ein Dibromid. Das Spongosterin weicht in dieser Hinsicht vom Cholesterin ab.

Läßt man zu einer Schwefelkohlenstofflösung von getrocknetem Spongosterin eine Lösung von Brom in Schwefelkohlenstoff tropfen, so wird jeder einfallende Tropfen rasch entfärbt. Gegen Ende der Reaktion geht die Entfärbung langsamer vonstatten, doch ist während der ganzen Zeit keine Bromwasserstoffentwicklung zu beobachten. Nur wenn ein Bromüberschuß länger einwirkt, sieht man schwache Nebel aufsteigen. Trotzdem also der Vorgang auf eine Bromanlagerung schließen läßt, stimmen die Analysen auf nichts weniger als ein Bromadditionsprodukt.

Wird die Schwefelkohlenstofflösung, welche eine bleibende Bromfärbung angenommen hat, abgedunstet, so hinterbleibt ein stark rotbraun gefärbter Rückstand, der aus verdünntem Alkohol umkristallisiert wurde. Völlige Entfärbung ließ sich manchmal nur nach Behandlung mit Tierkohle erreichen. Man erhält mikroskopisch kleine, rein weiße, Blättchen, die scharf bei 130° schmelzen. Ich habe die Darstellung dieser Verbindung mehrfach wiederholt und stets denselben Körper, von derselben Kristallform und demselben scharfen Schmelzpunkt erhalten.

Der Bromgehalt dieses Produktes ist auffallend niedrig. Ein Dibromspongosterin von der Zusammensetzung C<sub>19</sub>H<sub>32</sub>OBr<sub>2</sub> müßte 37,56% Br enthalten. Die erste nach Carius ausgeführte Brombestimmung des Körpers lieferte 6,89% Br. Da mir bei dieser Analyse nur sehr wenig Substanz zur Verfügung stand und das Rohr vor der völligen Zersetzung der Verbindung

geöffnet worden war, so kann ich nicht für absolute Genauigkeit eintreten. Ich führe die Analyse nur an, um zu zeigen, daß der Bromgehalt sehr niedrig ist.

Es wurden angewandt: 0,2308 g Substanz.

Gefunden: 0,0374 » AgBr = 0,0159 g Br. = 6,89 % Br.

Eine andere Elementaranalyse der von neuem dargestellten Verbindung lieferte folgende Werte:

0,2688 g Substanz gaben 0,0620 g AgBr = 0,0264 g Br.

Gefunden: 9,82 % Br.

0,1066 g Substanz gaben 0,2952 g CO<sub>2</sub>, 0,1120 g H<sub>2</sub>O.

Gefunden: C = 75,72 %, H = 11,67 %.

Man sieht, daß auch die Werte für Kohlenstoff und Wasserstoff den sehr niederen Bromgehalt der Verbindung bestätigen. Für die Möglichkeit, daß während der Bromierung des Spongosterins als Nebenreaktion eventuell eine Bromwasserstoffabspaltung eintrete,<sup>1)</sup> findet sich kein Anhalt; ja es wäre selbst in diesem Falle der Bromgehalt noch zu niedrig. Die Verbindung ist überdies sehr beständig. Die nächste Erklärung, welche die vorhandenen Tatsachen zulassen, könnte man vielleicht in einer neben der Addition verlaufenden Kondensation mehrerer Moleküle sehen. Jedoch spricht dagegen wieder die Bestimmung des Molekulargewichts.

0,1016 g Substanz bewirkten in 28 g Naphtalin eine Depression von 0,063°.

Das Molekulargewicht berechnet sich daraus zu 403.

Neue Untersuchungen, die aus Materialmangel einstweilen abgebrochen wurden, müssen hier weitere Aufklärung bringen. Immerhin scheint mir schon jetzt das Spongosterin als eine bisher unbekannte Verbindung des tierischen Organismus charakterisiert zu sein.

Es wurde bereits eingangs (S. 112) angedeutet, daß es auf dem Wege zur Gewinnung des Spongosterins auch gelingt, das Lipochrom von *Suberites domuncula* in einigermaßen reinem Zustande abzuscheiden. Infolgedessen glaube ich auch die Haltlosigkeit der Behauptung, es bestehe zwischen Spongosterin und Lipochrom eine direkte Beziehung, nachweisen zu können.

<sup>1)</sup> Vergleiche die Angabe für Cholestol von Liebermann (Bericht d. D. Chem. Ges., Bd. 18, 1806).

Die acetonhaltigen Mutterlaugen des Spongosterins sind durch das Lipochrom tief rotgelb gefärbt. Man kann nun durch fortgesetztes Ausziehen der Verdampfungsrückstände eben genannter Mutterlaugen mit kaltem Äther und wiederholtes Stehenlassen zur Auskristallisation der letzten Anteile des Spongosterins so weit kommen, daß dem Lipochrom so gut wie kaum noch Spongosterin beigemischt ist. Das Lipochrom bleibt beim Abdunsten des Lösungsmittels schließlich in Form einer stark rotgelbgefärbten salbenartigen Masse zurück, die nicht unangenehm riecht. Beim Erwärmen verschwindet dieser, jedenfalls flüchtigen Stoffen angehörende Geruch. Zur Kristallisation war das Lipochrom nicht zu bringen.

Die Lösungen des Lipochroms absorbieren den grünen und blauen Teil des Spektrums außerordentlich stark. Bei einigermaßen größerer Dicke der durchlaufenen Schicht wird auch der Anfang des entgegengesetzten Endes des Spektrums, also ein Teil des roten Lichtes, ausgelöscht. Bei Einstellung geeigneter Spaltöffnung und einem gewissen Konzentrationsgrad der Lösung läßt sich außerdem stets ein deutliches Band im gelbroten Teile des Spektrums beobachten, das mit der Fraunhoferschen C-Linie zusammenfällt.

Wie verhält sich nun das Lipochrom gegen das Sonnenlicht? Ich habe wiederholt größere und kleinere Mengen desselben in offenen Schälchen dem Sonnenlicht ausgesetzt, jedoch niemals eine Kristallisation beobachten können, die auf eine Bildung von Spongosterin hätte deuten lassen. Die Entfärbung des Lipochroms trat ein, wenn auch ziemlich langsam, aber selbst nach dem Aufnehmen der grünlich gewordenen Masse in einem organischen Solvens ließ sich beim langsamen Abdunsten nicht die geringste Kristallisation erzielen, und nebenbei bemerkt, hat das Spongosterin außerordentlich große Kristallisationstendenz. Ich muß deshalb die Möglichkeit einer Bildung von Spongosterin aus Lipochrom verneinen, zum wenigsten auf die Weise, wie Kruckenberg und J. Cotte meinen. Ob der lebende Organismus diese Umwandlung möglicherweise zustande bringt, ist eine andere Frage.

Die langsame Entfärbung des Pigments durch das Sonnen-

licht scheint offenbar auf einem Oxydationsvorgang zu beruhen. Wir wissen, daß Fette, Harze, besonders Terpentinöl, und nach neueren Untersuchungen eine große Zahl anderer organischer Verbindungen durch Belichtung ozonisierende Eigenschaften bekommen und zu Autoxydationen neigen. Es ist sehr wahrscheinlich, daß sich das fettähnliche Lipochrom ganz analog verhält. Die Vermutung, daß der Entfärbung oder Zersetzung des Lipochroms ein Oxydationsvorgang zugrunde liegt, wird durch einige in dieser Hinsicht angestellte Versuche, die ich hier kurz anführe, an Wahrscheinlichkeit gewinnen. Es wurden Fließpapierstreifen mit einer Ätherlösung des Lipochroms getränkt. Nach der Verdunstung des Lösungsmittels wurden die völlig mit dem Lipochrom imbibierte Streifen in Röhrchen eingeschmolzen, von denen enthielt:

- Nr. I Luft,
- » II Sauerstoff,
- » III Kohlensäure,
- » IV Wasserstoff.

Die Röhrchen wurden dem direkten Sonnenlicht ausgesetzt. Nr. III und IV sind jetzt, nach 6 Monaten, noch genau so gefärbt wie am Anfange. II war in ca. 20 Min. entfärbt und I hat noch ein wenig des gelbroten Kolorits beibehalten, offenbar weil der Luftsauerstoff bald verzehrt war und zur vollkommenen Oxydation nicht ausreichte. Lösungen des Lipochroms in organischen Solventien sind auch im Licht sehr beständig. Im Dunkeln verändert sich das mit Luft in Berührung stehende Lipochrom nur sehr allmählich. Eine ozonhaltige Atmosphäre entfärbt es auch im Dunkeln sehr rasch. Naszierender Wasserstoff aus Natrium in alkoholischer Lösung ließ keine Farbänderung des Lipochroms erkennen.

Der frische Chloroformauszug von *Suberites domuncula* färbt sich mit konzentrierter Schwefelsäure deutlich blau, wie Cotte auch schon angibt. Diese Farbenreaktion kommt nur dem unveränderten Lipochrom zu. Ist dasselbe im Lichte entfärbt (d. h. es wird schmutzig grün), so erhält man mit konzentrierter Schwefelsäure eine intensiv braunrote Färbung, die fast momentan und schon mit sehr kleinen Mengen der Substanz

eintritt. Das gereinigte Spongosterin gibt mit konzentrierter Schwefelsäure nur sehr allmählich einen schwachen gelbroten Farbton, wie das früher erwähnt wurde.

### Anhang.

Anschließend an die vorstehende Untersuchung des Spongosterins lasse ich einige nebenbei gemachte Beobachtungen folgen, die einen Beitrag zur chemischen Physiologie von *Suberites* liefern können.

I. Die erste Notiz bezieht sich auf die Fette resp. Fettsäuren von *Suberites*.

Zur Gewinnung des Spongosterins war das durch Alkohol-ätherextraktion des Schwammes gewonnene Gemisch von Fetten, Ölen, Lipochrom und Spongosterin der Behandlung mit Natriumalkoholat unterworfen und daraus schließlich durch Zusatz von Chlorcalciumlösung ein Niederschlag erzielt worden, der neben Spongosterin auch andere fettähnliche Substanzen mit niederriß (cf. S. 111). Diese vorher getrocknete Calciumfällung war mit Aceton erschöpfend extrahiert worden, wobei eine grünschwarz gefärbte Masse hinterblieb. Zur weiteren Untersuchung wurde dieselbe jetzt in warmem Wasser gelöst und mit Salzsäure angesäuert, wobei sich eine Schicht stark schwarzgrün gefärbter und verunreinigter freier Fettsäuren abschied. Durch Zusatz von Natronlauge wurden sie in Lösung gebracht, zunächst das freie Alkali durch Einleiten von Kohlensäure abgesättigt und dann das Ganze zur Trockene eingedampft. Dem Rückstand entzog ich durch heißen Alkohol die fettsauren Natronsalze. Um dieselben von dem anhaftenden grünschwarzen Farbstoffe zu befreien, verrieb ich sie nach dem Verjagen des Alkohols mit Sand, um sie möglichst fein zu verteilen, und extrahierte sie so lange im Soxhlet mit Äther, bis sie nahezu farblos hinterblieben. Sie wurden dann in warmem Alkohol gelöst und durch Zusatz von Bleiacetat in Bleisalze verwandelt, und abermals zur Trockene verdampft. Beim Auskochen des Trockenrückstandes mit Äther geht ein Teil der Bleisalze in Lösung. Aus der Ätherlösung kann man durch Zersetzung mit Salzsäure

eine flüssige, nicht erstarrende Säure abscheiden, die ihrer Darstellungsweise nach als Ölsäure anzusprechen sein würde.

Der durch Äther ungelöst gebliebene Anteil der Bleisalze wurde in heißem Alkohol aufgenommen und durch Schwefelwasserstoff zerlegt. Das heiße alkoholische Filtrat vom Schwefelblei wurde durch Erwärmen vom Schwefelwasserstoff befreit und mit Soda zur Trockene verdampft. Beim Ansäuern der wässerigen Lösung des dabei bleibenden Rückstandes scheidet sich ein festwerdendes Säuregemenge ab. Der unscharfe Schmelzpunkt desselben liegt bei ca.  $80^{\circ}$ . Ob in dem Gemenge Palmitin und Stearinsäure vorhanden war, vermochte ich nicht zu entscheiden. Es gelang mir aber, durch wiederholtes Umkristallisieren aus verdünntem Alkohol eine Säure von auffallend hohem Schmelzpunkt abzutrennen, die schon aus diesem Grunde mit keiner der sonst in Fetten gefundenen Säuren zu vergleichen sein dürfte. Sie schmolz bei ca.  $110^{\circ}$ . Ob sie schon als chemisch rein zu betrachten war, kann ich nicht mit Sicherheit behaupten. Um nähere Untersuchungen damit anzustellen, reichte die zur Verfügung stehende Menge nicht aus.

Bei der Elementaranalyse lieferten:

0,1414 g Substanz 0,3725 g  $\text{CO}_2$ , 0,1482 g  $\text{H}_2\text{O}$ .

Gefunden: 71,85% C, 11,65% H.

Bei der Annahme von zwei Atomen Sauerstoff, also einer Karboxylgruppe, im Molekül würde sich daraus die Formel  $\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{O}_2$  berechnen, für die der theoretische Gehalt an C = 72,00%, H = 12,00% beträgt. Die Säure würde demnach in die Reihe der Laurinsäure gehören, und man dürfte, um sich den hohen Schmelzpunkt erklären zu können, an eine Laurinsäure mit verzweigter Kohlenstoffkette denken.

Cotte, der in seiner früher zitierten Abhandlung auch einige Angaben über die Fettsäuren von *Suberites* macht, fand keine festen Säuren. Das Vorkommen von Ölsäure wies auch er nach.

II. Die folgenden Bemerkungen beziehen sich auf die eigentümlich widerwärtig riechende, flüchtige Verbindung, die von *Suberites* und wahrscheinlich auch von anderen Schwämmen ausgeschieden wird. Kruckenberg (vergl. *physiol. Studien* I (2))

S. 37) wollte als Ursache des an «Phosphordampf erinnernden» Geruches eine Ozonproduktion des Schwammes annehmen. Er hat sich aber durch die negativ ausfallenden Versuche von der Haltlosigkeit einer solchen Annahme überzeugt. Es ist mir nicht gelungen, etwas Definitives über diesen zweifellos organischen, flüchtigen Körper auszusagen, immerhin können die folgenden Notizen vielleicht Anhaltspunkte zu weiteren Untersuchungen bilden.

Wenn man die zerkleinerten frischen Schwämme mit Wasserdampf destilliert, füllt sich die Vorlage mit fast betäubend riechenden Dämpfen. Das übergehende Wasser wird durch keine ölige Abscheidung getrübt. Die Verbindung ist also entweder darin löslich oder nur in Spuren vorhanden. Da meine Vermutungen auf einen merkaptanähnlichen Körper gerichtet waren, so suchte ich mit den zuerst übergehenden Anteilen des Destillates Verbindungen mit Sublimat zu erhalten, doch vergebens.

Eine andere Beobachtung, die ich machte, veranlaßte die folgende Versuchsanordnung. Eine größere Menge von Schwämmen wurde in einen großen Rundkolben gebracht, auf den ein Kühler gesetzt wurde, von dessen oberer Öffnung eine Rohrleitung zunächst zu einer leeren Waschflasche führte, von dieser weiter zu einer mit konzentrierter Natronlauge gefüllten, darauf zu einer verdünnte Salzsäure enthaltenden und endlich zu einem mit konzentrierter Schwefelsäure gefüllten Liebigschen Kaliapparat. An letzteren schloß eine Saugpumpe an, mit deren Hilfe ein langsamer von Kohlensäure befreiter Luftstrom durch den ganzen Apparat gesaugt wurde. Gleichzeitig wurde der Rundkolben mäßig erwärmt und nach entsprechender Zeit von neuem mit Schwämmen beschickt. Der Luftstrom führt die flüchtige Verbindung mit. Während derselbe nun nach Passieren der mit Natronlauge und verdünnter Salzsäure gefüllten Waschflaschen noch stark nach der fraglichen Verbindung roch, also offenbar nichts an deren Inhalt abgab, so war dies nicht mehr der Fall, nachdem er mit der konzentrierten Schwefelsäure in Berührung gekommen war. Die Verbindung wird also von konzentrierter Schwefelsäure aufgenommen.

Durch vorsichtiges Verdünnen einer solchen Schwefelsäure mit Eiswasser tritt der Geruch der flüchtigen Verbindung wieder deutlich auf. Dieses Verhalten brachte mich von neuem auf die Vermutung, es mit einem Merkaptan zu tun zu haben, da diese Thioalkohole ebenfalls von konzentrierter  $\text{H}_2\text{SO}_4$  aufgenommen werden. Sie werden ferner in dieser Lösung durch Permanganat oxydiert und zwar Äthylmerkaptan zu Essigsäure. Meine Schwefelsäurelösung wurde durch Permanganat ebenfalls oxydiert. Zum wenigsten läßt dies schließen, daß eine organische, leicht oxydable Verbindung darin vorhanden ist. Nach dem Verdünnen der mit Permanganatlösung bleibend gefärbten Schwefelsäure mit Wasser wurden die bei der Destillation zuerst übergehenden Tropfen auf Essigsäure geprüft, jedoch mit negativem Resultat.

Um wenigstens zu entscheiden, ob man es mit einer schwefelhaltigen Verbindung zu tun hatte, wurde eine Absorption (?) derselben in konzentrierte Schwefelsäure in einen Kolben gebracht, durch den ein Sauerstoffstrom geleitet wurde. Nach dem Durchgang durch den Kolben, in dem die Schwefelsäure vorsichtig mit Hilfe eines Tropftrichters durch Eiswasser verdünnt, später aber mäßig erwärmt wurde, passierte der mit der flüchtigen Verbindung beladene Sauerstoffstrom eine Waschflasche mit Natronlauge und eine solche mit Chlorcalciumlösung, dann aber ein mit ausgeglühtem Asbest gefülltes Verbrennungsröhr, das im Ofen erhitzt wurde. Die durch den Sauerstoffstrom mit fortgeführte flüchtige Verbindung mußte hierin verbrannt und der eventuell in ihr enthaltene Schwefel zu Schwefelsäure oxydiert werden, welche letztere in einem dem Verbrennungsröhr angefügten mit Chlorbaryumlösung gefüllten Kaliapparat sichtbar gemacht werden konnte. Auch dieser Versuch fiel negativ aus.

Trotzdem der Geruch der fraglichen Verbindung so intensiv ist, kann es sich möglicherweise nur um minimale Mengen handeln, die einer Isolierung große Schwierigkeiten in den Weg legen.

III. Zum Schluß erwähne ich noch ganz kurz, daß *Suberites* eine gut wirkende Oxydase (Tyrosinase) enthält, was inzwischen jedoch bereits von Cotte nachgewiesen und publiziert worden ist.

Ich habe sowohl mit dem frischen Preßsaft von Suberites operiert, als auch mit dem Niederschlag, den der Zusatz vom gleichen Volumen 96%igen Alkohols zum Preßsaft erzeugte und der durch Extraktion mit Äther von Fetten, Lipochrom und Spongosterin befreit worden war. Der in Tyrosinlösung gebrachte Niederschlag färbte dieselbe beim Durchleiten von Luft in kurzer Zeit blauschwarz. Ebenso verhielt sich ein Glyzerinauszug des Niederschlags. Durch Aufkochen wurde die Oxydasewirkung aufgehoben.

---