

# Über den Farbstoff des Corpus luteum.

Von

Heinr. H. Escher, Zürich.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich.)

Der Redaktion zugegangen am 17. Dezember 1912.)

Einige Forscher<sup>1)</sup> haben schon seit längerer Zeit die gelben Pflanzenpigmente gemäß ihrer verschiedenen Löslichkeit gegenüber einer Alkohol-Benzinmischung in zwei Gruppen zu ordnen versucht. Aber erst R. Willstätter und W. Mieg<sup>2)</sup> isolierten unter den Begleitern des Chlorophylls Vertreter beider Gruppen und analysierten sie in reinem Zustande: den rot-orangen Benzin-leichterlöslichen Kohlenwasserstoff Carotin, für den sie die Formel  $C_{40}H_{56}$  begründeten, und das gelbe Alkohol-leichterlösliche sauerstoffhaltige Xanthophyll ( $C_{40}H_{56}O_2$ ). R. Willstätter und H. H. Escher<sup>3)</sup> beschrieben dann ein Isomeres des Carotins, den Tomatenfarbstoff Lycopin als weiteres Glied der Kohlenwasserstoffgruppe und stellten auch für dieses die Zusammensetzung  $C_{40}H_{56}$  fest.

Unter den ähnlichen gelben tierischen Pigmenten wurde als erstes das Lutein, der Farbstoff des Hühner-Eidotter von R. Willstätter und H. H. Escher<sup>4)</sup> rein dargestellt und analysiert. Sie zeigten, daß nach der Entmischungsmethode von Stokes,<sup>5)</sup> Kraus<sup>6)</sup> und Sorby<sup>7)</sup> das Lutein sich als Glied

<sup>1)</sup> J. Borodin, N. A. Monteverde, A. Tschirch u. M. Tswett.

<sup>2)</sup> Ann. d. Chemie, Bd. 355, S. 1 (1907).

<sup>3)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 64, S. 47 (1910).

<sup>4)</sup> Ebenda, Bd. 76, S. 214 (1912).

<sup>5)</sup> (Der Entdecker der Methode) Journ. Chem. Soc., Bd. 17, S. 311 (1864). Siehe dazu R. Willstätter und M. Isler, Ann. d. Chemie, Bd. 390 S. 276.

<sup>6)</sup> Stuttgart b. Schweizerbart (1872).

<sup>7)</sup> Proc. Roy. Soc., Bd. 21, S. 442 (1873).

der Gruppe von Alkohol-löslicheren Xanthophyllen erweist. In derselben Arbeit wurde auch schon angedeutet, daß der Farbstoff des Corpus luteum gemäß dieser Reaktion ein Vertreter der Benzin-leichterlöslichen Kohlenwasserstoffe sei.

Krystalle dieses Pigmentes sind schon vor mehr als 40 Jahren, und zwar etwa zu gleicher Zeit in zwei verschiedenen Laboratorien, beobachtet und beschrieben worden. G. Piccolo und Ad. Lieben<sup>1)</sup> zogen luftgetrocknete Corpora lutea von Kühen mit Äther aus und beobachteten in dem eingeeengten Extrakt glitzernde, rote, dichroitische Kryställchen. Die Trennung von den farblosen Begleitern führten sie teils mit Alkohol, meist aber durch mehrstündiges Verseifen mit kochender Kalilauge und folgendes Verdünnen mit Wasser aus. Die so abgetrennten glänzenden rhombischen Täfelchen lösten sich in Benzin mit gelber, in Äther mit goldgelber, in Chloroform mit tiefgelber Farbe und «mit größter Leichtigkeit in Schwefelkohlenstoff unter Bildung einer intensiv roten Lösung» («con massima facilità nel solforo di carbonio producendo . . . una soluzione intensamente rossa»). Das Pigment konnte bis viermal aus verschiedenen Lösungsmitteln umkrystallisiert werden, und die erhaltenen Krystallformen (siehe Tafel) entsprechen durchaus den von Willstätter und Mieg<sup>2)</sup> beschriebenen: «häufig eingekerbten vierseitigen Blättchen». Die Verfasser beschrieben die intensive Blaufärbung mit konzentrierter Schwefelsäure, das Ausbleichen an der Luft und hielten die neue Substanz, für welche sie den Namen Luteo-Hämatoidin oder Hämo-

<sup>1)</sup> Giornale di scienze naturali ed economiche, Palermo, Bd. 2, S. 258 (1866); abgekürzt: Zeitschr. f. Chemie (Beilstein, Fittig, Hübner), Bd. 4, S. 645 (1868). Obwohl die Publikation im «Giornale» die Arbeit von Holm eingehend würdigt, also erst nach dieser letzteren Veröffentlichung erschienen sein muß, heißt es S. 271 in der Anmerkung: «Schon im September 1865 zeigte der eine von uns den Herren Schiff, Schrön, Mantegazza, Insani und Bellini, welche sich vorübergehend in Palermo aufhielten, die genannten roten Krystalle als neuen, in Äther löslichen Körper» («Già nel settembre 1865 l'uno di noi mostrava ai signori S., S., M., I. e B., che si trovano di passaggio a Palermo, i detti cristalli rossi come nuovo corpo solubile nell' etere»).

<sup>2)</sup> l. c., S. 16 und Fig. II, S. 18.

lutein in Vorschlag brachten, «ebenso sehr verschieden von Hämatoidin, wie von Bilirubin . . ., sei nun das Hämatoidin (von Virchow und Robin) identisch oder nicht identisch mit dem Bilirubin von Städeler» («differente tanto della ematoidina, quanto della bilirubina . . . sia poi l'ematoidina [di Virchow e Robin] identica o non identica colla bilirubina di Städeler»).

Eine eingehende Beschreibung des gleichen Pigmentes lieferte F. Holm<sup>1)</sup> als Mitarbeiter von G. Städeler im Laboratorium des Zürcher Polytechnikums (Sommer 1866). Er extrahierte zerriebene frische Ovarien mit Chloroform und beobachtete in dem eingedunsteten Auszug Farbstoffkryställchen. Obwohl er diese — zwar ohne einen triftigen Grund — a priori als identisch mit Hämatoidin aus apoplektischen Narben anspricht, wird doch der Unterschied von Bilirubin scharf betont. Sehr hübsch beschreibt er seine Krystalle als «bei auffallendem Lichte prachtvoll cantharidengrün mit metallischen Reflexen, bei durchfallendem Lichte rot», ihre «flammenrote» Lösung in Schwefelkohlenstoff, die intensive Blaufärbung mit konzentrierter Schwefelsäure, den indifferenten Charakter dieses Pigmentes. (Aus Chloroformlösung geht nichts in wässriges Alkali!)

Alle diese Autoren erwähnten jedoch nicht die auffällige Übereinstimmung aller Eigenschaften mit dem schon damals von Zeise (1847) und Husemann eingehend beschriebenen Karottenfarbstoff Carotin. Erst J. L. W. Thudichum<sup>2)</sup> erkannte die Zugehörigkeit des Ovarienpigmentes zu der großen Gruppe seiner «Luteine» und sagt S. 225: «Die von Holm und Städeler unter dem Namen Hämatoidin beschriebenen Körper sind nicht Hämatoidin, sondern Lutein» («The bodies described by Holm and Städeler under the name of hematoidin are not hematoidin but luteine»). Mit den Farbstoffkrystallen aus Kuhovarien beschäftigten sich dann ferner noch St. Capranica<sup>3)</sup> in Rom, welcher deren Ausblassen näher beschreibt, und

<sup>1)</sup> Journal f. prakt. Chemie, Bd. 100, S. 142 (1867).

<sup>2)</sup> Proc. Roy. Soc., Bd. 17, S. 253 (1869).

<sup>3)</sup> Archiv für Physiologie (Dù Bois-Reymond), 1877, S. 283.

W. Kühne, der in seinen ausführlichen Beiträgen zur Optochemie<sup>1)</sup> den Farbstoff des Corpus luteum gemäß Spektrum (siehe d. Tafeln) und anderen Eigenschaften dem Carotin sehr ähnlich und beide verschieden von Eiergelb fand.

Die vorliegende Untersuchung machte es sich nun zur Aufgabe, das von farblosen Begleitern getrennte Pigment aus Rinder- und Kuhovarien, das erste tierische Carotin, zur Analyse zu bringen und zu beschreiben. Hierbei stellt sich eine vollkommene Übereinstimmung dieser Substanz mit dem Carotin der Karotte und der grünen Blätter heraus. Bis nicht eine noch eingehendere Arbeit doch vielleicht noch einen Unterschied zwischen den beiden herausfindet, muß deshalb der Farbstoff im Corpus luteum des Rindes als: «Carotin aus Corpus luteum» benannt werden, genau so, wie die Bezeichnung: «Carotin aus Karotten», «Carotin aus Blättern» besteht. Der historisch vielleicht zu rechtfertigende Name von Piccolo und Lieben,<sup>2)</sup> «Luteo-Hämatoidin» oder «Hämolutein», dürfte als zu schwerfällig dahinfallen, und die Bezeichnung «Lutein» ist für das erste rein zur Analyse gebrachte Individuum der Luteine tierischer Herkunft — das Pigment des Dotters im Hühnerei — in der Arbeit von R. Willstätter und H. H. Escher<sup>3)</sup> schon in Anspruch genommen.

### Isolierung.

Leider mußte von einer Verarbeitung frischen Materiales aus praktischen Gründen abgesehen werden; doch darf man wohl bei der relativen Indifferenz dieses Pigmentes eine Identität des im lebenden Gewebe vorhandenen mit dem aus konservierten Ovarien gewonnenen Kohlenwasserstoffe annehmen. Beim Einlegen frischer Ovarien in Alkohol oder Formalin beobachtet man nämlich, wie der Blutfarbstoff schon nach mehr oder weniger kurzer Zeit ausblaßt, während die leuchtend gelbe oder rote Färbung der Corpora lutea noch viele Monate lang bestehen bleibt.

<sup>1)</sup> Untersuchung aus d. physiolog. Inst. d. Univ. Heidelberg, Bd. 4, S. 203—205 (1882).

<sup>2)</sup> l. c., S. 272.

<sup>3)</sup> l. c., S. 217.

Die Extraktion des Pigmentes erfolgte mit Petroläther bei gewöhnlicher Temperatur, nachdem das Fleisch mit hochprozentigem Alkohol entwässert worden war. Der mit Alkohol gewaschene Extrakt wurde dann bei niedrigerer Temperatur eingengt, und nach Fällung des Hauptteiles der farblosen Begleiter krystallisierte der Kohlenwasserstoff aus dem Filtrate direkt in derben, leicht zu isolierenden Kryställchen aus. Die Gewinnung und Verarbeitung der Ovarien wurde folgendermaßen vorgenommen:

Während der kälteren Jahreszeit ließ ich in sieben größeren Schlachthöfen<sup>1)</sup> mehr oder weniger auserlesene Ovarien von Rindern und Kühen in Korbflaschen sammeln, welche mit ca. 60 prozentigem denaturierten Brennsprit<sup>2)</sup> gefüllt waren (Mischung von 70 l ca. 90% Sprit und 30 l Wasser). Je ca. 10 kg (5—700 Stück) auf diese Art konservierter Eierstöcke wurden dann in einer Fleischhackmaschine zu feinem Teige zerkleinert, mittels einer kräftigen Zentrifuge abgeschleudert, mit 3—4 l 95%igem Äthylalkohol angerührt und mehrere Stunden stehen gelassen. Nach abermaligem Zentrifugieren konnte dann das Fleisch (ca. 5 kg) direkt durch Anteigen und mehrstündiges Stehenlassen mit 4—5 l Petroläther (50—70° Siedepunkt) bei Zimmertemperatur extrahiert werden.

Nach Bedarf wurden farbschwache Extrakte durch wiederholten Auszug neuen Fleisches verstärkt, und so erhielt ich — ausgehend von beispielsweise 20 kg Ovarien — nach Absaugen des Breies und kurzem Nachwaschen mit Petroläther 6 l tiefrot-

<sup>1)</sup> Hierbei wurde ich freundlich unterstützt von den Herren: Dr. F. Fritz, Dr. Schellenberg und Dr. Schwarz, Zürich; Dr. Unger, Basel; Dr. F. Meyer, Cöln; Dir. Ehrhardt, Essen a. Rh.; Dir. Berdel, Frankfurt a. M.; Dir. Seyderhelm und Insp. Möckle, Straßburg; Vet.-Amts.-Insp. Himmelbauer und Tierarzt Holzinger, Wien.

<sup>2)</sup> Für künftige Arbeiten sei bemerkt, daß es sich lohnt, nur die mit intensiv gefärbten corp. lutea versehenen Ovarien in verdünntem reinen Sprit sammeln zu lassen; auch wurden die besten Ausbeuten von krystallisiertem Pigment aus Material erhalten, dessen Konservierungssprit noch deutlich Blutfarbe zeigte. Aus Ovarien, die in 3prozentiger Formalinlösung aufbewahrt werden, konnte ich keine Farbstoffkrystalle isolieren.

gelben Doppelsextrakt. Wohl infolge der durch den denaturierten Spiritus hineingebrachten Verunreinigungen (?) eignete sich dieser jedoch noch nicht zum direkten Einengen. Er wurde daher erst nacheinander 7 mal mit je 1 l Methylalkohol (1000 ccm I Kahlbaum + 100 ccm Wasser) gewaschen, wobei ich die untere, nur wenig gefärbte Schicht jedesmal verwarf. Dann wurde der Alkohol durch viermaliges Ansetzen mit je 2 l Wasser entfernt und der Extrakt mit wasserfreiem Natriumsulfat einige Stunden geschüttelt und filtriert. Hierauf konnte er bei einer Außentemperatur von 35° im Vakuum aufs äußerste eingengt werden, ohne daß seine schön rote Farbe ins Bräunliche umschlug. Den entstandenen dicken Sirup (100—300 ccm) versetzte ich unter Schütteln mit der 6—10fachen Menge absoluten Äthylalkohol und bewegte den Kolben während 10—15 Minuten in einer Eiskochsalzmischung, um die Fällung der fettartigen farblosen Begleiter vollständiger zu machen. Dieser gelbliche Brei wurde durch Leinwand abgetrennt — gelindes Auspressen befördert den Vorgang — und dann das tieforange-granatrote Filtrat in den Eisschrank gestellt.

Schon nach kurzer Zeit begann das beim Carotin oft schon beschriebene, aber stets so wunderhübsche metallische Flimmern der anschließenden Krystalle, welche hier in den dunkeln Mutterlaugen käfergrüne Reflexe zeigen. Nach mehrtägigem Stehen konnte man die granatroten, oft 1—2 mm großen, derben, wetzstein- und rautenförmigen Krystalle isolieren und mit einer Mischung von 1 Vol. Petroläther mit 1 Vol. absolutem Äthylalkohol die Reste farbloser Begleiter und eventuell braunen Öles abspülen.

Aus 146 kg (ca. 10 000 Stück) Ovarien wurden so — nach Verarbeitung aller Mutterlaugen — insgesamt 0,45 g Kohlenwasserstoff, also aus 1 kg ca. 0,0031 g, erhalten. Ein kleiner Versuch ganz auserlesener und in reinem 60<sup>o</sup>/oigem Spiritus konservierter Eierstöcke ergab jedoch pro 1 kg die sicher noch zu übertreffende Ausbeute von 0,006 g reinstem Rohprodukt, und dies ist wahrscheinlich wiederum nur ein kleiner Teil des in frischen Ovarien enthaltenen Carotins. Ein Farbstoff der Xanthophyllgruppe wurde nie beobachtet, sondern es lieferten

alle, auch die rein alkoholischen Extrakte, nach systematischer Entmischung zwischen Holzgeist-Petroläther nur rein ober-schichtiges Pigment.

### Reinigung und Analyse.

Das Rohprodukt des Ovarienpigmentes war sehr rein. Die Krystalle zeigten unter dem Mikroskop nur eine ganz geringe Beimischung farbloser Substanz, und auch der Schmelzpunkt lag nur wenige Grad tiefer als bei den reinsten Präparaten. Zu einer orientierenden Analyse wurde dasselbe durch Umkrystallisieren aus Alkohol, dann durch Umscheiden aus Schwefelkohlenstoff mit Alkohol und endlich durch Umkrystallisieren aus Petroläther gereinigt (Präparat I). Auch ein weiteres Umkrystallisieren dieser Probe aus Äther war von keinem Einfluß mehr auf den Schmelzpunkt.

Die Verbrennung ergab: 0,00230 g Substanz I; 0,00757 g  $\text{CO}_2$  und 0,00186 g  $\text{H}_2\text{O}$ .

Berechnet für $\text{C}_{40}\text{H}_{56}$ :	Gefunden:
C = 89,48	89,76
H = 10,52	9,07
Summe 100,00	98,83.

Für die maßgebenden Analysen brachte ich jedoch — der geringen Menge vorhandener Substanz wegen — nur die Reinigung durch Schwefelkohlenstoff-Alkohol und danach Umkrystallisation aus Petroläther zur Anwendung (Präparat II).

0,19 g Rohprodukt wurden in einer kleinen Menge Schwefelkohlenstoff gelöst, filtriert und mit einem Überschuß an absolutem Alkohol gefällt. Im Verlaufe einer Minute schon erschienen die ersten feurig blitzenden Spieße, und durch Umrühren wurde die anfänglich dunkelpurpurne Lösung im Nu erfüllt von golden schimmernden Blättchen. Nach mehrstündigem Stehen hatten sich diese in der nun ganz blaß-gelbrotten Mutterlauge zu Boden gesetzt und konnten isoliert und mit etwas niedrigsiedendem Petroläther gewaschen werden. Die kupfrige kompakte Krystallmasse (0,16 g), an Konsistenz etwa der Stearinsäure vergleichbar, wurde darauf mit einem Spatel fein zerrieben<sup>1)</sup> und mit

<sup>1)</sup> Ganze Krystalle werden von Lösungsmitteln recht langsam angegriffen.

240 ccm Petroläther (spez. Gew. 0,64—0,66) am Rückflußkühler zum Sieden erhitzt. Nach ca. 5 Minuten war klare Lösung eingetreten, und ich engte die heiß filtrierte Flüssigkeit bei einer Außentemperatur von 40° im Vakuum auf die Hälfte ein (der besseren Ausbeute willen), bis die Krystalle erscheinen. Die Ausbeute betrug 0,11 g; der Schmelzpunkt war nur unwesentlich gestiegen und erwies sich bei der Bestimmung im gleichen Bade als identisch mit dem aus Karotten und Blättern dargestellten reinsten Carotin. Unter dem Mikroskop zeigten die orangeroten Täfelchen sehr hübsch ausgebildete quadratische Formen, wie diese von Willstätter und Mieg<sup>1)</sup> für das Carotin beschrieben worden sind, und waren von farblosen Partikelchen ganz frei.

Dieses Präparat (II) wurde direkt zur Analyse gebracht und zwar unter A nach der üblichen Methode. Die Analyse von Präparat I (siehe oben) und B, C, D, E von II wurden jedoch nach der vortrefflichen Methode der Mikro-Elementaranalyse von Fritz Pregl (Innsbruck) gewonnen.<sup>2)</sup>

A	0,0819	g Subst. II	gaben	0,2687	g CO <sub>2</sub>	u.	0,0820	g H <sub>2</sub> O
B	0,00374(5)	»	»	0,01230	»	»	0,00350	»
C	0,00406	»	»	0,01333	»	»	0,00395	»
E	0,00210	»	»	0,00690	»	»	0,00190	»

<sup>3)</sup>

Berechnet für C<sub>40</sub>H<sub>56</sub>:

Gefunden für Präparat II:

	A	B	C	E
C = 89,48	89,48	89,58	89,54	89,61
H = 10,52	11,20	10,46	10,89	10,12
Summe = 100,00	100,68	100,04	100,43	99,73.

<sup>1)</sup> l. c., S. 16 und Fig. 1.

<sup>2)</sup> Ich verdanke diese Mikroanalysen Herrn Prof. Dr. R. Willstätter, der sie gemeinsam mit den Herren M. Fischer und E. Sonnenfeld ausgeführt hat.

<sup>3)</sup> Eine weitere — notwendig fehlerhafte — Analyse D von Präparat II ergab:

0,00314 g Substanz: 0,01050 g CO<sub>2</sub> und 0,00344 g H<sub>2</sub>O.

C = 91,20

H = 12,26

Summe: 103,46

Von einer Bestimmung des Molekulargewichts mußte der geringen Substanzmenge wegen abgesehen werden, doch darf hierfür der für Carotin von Willstätter und Mieg gefundene<sup>1)</sup> und von Willstätter und Escher<sup>2)</sup> bestätigte Wert  $(C_5H_7)_8 = C_{40}H_{56}$  mit größter Wahrscheinlichkeit angenommen werden.

### Beschreibung.

Nach Zusammensetzung und sämtlichen Eigenschaften zeigt der isolierte Kohlenwasserstoff, wie schon oben bemerkt, eine solche Übereinstimmung mit dem durch Willstätter und Mieg<sup>3)</sup> genau beschriebenen reinen Carotin der Karotten und des grünen Blattes, daß gemäß dem heutigen Stand unserer Kenntnisse eine Identität dieser drei Substanzen anzunehmen ist. So wurde z. B. keine Differenz im Schmelzpunkte beobachtet, wie eine solche wahrscheinlich als einziges Unterscheidungsmerkmal der sonst so außerordentlich ähnlichen Pigmente Xanthophyll und Lutein besteht. Zum Vergleiche wurden reine Präparate von Blätter- und Karottencarotin bis zur Konstanz des Schmelzpunktes zwei- und dreimal abwechselnd aus Petroläther und Äther umkrystallisiert. Willstätter und Mieg hatten übereinstimmend mit früheren Literaturangaben den Schmelzpunkt des Carotins zu 167,5—168° (korr.) angegeben. Bei gemeinschaftlichem Erwärmen in demselben Bade fand ich diesmal den Schmelzpunkt von Ovarien-, Karotten- und Blättercarotin — mit Anzeichen von Zersetzung von 169° an — bei ungefähr 173—174° (unkorr.), bestimmt mit einem abgekürzten Normalthermometer. Korrigiert wäre dies also ca. 175°. Es muß aber betont werden, daß je nach der Art des Erhitzens (Dauer, Einführen ins vorgewärmte Bad<sup>4)</sup> usw.) der Schmelzpunkt um mehrere Grade

<sup>1)</sup> l. c., S. 18.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 64, S. 57 (1910).

<sup>3)</sup> Ann. d. Chemie, Bd. 355, S. 1. Vgl. auch: Willstätter und Escher, «Zur Kenntnis des Carotins», Diese Zeitschrift, Bd. 64, S. 56, und H. H. Escher, «Zur Kenntnis des Carotins und des Lycopins», Promotionsarbeit, Zürich, Polytechnikum (1909).

<sup>4)</sup> Vgl. Diese Zeitschrift, Bd. 76, S. 222.

differieren kann und daß es sich um keinen absoluten, sondern nur um einen Vergleichsschmelzpunkt handelt.<sup>1)</sup>

Der Ovarienfarbstoff ist in siedendem Äthylalkohol sehr schwer löslich, doch löst er sich darin — wie vom Carotin angegeben wird — genügend, um beim Abkühlen<sup>2)</sup> aus der recht blassen Mutterlauge (Unterschied von Xanthophyll) in rötlich-weiß-golden schimmernden Blättchen in guter Ausbeute auszukristallisieren. Petroläther (0,64—0,66) erforderte beim Kochen ungefähr 1,5 l, Äther etwas weniger als 1 l pro 1 g zur Lösung; Chloroform und Benzol lösen den Kohlenwasserstoff bedeutend leichter. Alle diese Lösungen zeigen ein mehr oder weniger intensives Goldgelb, das bei den konzentrierteren zu tiefem Orange wird. In Schwefelkohlenstoff ist das Pigment des Corpus luteum spielend löslich und besitzt schon in den größten Verdünnungen eine rein rote Farbe, die bei stärkerer Konzentration in jenes leuchtend tiefe Rot-orange (mit schwachem Stich ins Blaue) übergeht, welches schon den frühesten Beobachtern pflanzlicher und tierischer Carotine aufgefallen ist. Auch in Farbstärke, Tinktion etc. stimmen die Nuancen mit dem Carotin durchaus überein, wogegen z. B. der Kohlenwasserstoff Lycopin — ein dem Carotin in manchen Punkten ähnliches Isomeres — deutliche Unterschiede aufweist. Mit konzentrierter Schwefelsäure erzeugt unser Pigment endlich jene wunderschöne, tief indigoblaue Färbung, welche Reaktion bekanntlich dieser ganzen Klasse von Farbstoffen mit Einschluß der Xanthophylle zukommt.

Krystallisationen des Ovarienfarbstoffes zeigen je nach der Größe der Blättchen die dem Carotin eigentümliche, zwischen Kupfer und Schokolade stehende Farbe mit Reflexen, welche zwischen Metall- und Sammetglanz wechseln. Als Grundform herrscht unter den Krystallen das fast quadratische, meist flache Rhomboeder vor. Weniger gut ausgebildet sind als Blättchen seine Ecken oft abgestumpft, oft wetzsteinförmig

<sup>1)</sup> Auch Herr Prof. R. Willstätter hat mit einem neu dargestellten Präparat aus Karotten und Blättern und mit einem Präparat aus Ovarien die Übereinstimmung des Schmelzpunktes bestätigt.

<sup>2)</sup> Man vermeide längeres Kochen.

und in dieser Form meist zu Rosetten vereinigt;<sup>1)</sup> auch derbe Spieße kommen vor. Der erste Blick durchs Mikroskop läßt dabei stets den rotorangen Kohlenwasserstoff, dessen Farbe in dicken Stücken zu Granatroth wird, von den bräunlichgelben Xanthophyllen unterscheiden.

Die grundlegende Entmischungsreaktion, welche die nur aus Kohlenstoff und Wasserstoff bestehenden Substanzen von den sauerstoffhaltigen Xanthophyllen zu unterscheiden erlaubt, möge hier an der Hand der Pigmente, welche bisher hauptsächlich von R. Willstätter und seinen Schülern näher untersucht wurden, einmal zusammengestellt werden.

#### Kohlenwasserstoffe, rot

(gehen bei Entmischung in die obere petrolätherische Schicht).

Formel:  $C_{40}H_{56}$

1. a Carotin aus Karotten.
- b        "       Blättern.
- c        "       Ovarien.
2. Lycopin aus Tomaten.
3. <sup>2)</sup>

#### Sauerstoffhaltig, gelb

(gehen bei Entmischung in die untere alkoholische Schicht).

Formel:  $C_{40}H_{56}O_2$

1. Xanthophyll aus Blättern.
2. Lutein aus Hühner-Eidotter.

Das Absorptionsspektrum des Ovariencarotins ist identisch mit dem aus Karotten gewonnenen. Ich konnte mit dem mir von Herrn Prof. R. Willstätter zur Verfügung gestellten Löweschen Gitterspektroskope im Vergleich mit frisch umkrystallisiertem Karottencarotin<sup>3)</sup> folgendes bestimmen:

Ovarienfarbstoff in Alkohol 0,01 g in 2 l.

Schichtendicke:	5 mm	10 mm
Band I	493 — — 478	493 — 476
" II	460 — — 446	459 — 444,5
	414 — Endabs.	417 — Endabs.

<sup>1)</sup> Vgl. hierzu die zwar nicht absolut naturgetreuen farbigen Tafeln. Diese Zeitschrift, Bd. 64.

<sup>2)</sup> Gemäß noch zu erweiternden Vorversuchen gehört u. a. wahrscheinlich auch der Farbstoff des gelben Fettes in die Kohlenwasserstoffgruppe.

<sup>3)</sup> Vgl. hierzu W. und E., Diese Zeitschrift, Bd. 64, S. 54, und Bd. 76, S. 224.

## Karottenfarbstoff in Alkohol 0,01 g in 2 l.

Schichtendicke:	5 mm	10 mm
Band I	492,5 — — 477	493 — 476
II	460 — — 446	459 — 445
	414,5 — Endabs.	418 — Endabs.

## Ovarienfarbstoff in Schwefelkohlenstoff 0,01 g in 2 l.

Schichtendicke:	10 mm	20 mm	40 mm
Band I	526 — — 512	532,5 — — 527 — 508	542 — — 536
II	488 — — 475	..489 — 471	— 440 — —
	Endabs.	..Endabs.	Endabs.

## Karottenfarbstoff in Schwefelkohlenstoff 0,01 g in 2 l.

Schichtendicke:	10 mm	20 mm	40 mm
Band I	526 — — 511	533 — — 527,5 — 508	541 — — 535,5
II	488 — — 475	..488 — 472	— 439,5 — —
	Endabs.	..Endabs.	Endabs.

## Autoxydation.

Eine Probe Ovarienfarbstoff wurde durch Umfällen mit Alkohol aus Schwefelkohlenstofflösung gereinigt, fein pulverisiert und bis zur Konstanz im Vakuum über Kohlensäure gehalten. Diese 0,0519 g nahmen dann in 22 Tagen in einem  $\text{CaCl}_2$ -Exsikkator, der alle paar Tage mit Sauerstoff gefüllt wurde, um 0,0194 g = 37,38% zu, welcher Wert über Phosphorpentoxyd auf 36,09% herunterging. Hierbei bleichte die Substanz zu einem graugelben, alkoholleichtlöslichen Pulver aus. Die Analyse ergab:

Angewendet 0,0634 g Substanz, 0,1437 g  $\text{CO}_2$ , 0,0431 g  $\text{H}_2\text{O}$ . Der Gewichtszunahme von 36,09% bei einfacher Sauerstoffaddition würde entsprechen:

		Gefunden:
C	65,75	61,82
H	7,73	7,61
O	26,52	(30,57).

Es hat also während der Autoxydation auch hier, wie beim Karottencarotin, eine Verflüchtigung Kohlenstoff-Wasserstoff-

haltiger Substanz stattgefunden, wo eine Zunahme von 34,3, 34,00, 35,61, 35,28 und 35,08% in trockenem Sauerstoff beobachtet wurde.<sup>1)</sup> Die Analyse ergab dort: 62,97% C, 7,67% H, (29,36)% O.

### Jodid.

Von Carotin ist ein Di- und ein Trijodid<sup>2)</sup> beschrieben worden. Bei der geringen Menge zur Verfügung stehenden Ovarienpigmentes wurde der guten Ausbeute wegen die Darstellung des Trijodides gewählt. 0,10 g durch Schwefelkohlenstoffalkohol gereinigter Kohlenwasserstoff wurde in 10 ccm Schwefelkohlenstoff gelöst und dazu 0,033 g Jod — in Schwefelkohlenstoff gelöst — langsam zugetropft. Nach mehrstündigem Stehen im Eisschrank wurde der käferviolette, lockere Krystallfilz isoliert und gehörig mit Schwefelkohlenstoff gewaschen. Das Mikroskop zeigte die für das Carotintrijodid beschriebenen breiten Wetzsteinformen neben viel unausgebildeten Krystallen, die alle in der Durchsicht hellblaugrau erschienen. Der Schmelz-, besser Sinterungspunkt wurde bestimmt zu 133,5 — 135° (unkorr.)<sup>3)</sup>

0,0692 g gaben 0,0520 g AgJ (nach Carius).

Berechnet für  $C_{40}H_{56}J_3$ :

J = 41,50

Gefunden:

40,61

### Schlußbemerkungen.

Was dieser in der Pflanzenwelt so weitverbreitete ungesättigte Terpenkohlenwasserstoff Carotin in der als Organ der inneren Sekretion so wichtigen Drüse des Corpus luteum zu tun hat, darüber dürfen eigentlich noch keine Vermutungen geäußert werden. Die Arnaud-Willstättersche Hypothese von der Sauerstoffübertragung — Atmung<sup>4)</sup> — des Carotins ( $C_{40}H_{56}$ ) und des Xanthophylls ( $C_{40}H_{56}O_2$ ) neben der Assimilationstätigkeit der Chlorophylle hat sicher für die Pflanze hohe

<sup>1)</sup> W. und E., Diese Zeitschrift, Bd. 64, S. 57.

<sup>2)</sup> Ebenda, S. 58.

<sup>3)</sup> W. u. E., l. c. S. 59, fanden für Carotintrijodid F. P. 136—137°.

<sup>4)</sup> Compt. rend., Bd. 109, S. 911, 913 (1889); Ann. d. Chemie, Bd. 355, S. 10 (1907).

Bedeutung. Daß das ebenfalls sauerstoffgerige Lutein ( $C_{40}H_{56}O_2$ ) im Dotter des Eies vor Entstehung des Hämoglobins im Embryo vielleicht die vorläufige Rolle eines atavistischen «Pflanzenatmungspigmentes» spiele, wäre in Übereinstimmung mit den Stoffwechseluntersuchungen von Ch. Bohr und K. A. Hasselbalch<sup>1)</sup> am Hühnerei noch denkbar.

In bezug auf den Farbstoff des Corpus luteum steht aber der Literatur nach zu urteilen, noch nicht einmal fest, ob dies wirklich eine von den spezifischen Drüsenzellen produzierte Substanz, oder nur ein aus Blutextravasaten entstandenes, erst sekundär von den Zellen resorbiertes Pigment — also Hämatoidin oder ein dem Hämatoidin ähnlicher Stoff — ist. Freilich erscheint es nach den heutigen Kenntnissen als das Wahrscheinlichste, die Existenz eines genuinen intracellulär entstandenen Drüsenpigmentes anzunehmen, und es wäre das gelegentliche Vorkommen von — anfänglich sicher intercellulärem — Hämatoidin davon scharf zu trennen. Dafür, daß der Farbstoff des Corpus luteum nicht mit Hämatoidin und Bilirubin identisch sei, haben sich schon Piccolo mit Lieben<sup>2)</sup> und Holm (dieser allerdings nur für das letztere) in sehr überzeugender Weise ausgesprochen.

Die Prüfung dieser Fragen, also das eventuelle Vorkommen der beiden Pigmente im Ovarium nebeneinander, histologisch und chemisch nochmals zu untersuchen, möchte ich mir gerne für eine künftige Publikation vorbehalten.

Zum Schlusse liegt mir noch die angenehme Pflicht ob, meinem Lehrer, Herrn Professor R. Willstätter, für die Förderung, die er meiner Arbeit zuteil werden ließ, meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen, ebenso der Heidelberger Akademie der Wissenschaften ((Stiftung Lanz), die meine Untersuchung durch einen Beitrag unterstützt hat, wie auch dem Präsidenten des schweiz. Schulrates, Herrn Prof. Dr. Rob. Gnehm, der mir einen Beitrag der Albert Barth-Stiftung in Zürich vermittelte.

<sup>1)</sup> Skand. Arch. f. Physiol., Bd. 10, S. 353 (1900) usw.

<sup>2)</sup> Giornale, S. 269 ff.