

Die NMR.-Spektren wurden mit einem VARIAN-Spektrometer HA-100 (MHz) bei einer Mess-temperatur von 27°C unter zusätzlicher Kalibrierung des frequency sweep mit einem Frequenz-zähler auf $\pm 0,1$ Hz aufgenommen. Die Konzentration der Substrate war 0,2 M, bei den Steroiden 0,1 M. Die Genauigkeit der $\Delta_{C_6H_6}^{CCl_4}$ -Werte beträgt $\pm 0,002$ ppm. Weitere Einzelheiten sind unter [2] beschrieben.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] J. K. BECCONSALL, T. WINKLER & W. VON PHILIPSBORN, Chem. Comm., im Druck.
- [2] T. WINKLER & W. VON PHILIPSBORN, *Helv.* 51, 183 (1968).
- [3] J. K. BECCONSALL, *Mol. Physics* 15, 129 (1968).
- [4] T. LEMAAL, *Tetrahedron Letters* 1968, 1683.
- [5] a) D. H. WILLIAMS & D. A. WILSON, *J. chem. Soc. (B)* 1966, 144. – b) M. FÉTIZON & J. C. GRAMAIN, *Bull. Soc. chim. France* 1966, 3444. – c) M. FÉTIZON, M. GOLFIER & J. C. GRAMAIN, *ibid.* 1968, 275. – d) P. C. CHERRY, W. R. T. COTTRELL, G. D. MEAKINS & E. E. RICHARDS, *J. chem. Soc. (C)* 1967, 181. – e) B. HAMPTEL & J. M. KRAEMER, *Tetrahedron* 22, 1601 (1966).
- [6] R. G. WILSON, D. E. A. RIVETT & D. H. WILLIAMS, *Chemistry & Ind.* 1969, 109.
- [7] J. RONAYNE & D. H. WILLIAMS, *J. chem. Soc. (B)* 1967, 540.
- [8] R. C. FORT & T. R. LINDSTROM, *Tetrahedron* 23, 3227 (1967).
- [9] R. G. WILSON & D. H. WILLIAMS, *J. chem. Soc. (B)* 1968, 1163; P. DIEHL, *J. Chim. physique* 1964, 199.
- [10] E. BUCHTA & K. GEIBEL, *Liebigs Ann. Chem.* 648, 36 (1961); 678, 53 (1964).

89. Beitrag zur Charakterisierung der Lipide aus den Linsen einiger Säugetiere¹⁾²⁾

von Karl Bernhard, Peter Lesch und Hans-Rudolf Greub

Physiol.-Chem. Institut der Universität Basel

(20. II. 69)

Summary. Total lipids from the lenses of pigs, calves, cattle and fin whales have been separated into different fractions. Their lipid content seems to be the lowest of all organs. The predominant lipid classes are cholesterol, ethanamine cephalines, and sphingomyelines. The analysis of the fatty acids after saponification showed differences in the content of the main components depending on the source of the material. In all cases 5–7% hydrocarbons were found which are probably of alimentary origin and are deposited in the lens.

Die chemische Zusammensetzung der Linsen menschlicher und vor allem tierischer Augen war Gegenstand zahlreicher Untersuchungen [1].

Wir haben aus Linsen von Schweinen, Kälbern, Rindern und Finnwalen die Lipide gewonnen. Deren Gehalt beträgt (Tabelle 1) bezogen auf das Frischgewicht rund 0,5% und liegt damit unter demjenigen der Erythrocyten. Die Linse ist wohl das Organ mit dem niedrigsten Lipidgehalt und ist auch wenig wasserhaltig. Der festgestellte Wassergehalt entspricht für Kälber- und Rinderlinsen den Angaben der Literatur. Er ist für die Linse des Finnwals, die wohl chemisch noch nicht untersucht wurde, etwas niedriger (54%) als bei den genannten Nutztieren. Bezuglich des Frisch-

¹⁾ Vorgetragen anlässlich der Tagung der Schweiz. Ges. für Biochemie in Genf, 27. Mai 1967. – Die Untersuchungen erfolgten mit Unterstützung des SCHWEIZ. NATIONALFONDS.

²⁾ Herrn Prof. Dr. F. RINTELEN, Direktor des Augenklinikums in Basel, gewidmet.

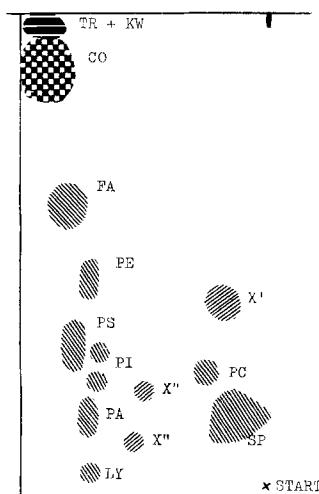
Tabelle 1. *Linsen-Gewicht, Trockengewicht und Gehalt an Gesamt-Lipiden*

	Schwein	Kalb	Rind	Finnwal	
				I	II
Frischgewicht g	0,49	2,08	2,05	3,9	3,84
Trockengewicht % *)	31,9	35,4	37,3	44,3	46,0
Reinlipide					
% bezogen auf Frischgewicht	0,50	0,35	0,45	0,5	0,52
% bezogen auf Trockensubstanz	1,57	1,00	1,20	1,13	1,13

*) bezogen auf Frischgewicht

gewichtetes besteht bei Kalb und Rind Übereinstimmung. Schweinelinsen sind leichter, diejenigen des Finnwales bedeutend schwerer.

Die Auftrennung der durch Extraktion des zerkleinerten Materials mit Chloroform-Methanol erhaltenen Lipide durch zweidimensionale Dünnschichtchromatographie liess die aus der Figur ersichtlichen Fraktionen, nämlich Triglyceride, freie Fettsäuren, Lecithine, Colamin-Kephaline, Serin-Kephaline, Phosphatidyl-Inositole, Phosphatidsäuren, Sphingomyeline, Lysolecithine, Cholesterin, Kohlenwasserstoffe erkennen. Cerebroside fanden wir nicht. Bei den Flecken X¹ und X² handelt es sich vielleicht um



Zweidimensionales Dünnschichtchromatogramm von Lipiden aus Säugetier-Linsen

Sorbens: Kieselgel GF 254 MERCK
 Fließmittel: (1) vertikal: Chloroform/Methanol/Wasser/Eisessig = 65/25/3/1 v/v
 (2) horizontal: Butanol/Eisessig/Wasser = 60/20/20 v/v
 Reagenz: Rhodamin B alkalisch und Antimon(III)-chlorid
 TR = Triglyceride, KW = Kohlenwasserstoffe, CO = Cholesterin, FA = freie Fettsäuren, PE = Colaminkephalin, PS = Serinkephalin, PC = Lecithin, PI = Phosphatidyl-Inositole, PA = Phosphatidsäuren, SP = Sphingomyelin, LY = Lysolecithin; X' = unbekannt, Rhodamin-negativ; X'' = unbekannt, Rhodamin-positiv

Tabelle 2. *Prozentuale Zusammensetzung der Reinlipide aus den Linsen*

Fraktionen	Schwein	Kalb	Rind	Finnwal	
				I	II
Triglyceride	2,3	5,3	2,2	4,4	4,7
Cholesterin	18,7	26,0	22,1	21,6	22,2
Lecithine	9,9	10,1	11,1	8,4	8,6
Colaminkephalin	21,6	19,4	22,8	17,6	16,8
Sphingomyeline	35,7	18,9	24,1	26,7	26,5
Kohlenwasserstoffe	4,7	7,0	3,8	5,1	4,3
nicht aufgeklärt	6,4	13,2	13,9	16,1	16,8

Ganglioside und Cardiolipin [2]. Die quantitative Isolierung erfolgte nach den von uns früher beschriebenen Methoden [3]. Die Ergebnisse (s. Tabelle 2) lassen erkennen, dass 38–57% der Reinlipide aus Colamin-Kephalinen und Sphingomyelin bestehen. Letztere sind in den Schweinelinsen am reichlichsten anzutreffen (35,7%). Rinderlinsen enthalten mehr als Kälberlinsen, was an eine altersbedingte Anreicherung denken liesse. Der Lecithingehalt beträgt rund die Hälfte desjenigen der Colamin-Kephaline. Triglyceride sind nur geringfügig vorhanden. Cholesterin beteiligt sich zu ca. 20% an den Gesamtlipiden. In den Kälberlinsen sind es 26%, ein Unterschied, der vielleicht altersbedingt ist, enthalten doch jugendliche Hirne auch mehr Cholesterin als ältere. Überraschend ist die Gegenwart merklicher Mengen (ca. 5%) von Kohlenwasserstoffen, da solche in tierischen Organen kaum nachweisbar sind. Wir haben früher [4] im Falle einer Lipoidpneumonie aus Lungenbezirken Mineralöl isoliert.

Die einzelnen Fraktionen wurden zur Gewinnung der Fettsäuren verseift und diese als Methylester gas-chromatographiert.

Die Fettsäuren aus den Triglyceriden (Tabelle 3) zeigten hinsichtlich ihrer Hauptkomponenten Palmitin- und Stearinsäure gewisse Unterschiede. So beträgt der Stearinsäuregehalt der Kälberlinse nur 10, der der übrigen Linsen 21–27%. Am wenig-

Tabelle 3. Prozentuale Zusammensetzung der Fettsäuren aus den Triglyceriden (% Methylester)

Säure	Schwein	Kalb	Rind	Finnwal	
				I	II
10:0	1,1	0,2	0,1	1,0	1,3
12:0	2,1	0,9	0,1	2,0	2,4
14:0	10,2	7,2	2,0	7,2	9,8
14:1	2,1	4,2	0,8	1,7	2,2
15:0	0,7	3,0	0,8	0,5	0,4
15:1	0,7	0,5	0,2	1,0	0,5
16:0	21,8	23,3	17,6	22,7	18,6
16:1	3,1	13,3	4,6	4,6	4,2
17:0	2,4	3,6	1,4	1,0	1,8
17:1	1,0	1,9	0,7	1,0	1,8
18:0	26,4	10,4	21,4	27,6	26,5
18:1	13,3	15,6	25,3	14,5	13,0
18:2	2,9	2,7	19,9	2,1	2,0
20:0	0,1	1,3	0,3	< 0,1	< 0,1
20:1	2,0	2,2	1,3	2,0	1,8
20:2	1,5	2,2	0,9	1,4	1,8
20:3	1,1	0,9	0,2	1,6	2,2
20:4	5,7	1,2	1,6	4,6	5,4
22:3	0,6	0,7	0,2	1,2	2,2
22:4	0,5	2,7	0,2	0,2	< 0,1
22:5	0,3	0,2	0,1	0,5	0,4
22:6	0,5	0,9	0,2	0,3	0,4
ges.	64,7	49,9	43,7	63,0	61,7
einfach	22,2	37,7	32,9	24,8	23,5
unges.					
Polyen	13,1	12,4	23,4	12,2	14,8

Tabelle 4. Prozentuale Zusammensetzung der Fettsäuren aus den Lecithinen (% Methylester)

Säure	Schwein	Kalb	Rind	Finnwal	
				I	II
14:0	0,9	5,9	3,9	9,0	8,9
15:0	0,2	0,6	0,6	0,3	0,4
16:0	24,8	53,2	52,3	38,3	36,1
16:1	4,0	4,5	5,0	6,1	5,8
18:0	11,1	5,0	6,7	6,0	6,9
18:1	40,5	27,5	27,6	34,0	36,0
18:2	0,3	0,3	0,2	0,1	0,1
20:0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
20:1	2,2	1,8	2,0	2,6	2,1
20:2	0,7	0,1	0,3	0,3	0,4
20:3	2,2	0,2	0,6	1,4	1,4
20:4	1,0	0,2	0,4	0,3	0,2
22:3	12,0	0,7	0,3	0,9	1,2
gesätt.	37,1	64,7	63,6	54,0	52,0
einf.					
unges.	46,7	33,8	34,6	42,7	43,9

sten Myristinsäure finden wir in den Rinderlinsen, die indessen einen hohen Linolsäuregehalt aufweisen.

Die Lecithine (Tabelle 4) bestehen vor allem aus Palmitin- und Ölsäure im Ausmasse von mehr als 50% (Kalb und Rind). Die Schweinelinse enthält am meisten Ölsäure und eigenartigerweise 12% Docosatriensäure, welche in den Lecithinen kaum vorkommt.

Die Colamin-Kephaline weisen als hauptsächlichste Komponenten Palmitin-, Stearin- und Ölsäure (Tabelle 5) auf, Schweinelinsen enthalten 7,6% Myristin-, Wal-Linsen 6–8% Arachidonsäure. Im Gegensatz zu den Hirn-Colaminkephalinen sind Polyenfettsäuren mit mehr als 22 C-Atomen kaum vorhanden.

Aus Tabelle 6 geht hervor, dass auch für die Fettsäurezusammensetzung der Sphingomyeline Unterschiede bestehen. So enthalten die Linsen des Finnwals in annähernd gleichem Masse Palmitin- und Nervonsäure, während letztere in der

Tabelle 5. Prozentuale Zusammensetzung der Fettsäuren aus den Colamin-Kephalinen (% Methylester)

Säure	Schwein	Kalb	Rind	Finnwal	
				I	II
12:0	1,3	0,5	3,0	0,4	0,4
14:0	7,6	2,9	1,9	1,9	1,1
15:0	0,3	3,1	0,2	0,4	0,2
16:0	23,8	20,3	14,5	18,8	14,5
16:1	4,8	4,5	2,4	3,6	3,4
18:0	8,0	8,8	16,0	10,1	14,8
18:1	39,2	49,8	50,9	47,5	49,3
18:2	0,3	1,0	0,5	0,5	0,2
20:1	0,1	3,0	0,2	0,4	0,7
20:2	1,7	1,0	2,7	3,3	3,3
20:3	1,3	1,4	1,1	1,0	0,9
20:4	5,0	1,6	2,6	8,1	6,2
22:3	3,8	1,1	2,3	1,8	1,8
22:5	2,3	0,7	0,4	0,9	0,7
gesätt.	41,3	35,9	35,8	31,9	31,7
einfach	44,0	57,3	53,5	51,5	53,4
unges.					
Polyen	14,7	6,8	10,7	16,6	14,9

Tabelle 6. Prozentuale Zusammensetzung der Fettsäuren aus den Sphingomyelinen (% Methylester)

Säure	Schwein	Kalb	Rind	Finnwal	
				I	II
12:0	0,2	0,1	0,1	0,8	0,3
14:0	6,8	0,8	1,8	2,3	1,9
15:0	0,9	0,1	0,3	0,9	0,4
16:0	36,8	25,0	29,2	36,6	38,6
16:1	4,6	0,7	1,3	1,2	1,1
17:0	0,4	0,2	0,2	0,5	0,5
18:0	6,3	2,8	4,6	4,1	4,3
18:1	15,6	2,6	6,2	3,3	3,8
20:0	3,1	0,5	0,7	2,7	3,4
20:1	3,1	0,6	1,4	1,1	0,8
22:0	5,8	3,4	3,8	3,4	3,8
22:1	4,1	6,3	6,8	1,1	1,3
23:0	1,0	2,3	1,2	0,6	0,3
24:0	1,0	2,8	0,9	2,7	1,4
24:1	9,9	51,8	41,5	38,5	38,6

Schweinelinse bei gleichbleibendem Palmitinsäuregehalt nur mit 10% vorkommt. Kälber- und Rinderlinsen enthalten mehr Nervonsäure (52 und 42%) als Palmitinsäure (25 und 29%), während bei den Sphingomyelinen des Hirns die Stearininsäure Hauptkomponente der gesättigten Säuren darstellt. Säuren mit mehr als 24 C-Atomen scheinen nicht vorzuliegen.

Die Charakterisierung der Kohlenwasserstoff-Fraktionen gelang nur annähernd und nicht quantitativ³⁾. Die folgenden Angaben basieren nach dem Vorschlag von

³⁾ Die Gas-Chromatographic der Kohlenwasserstoffe erfolgte im UNILEVER RESEARCH LABORATORY in Vlaardingen. Wir danken Herrn J. H. RECOURT für seine wertvolle Hilfe bestens.

WOODFORD & VAN GENT [5] auf dem Begriff der «äquivalenten Kettenlängen (carbon number)». Die Kohlenwasserstoffe aus den Kälberlinsen bestanden zu etwa 70% aus solchen mit 13–34 C-Atomen ohne Kettenverzweigung. Es liessen sich zwei homologe Reihen $C_{13,4}$ – $C_{32,4}$ bzw. $C_{13,7}$ – $C_{32,7}$ feststellen. Eine weitere homologe Reihe $C_{18,8}$ – $C_{32,8}$ ist sehr wahrscheinlich. Eine genaue Abklärung scheiterte aber am ungenügenden Trennungsvermögen der verwendeten Säule. Die Fraktionen aus den Schweine-, Rinder- und Wal-Linsen sind einander ähnlich, weisen indessen eine vielfältige Zusammensetzung auf. Die Anwesenheit von Paraffinen mit 16–37 C-Atomen ist gesichert. Auch hier wurden die homologen Reihen $C_{n+0,3}$ und $C_{n+0,7}$ nachgewiesen. Möglicherweise ist auch eine solche $C_{n+0,8}$ vorhanden. Unverzweigte Ketten lagen erst ab C_{29} in nennenswerten Mengen vor. Längere Ketten als C_{37} sind wahrscheinlich. In den Kohlenwasserstoffen aus Schweine-, Rinder- und Finnwal-Linsen waren am stärksten $C_{18,7}$ und $C_{18,8}$ vertreten. Beim Schwein wurde auch C_{31} gefunden mit einem Anteil von ca. 15% des Gesamtgemisches.

Wie früher gezeigt wurde [6], können Kohlenwasserstoffe mit 14–18 C-Atomen und auch Nonacosan [7] im Tierkörper (Ratte) in Fettsäuren umgewandelt werden. Die Resorption solcher Verbindungen lässt sich durch Analyse der Lymphe von Ratten mit *Ductus-thoracicus*-Fistel verfolgen [8].

Die von uns aufgefundenen Kohlenwasserstoffe stammen sicher aus der Nahrung und gelangten auf Grund ihrer Permeabilitäts-Eigenschaften in die Linsen, wo sie zur Ablagerung kamen. KUKSIS [9] hat sowohl in rohen als raffinierten Mais-, Baumwollsamen-, Sojabohnen- und Weizenkeimling-Ölen usw. gesättigte, gerad- und ungeradzahlige Kohlenwasserstoffe nachgewiesen.

Experimentelles. – Wir haben insgesamt 70 Linsen von Schweinen, 31 von Kälbern, 38 von Rindern und je zweimal 14 von Finnwalen aufgearbeitet. Die Gesamtgewichte betrugen 34,2, 64,6, 77,9, 54,6 und 53,8 g. Die Beschaffung erfolgte aus dem hiesigen Schlachthof bzw. durch eine Walstation in New Foundland⁴⁾.

Die unmittelbar nach der Tötung entfernten Linsen wurden kurze Zeit bei –30° aufbewahrt und dann portionenweise im Homogenisator zerkleinert und mit etwa dem 20-fachen Volumen Chloroform-Methanol 2:1 übergossen. Nach 24-stündigem Stehen bei Zimmertemperatur wurde das Lösungsmittel abgetrennt und der Rückstand nochmals 24 Std. in Chloroform-Methanol belassen. Damit gelang eine weitgehend quantitative Extraktion der Lipide, welche nach Abdampfen des Lösungsmittels und Abspaltung der Eiweiße durch Hitzekoagulation einigermassen rein vorlagen. Die Auftrennung erfolgte durch Dünnschicht-Chromatographie bzw. quantitativ an Silicagelkolonnen nach bereits mitgeteilten Verfahren [10]. Zur gas-chromatographischen Analyse der Fettsäure-methylester-Gemische diente eine Polyäthylenglykol-Bernsteinsäureester-Kolonne. Für die Gas-Chromatographic der Kohlenwasserstoff-Gemische gelangte eine Kolonne aus Apiezon L (0,5%) auf Chromosorb G zur Anwendung. Die Elementaranalyse des Kohlenwasserstoff-Gemisches ergab 85,91 bzw. 85,86% C und 13,88 bzw. 14,12% H.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] H. SÜLLMANN in FLASCHENTRÄGER & LEHNARTZ, «Physiologische Chemie», Bd. II/2a, S. 881, Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1956.
- [2] F. KLEIN & P. MANDEL, Cr. Soc. Biol. 158, 1592 (1964); S. E. BROLIN, Acta chem. scand. 12, 110 (1958); G. L. FELDMAN, Lipids 1, 161 (1966).
- [3] P. LESCH & K. BERNHARD, Helv. 51, 652 (1968).

⁴⁾ Wir verdanken der SANDOZ-STIFTUNG ZUR FÖRDERUNG DER MEDIZINISCH-BIOLOGISCHEN WISSENSCHAFTEN die Beschaffung dieses Materials.

- [4] K. BERNHARD & F. LINDLAR, *Acta anatomica* 30, 92 (1957).
- [5] F. P. WOODFORD & C. M. VAN GENT, *J. Lipid Res.* 1, 188 (1960).
- [6] D. STETTEN, *J. biol. Chemistry* 147, 327 (1943); K. BERNHARD, U. GLOOR & E. SCHEITLIN, *Helv.* 35, 1908 (1952).
- [7] P. E. KOLATTUKUDY & L. HANKIN, *J. Nutrition* 90, 167 (1966).
- [8] K. BERNHARD, U. GLOOR & E. SCHEITLIN, *Z. physiol. Chem.* 299, 235 (1955).
- [9] A. KUKSIS, *Biochemistry* 3, 1086 (1964).
- [10] P. LESCH & K. BERNHARD, *Helv.* 51, 652 (1968).

90. Crocetindialdehyd und Crocetinhalbdehyd als Blütenfarbstoffe von *Jacquinia angustifolia*

von C. H. EUGSTER, H. HÜRLIMANN¹⁾ und H. J. LEUENBERGER

Organisch-chemisches Institut der Universität Zürich, Rämistrasse 76, 8001 Zürich

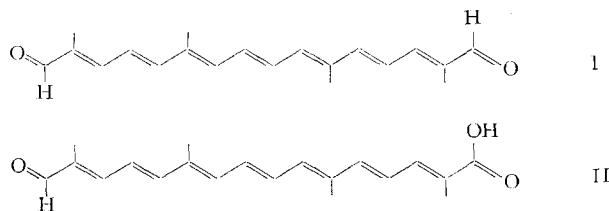
(14. III. 69)

Zusammenfassung. Crocetindialdehyd und Crocetinhalbdehyd wurden aus den Blüten von *Jacquinia angustifolia* isoliert.

Jacquinia angustifolia OERST. (*Theophrastaceae-Primulales*), ein 2-4 m hoher Strauch, kommt in Trockenwäldern auf der gegen den Stillen Ozean gerichteten Abdachung der «Cordillera de Guanacaste» sowie auf der Halbinsel Nicoya in Costa Rica vor. Seine scharlachroten Blüten behalten ihre Farbe nach dem Trocknen noch jahrelang. Blühende Zweige werden aus diesem Grunde von der lokalen Bevölkerung oft als Dauerschmuck verwendet («Siempreviva»).

Diese Pflanze ist unseres Wissens noch nicht chemisch untersucht worden.

Die Farbstoffe haften in den getrockneten Blütenblättern²⁾ sehr stark und lassen sich auch mit Eisessig oder Pyridin nur langsam herauslösen³⁾. Die in bedeutender Menge erhaltenen Extraktivstoffe haben wir bisher nur auf Farbstoffe untersucht. Die chromatographische Trennung an Polyamidsäulen (Eisessig-Wasser 1:1) ergab als Hauptfarbstoff *trans*-Crocetindialdehyd (I) (erhalten ca. 320 mg aus 1 kg trockenen Blüten). Als Nebenfarbstoff wurde *trans*-Crocetinhalbdehyd (II) erhalten.



¹⁾ CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel.

²⁾ Gesammelt durch Herrn ing. agr. W. HAGNAUER, Februar 1962 auf dem Gelände der Farm «La Pacifica» bei Las Cañas, Provinz Guanacaste, Costa Rica. Die Aufarbeitung erfolgte in Zürich im Juni 1966.

³⁾ Wir führen diese Erscheinung auf den ausgeprägt substantiven Charakter des Crocetindialdehyds zurück.