

Mitteilung aus dem Chemischen Laboratorium der Universität Bern

## Zur Konstitution des *Lycopodium*-Sporonins, des Tasmanins und des Lange-Sporonins

### XI. Mitteilung über die Membran der Sporen und Pollen

Von **Fritz Zetzsche, Paul Kalt, Johanna Liechti  
und Etienne Ziegler**

(Eingegangen am 19. April 1937)

Nach den bisherigen Untersuchungen hatte sich über die Konstitution der Sporopollenine ergeben, daß sie ungefähr der Bruttoformel  $(C_{10}H_{16}O_3)_x$  entsprechen. Auf Grund einer größeren Anzahl von Analysen wählten wir das 9-fache dieser Formel als Betrachtungsgrundlage. Die auf dieser Grundlage aufgestellten Formeln bewegen sich zwischen  $C_{90}H_{134}O_{20}$  für Secale cereale-Pollenin und  $C_{90}H_{150}O_{33}$  für das Pollenin von Phoenix dactylifera in bezug auf den Wasserstoffgehalt und zwischen  $C_{90}H_{134}O_{20}$  für Secale cereale-Pollenin und  $C_{90}H_{148}O_{31}$  für das Pollenin von Ceratozamia mexicana in bezug auf den Sauerstoffgehalt. Vom Sauerstoffgehalt ließ sich ein Drittel bis die Hälfte als Hydroxylsauerstoff durch Acetylierung nachweisen. Secale cereale  $C_{90}H_{127}O_{13}(OH)_7$  wies den geringsten und *Lycopodium*-Sporonin  $C_{90}H_{127}O_{12}(OH)_{15}$  den höchsten Hydroxylgehalt auf. Der restliche Sauerstoff muß auf Grund seines indifferenten Verhaltens bis auf weiteres als Äthersauerstoff angesehen werden.

Weiter in den Aufbau der Sporopollenine einzudringen, war uns trotz mannigfacher Bemühungen nicht gegückt. Besonders lieferten alle Versuche auf oxydativem Wege, etwa mit Permanganat, Salpetersäure verschiedener Konzentration, Schwefelsäure und Wasserstoffperoxyd, Chromsäure neben Oxalsäure und Kohlendioxyd nur geringfügig unverwertbare Spaltprodukte.

Da auf Grund der Bruttoformel eine Verwandtschaft mit den Terpenen vermutet werden konnte, sollte sich nach der Bestimmungsmethode von Kuhn und L'Orsa<sup>1)</sup> eine größere Anzahl C-Methylgruppen nachweisen lassen. Wir haben nach dieser Methode nun folgende Werte erhalten:

Sporopollenine	Übersichts-formel	Anzahl C-Methyl pro Mol	g Essigsäure auf 100 g
<b>a) rezente:</b>			
Lycopodium clav...	C <sub>90</sub> H <sub>142</sub> O <sub>17</sub>	2,04	7,5
Ceratozamia mex...	C <sub>90</sub> H <sub>148</sub> O <sub>31</sub>	4,08	14,1
Taxus baccata . . .	C <sub>90</sub> H <sub>138</sub> O <sub>26</sub>	2,74	10,8
Pinus sylv. . . . .	C <sub>90</sub> H <sub>146</sub> O <sub>27</sub>	1,70	6,0
Phoenix dactyl. . .	C <sub>90</sub> H <sub>150</sub> C <sub>23</sub>	3,45	12,9
<b>b) fossile:</b>			
Tasmanin. . . . .	C <sub>90</sub> H <sub>138</sub> O <sub>17</sub>	3,00	12,3
Geiseltalpollenin . .	C <sub>90</sub> H <sub>129</sub> O <sub>19</sub> S,N	3,4	11,8
Lange-Sporonin . .	C <sub>90</sub> H <sub>93</sub> O <sub>17</sub> N	4,5	18,6

Der C-Methylgehalt rezenter Sporopollenine bewegt sich innerhalb enger, und zwar recht niedriger Grenzen. Fossile Sporopollenine erweisen sich auch nach ihrem C-Methylgehalte mit den rezenten noch nahe verwandt und nicht grundlegend verändert. Durch die Fossilierung werden jedenfalls die Essigsäure liefernden Gruppen bis zur Klasse der niedriginkohlten (jüngeren) Steinkohlen, zu denen die Lange-Sporen-Kohle gehört, nicht berührt.

Nach den Erfahrungen mit der Methode von Kuhn und L'Orsa werden häufig die C-Methyle nicht quantitativ erfaßt, da ihre Überführung in Essigsäure stark von der Bindungsart abhängig ist. Deshalb stellen die von uns gefundenen Werte nur untere Grenzwerte dar, dürften aber doch den Schluß zulassen, daß nur wenige C-Methylgruppen in den Sporopolleninen enthalten sind. Zu demselben Schluß gelangt man auch auf Grund des Verhaltens gegen Hypojodid. Es wurden aus Lycopodium-Sporonin so kleine Mengen Jodoform erhalten, daß auf eine quantitative Bestimmung verzichtet wurde.

Besseren Einblick erhielten wir durch Ozonisation der Sporopollenine in Eisessig. Lycopodium läßt sich glatt ozonisieren. Auch Tasmanin wird in lösliche Produkte verwandelt.

<sup>1)</sup> Angew. Chem. 44, 847 (1932).

Doch besteht eine ganze Reihe erheblicher Unterschiede zwischen dem rezenten Lycopodium-Sporonin und dem aus dem Permo-carbon stammenden Tasmanin, wie folgende Zusammenstellung zeigt:

	Lycopodium	Tasmanin
1. Ozonisationsdauer für je 3 g a) bis zum Farbloswerden . . . . .	2 Stunden 8—10 „	10 Stunden 36—40 „
2. Löslichkeit der Ozonisationsprod.: in Wasser . . . . .	nahezu vollständ.	60 %
in Chloroform . . . . .	3 %	40 %
3. Vom wasserlös. Teil ausätherbar	47 %	87 %

Tasmanin ist also wesentlich schwerer ozonisierbar als Lycopodium-Sporonin. Nach der überaus trügen Oxydierbarkeit selbst durch rauchende Salpetersäure<sup>1)</sup> und andere Oxydationsmittel überraschte es uns, daß Tasmanin noch so relativ schnell ozonisiert wurde. Lycopodium-Sporonin wird weiter fast restlos zu wasserlöslichen Produkten abgebaut, aus Tasmanin werden überwiegend wasserunlösliche Substanzen erhalten. Diese Erscheinung steht im Einklang mit dem Reichtum an Hydroxylgruppen beim Lycopodium-Sporonin und der Armut an diesen beim Tasmanin  $C_{90}H_{184}O_{15}(OH)_2$ .

Die Aufarbeitung der Ozonisationsprodukte bereitete einige Schwierigkeiten. Sowohl die durch Wasser erhaltenen Spaltprodukte, wie die daraus durch Wasserstoffperoxyd gewonnenen Umwandlungsprodukte sind selbst i. Hochv. nur zum kleinsten Teile unzersetzt destillierbar. Wir haben nach zahlreichen Vorversuchen das Ozonisationsprodukt durch Weiteroxydation mit Wasserstoffperoxyd möglichst in Carbonsäuren verwandelt und diese nach der Entfernung der als Lösungsmittel benutzten Essigsäure anfänglich durch fraktionierte Fällung ihrer Na-, K-, Ca-, Ba-, Mg-, Cd-, Zn- und Pb-Salze ohne befriedigendes Ergebnis zu trennen versucht. Auch nach Trennung des Oxydationsproduktes in einen Äther-, Essigester- und wasserlöslichen Anteil war dieser Weg praktisch erfolglos. Darauf haben wir den ätherlöslichen Anteil in die Methylester verwandelt und der fraktionierten Destillation unterworfen. Aber selbst bei diesem Anteil war beim Lycopodium-Sporonin wie

<sup>1)</sup> Helv. chim. Acta 14, 73 (1931).

beim Tasmanin ein erheblicher Anteil auch i. Hochv. nicht unzersetzt destillierbar. Der destillierbare Anteil wurde wiederholt sorgfältig unterfraktioniert. Beim Tasmanin gingen wir ebenso vor. Den erheblichen wasserunlöslichen Anteil konnten wir hier noch in einen in Chloroform löslichen und einen darin unlöslichen Anteil trennen.

Das Ergebnis dieser Versuche war, daß im ätherlöslichen Teil vornehmlich homologe Paraffin-dicarbonsäuren vorliegen. Dieser Umstand erschwert bei den verhältnismäßig kleinen Substanzmengen die Gewinnung reiner Esterfraktionen sehr. Erst durch die Überführung in die Diamide konnte eine einwandfreie Kennzeichnung der zugrunde liegenden Dicarbonsäuren erfolgen. Aus dem Lycopodium-Sporonin wurden erhalten und nachgewiesen: Malonsäure als Diamid, Bernsteinsäure als Dimethylester, Anhydrid, Diamid und Succinimid, Glutarsäure als Diamid und Adipinsäure als Diamid und als Esteramid. Aus dem Tasmanin wurden erhalten: Bernsteinsäure als Dimethylester und Diamid, Glutar- und Adipinsäure als Diamid. Tasmanin gibt demnach keine Malonsäure. Oxalsäure wurde unter den Spaltprodukten weder beim Tasmanin noch beim Lycopodium-Sporonin gefunden. Da sie, wie wir uns überzeugten, durch die Oxydation mit Wasserstoffperoxyd in Essigsäure restlos abgebaut wird, haben wir sie unter den durch Wasser erhältlichen Spaltprodukten der Ozonide gesucht, wo sie uns bei der Ozonisation von Kohlen stets reichlich begegnete. Sie konnte aber ebensowenig wie Glyoxal gefunden werden. Dagegen entsteht bei der Oxydation reichlich Kohlendioxyd<sup>1)</sup>.

Da die aufgefundenen Dicarbonsäuren sowohl aus kettenförmigen wie aus cyclischen Gebilden entstanden sein können, lassen sich vorläufig nur allgemeine Schlüsse über die Konstitution der Sporopollenine ziehen.

Mengenmäßig herrscht in dem Ätheranteil die Bernsteinsäure vor. Sie allein läßt sich neben den anderen Säuren quantitativ bestimmen. Durch Permanganatoxydation der Oxydationsprodukte von je 3 g Lycopodium-Sporonin und Tasmanin

---

<sup>1)</sup> Auch die höheren Homologen der Adipinsäure konnten nicht aufgefunden werden.

erhielten wir aus ersterem 2,1 Mol, aus letzterem 4,6 Mol Bernsteinsäure, aus einer Sporenkohle mit 44,5% Gehalt an Lange-Sporonin kamen 1,78 Mol Bernsteinsäure. Die Werte für Bernsteinsäure und Essigsäure scheinen nicht in Zusammenhang miteinander zu stehen. Auf Grund der anfallenden Menge im Gemisch der Dimethylester kommen schätzungsweise auf 1 Mol Lycopodium-Sporonin je 1 Mol Malon-, Glutar- und Adipinsäure und 2 Mol Bernsteinsäure. Mit den 2 Mol C-Methylgruppen wären demnach erst 26, d. h. knapp  $\frac{1}{3}$  der vorhandenen C-Atome erfaßt. Für das Tasmanin erreicht außer der Bernsteinsäure keine der nachgewiesenen Säuren den Betrag von 1 Mol.

Erwähnt sei noch, daß sämtliche Esterfraktionen, die höher als der Bernsteinsäureester sieden, noch Substanzen mit Carbonyleigenschaften enthalten, wie besonders ihr Verhalten gegen Phenylhydrazin u. a. zeigt. Ebenso ist auch die Bildung stickstoffhaltiger violetter bis blauer Farbstoffe aus den Umsetzungsprodukten der Ester mit Ammoniak zu erklären. Ob insbesondere Lävulinsäure als Spaltprodukt auftritt, ließ sich nicht einwandfrei beweisen, erscheint uns aber beim Tasmanin recht wahrscheinlich.

Der hohe Sauerstoffgehalt der Sporopollenine findet in den beschriebenen Substanzen keine rechte Grundlage. Wir haben deshalb die Wasserfraktion des Lycopodium-Sporonins vorläufig in dieser Richtung näher zu kennzeichnen versucht, indem wir ihre Säuren in die Bariumsalze überführten und sie aus wäßriger Lösung mit Methanol fällten. Das in verd. Methanol schwer lösliche Salz I wies nach dem Bariumgehalte ein Äquivalentgewicht von 93,2, das auf weiteren Zusatz von viel Methanol ausfallende Salz II ein Äquivalentgewicht von 96,5, und das in der Mutterlauge verbliebene Salz III ein etwas höheres Äquivalentgewicht von 112,1 auf. Das Bariumsalz II wurde analysiert und entspricht einer Durchschnittszusammensetzung von  $C_7H_{10}O_6Ba$ . Es ist also wesentlich sauerstoffreicher als die isolierten Säuren des Ätheranteils.

Da der entsprechende Wasseranteil beim Tasmanin zu geringfügig war, haben wir hier den Hauptteil der Ozonisationsprodukte, den wasserunlöslichen Anteil, kurz untersucht. Er konnte in den in Chloroform löslichen Anteil A und den darin unlöslichen Anteil B getrennt werden. Letzterer ist glatt löslich

in rauchender Salzsäure, ersterer nur teilweise. Durch Verdünnen mit Wasser werden die unveränderten Substanzen wieder ausgeschieden. Die Analyse der beiden harzähnlichen Anteile ergab Durchschnittsformeln von  $C_{30}H_{46}O_{14}$  für A und von  $C_{20}H_{30}O_9$  für B.

Wir haben noch festgestellt, daß beim Lycopodium-Sporonin, Tasmanin und der Sporenkohle der nur wasserlösliche Anteil bei der Weiteroxydation mit saurem Permanganat keine Bernsteinsäure liefert.

Bone, Horton und Ward<sup>1)</sup> erhielten bei der Oxydation mit alkalischem Permanganat von Restkohlen<sup>2)</sup> verschiedener Steinkohlen Essig-, Oxal- und Benzolcarbonsäuren.

Die Bernsteinsäure dürfte auf Grund unserer Ergebnisse ihren Ursprung also nicht in den Humussubstanzen, sondern allgemein im Polymerbitumen [vgl. zu dieser Bezeichnung Helv. 15, 425 (1932)], besonders in den fossilen Sporopolleninen haben, die ja nach unsrern Untersuchungen regelmäßig und teilweise in erheblichen Mengen in den Steinkohlen vorkommen. In der Konstitution des Humins dürfte sie keine Rolle spielen.

Es lag nahe, auch den C-Methylgehalt der Sporopollenine mit dem erwähnten Auftreten von Essigsäure bei der alkalischen Permanganatoxydation von Restkohlen der Steinkohlen in Zusammenhang zu bringen. Bone und Mitarbeiter (a. a. O.) erhielten 5—7 Teile Essigsäure aus je 100 g Restkohle.

Wir haben festgestellt, daß auch anderes Polymerbitumen, wie die Bogheadkörper, bei der Oxydation nach Kuhn und L'Orsa Essigsäure liefern. Die Bogheadkohle der Zeche Brassert, Flöz 15 (Ruhr) ergab 9,6 g Essigsäure auf 100 g Reinkohle. Vorauszusehen war auch, daß das Extraktbitumen bei dieser Behandlung Essigsäure bilden würde, denn soweit Extraktbitumen untersucht wurde, ist die Gegenwart methylierter aliph. und cycl. Kohlenwasserstoffe nahezu sichergestellt. Wir haben das mit Pyridin aus unserer Pochhammer-Sporenkohle extrahierte Bitumen oxydiert und den Wert von 20,03 g Essigsäure auf 100 g Extraktbitumen gefunden. Dieser Wert ist

<sup>1)</sup> Proc. Roy. Soc. London (A) 127, 480—510 (1930).

<sup>2)</sup> Unter Restkohle wird der nach der Extraktion mit Säuren, Alkalien und organischen Lösungsmitteln verbleibende trockene Teil der Kohlen verstanden.

noch etwas höher als der für das begleitende Lange-Sporonin gefundene. Diese Befunde stellen sicher, daß die Bitumina der Steinkohlen, und zwar Extrakt- und Polymerbitumen, C-Methylgruppen enthalten.

Es erhebt sich demnach die Frage, ob auch das Humin der Steinkohlen C-Methylgruppen enthält. Allgemein können wir darüber noch nichts aussagen. Aber für einen Streifenbestandteil der Steinkohlen, nämlich den Durit, können wir Angaben machen, da unsere Sporenkohle als reiner Durit nach der Definition von E. Stach<sup>1)</sup> anzusehen ist. Unsere vom Extraktbitumen befreite Sporenkohle<sup>2)</sup> ergab folgende Mengen Essigsäure:

	Gehalt an Lange-Sporonin	g Essigsäure aus 100 g Sporenkohle
Sporenkohle Nr. I	81,5	15,06
" Nr. II	59,4	12,35
" Nr. IV	56,5	10,71
" Nr. V	44,5	8,52

Durch graphische Auswertung ergibt sich für einen Gehalt von 0% Sporonin, d. h. für die reine Opaksubstanz oder Mikrinit ungefähr 2,5% Essigsäure. Die beiden Baustoffe des Streifenbestandteils Durit: Opaksubstanz (Mikrinit) und Bitumen verhalten sich bei der Oxydation verschieden. Das Bitumen gibt reichlich Essigsäure, der Mikrinit wenig. Nun darf aber leider nicht geschlossen werden, daß der humitische Bestandteil, der Mikrinit, keine oder nur eine geringfügige Anzahl von C-Methylgruppen aufwiese, denn, wie schon oben erwähnt, ist die Überführung von C-Methylgruppen in Essigsäure nach der Methode von Kuhn und L'Orsa stark von konstitutiven Momenten abhängig, besonders am Aryl-C haftende Methylgruppen werden mitunter nur höchst unvollkommen in Essigsäure verwandelt. Dasselbe Verhalten zeigen solche Methylgruppen nach allen Erfahrungen in der aromatischen Reihe gegenüber alkalischer Permanganatlösung, wie sie Bone und Mitarbeiter anwandten. Da nun ferner die humitische Substanz des Durits, der Mikrinit, recht hoch inkohlt, d. h. weitgehend

<sup>1)</sup> E. Stach, Sitzungsber. d. Preuß. Geolog. Landesanstalt 1932. Heft 7.

<sup>2)</sup> Vgl. Helv. chim. Acta 15, 425 (1932).

aromatisiert ist, läßt sich über den tatsächlichen Gehalt an C-Methylgruppen dieses Kohlenbaustoffs wenig aussagen. Dagegen kann man schließen, daß die nach Kuhn und L'Orsa und mit alkalischem Permanganat gebildete Essigsäure zum weitaus größtem Teile aus den C-Methylgruppen der Steinkohlenbitumina stammt. Bernsteinsäure aber wird ausschließlich von den Bitumina gebildet.

### Experimenteller Teil

#### Ozonisation von *Lycopodium-Sporonin* (Johanna Liechti)

Ozonisiert wurde bei einer Spannung von 13000—15000 Volt und einer Strömungsgeschwindigkeit des Sauerstoffs von 0,3 bis 0,5 Liter pro Minute, wobei in der Stunde 2 g Ozon gebildet wurden. Das Sporonin wurde in Waschflaschen mit je 60 ccm Eisessig und je 3 g Substanz in zehn hintereinander geschalteten Flaschen ozonisiert. Andere Lösungsmittel sind nicht so geeignet wie Eisessig. Zur Anwendung gelangte anfänglich reines<sup>1)</sup>, später das nach der Alkalibehandlung erhältliche cellulosehaltige Sporonin<sup>2)</sup>. Es wurde vor der Behandlung mehrere Tage über Phosphorpentoxyd getrocknet. Das Sporonin quillt stark im Eisessig auf und verliert nach ungefähr 2-stündiger Behandlung seine braune Farbe. Nach etwa 10 Stunden ist es in Lösung gegangen bis auf durchsichtige hellgraue Flocken, die auch bei längerer Ozonisation nicht in Lösung gehen. Sie röhren von den Aschebildnern her, bei Verwendung von cellulosehaltiger Membran, von Cellulose.

Der gesammelte Inhalt mehrerer Flaschen von schwach gelber Farbe wurde mit so viel Wasser verdünnt, daß eine 70%ige Essigsäure vorlag. Zu dieser Lösung wurden auf je 100 ccm Flüssigkeit 8 ccm 30%iger Wasserstoffperoxyd gegeben, 48 Stunden stehen gelassen und darauf noch 6 Stunden auf dem siedenden Wasserbade zur Spaltung der Ozonide und Überführung der Aldehyde in Säuren erwärmt und heiß filtriert. Der hellgraue Rückstand war schleimig, wurde beim Trocknen hart und spröde. Sein Gewicht betrug bei der Anwendung reinen Sporonins 5—6%, sonst das Doppelte.

<sup>1)</sup> Helv. chim. Acta 14, 60 (1931).

<sup>2)</sup> Ann. Chem. 461, 101 (1928).

Das Filtrat, eine hellgelbe, grünstichige Flüssigkeit, wurde bei einer Wasserbadtemperatur von max. 50—55° i. V. von der Essigsäure und dem unverbrauchten Wasserstoffperoxyd befreit, indem 4—5-mal Wasser nachgegeben wurde. Die Destillate hatten einen eigentümlichen dumpfen, kellerähnlichen Geruch. Der Kolbenrückstand betrug bei Verwendung reinen Sporonins 86—90% der angewandten Menge Sporonin. Er bestand aus einer mit einem hellgelben Öl durchsetzten krystallinen Masse. Er war in Wasser fast völlig löslich. Er wurde in Wasser aufgenommen und im Perforator mit etwa 500 ccm Äther während 12 Stunden ausgezogen.

#### Der ätherlösliche Anteil A

Der hellgelb farbige Äther wurde abdestilliert, zuletzt im Vakuum. Es blieb ein beim Erkalten bald erstarrendes hellgelbes Öl. Sein Gewicht betrug durchschnittlich 40—45% des angewandten Sporonins oder 45—50% des zersetzen Ozonisationsproduktes. Sein Geruch war nuß-pilzartig.

Das Gemisch wurde nun mit Methanol aufgenommen und mittelst Chlorwasserstoff in der Siedehitze verestert. Die Lösung verfärbte sich langsam dunkelrot. Nun wurde nach 8-stündiger Dauer das Methanol bis auf einen kleinen Rest abdestilliert und der rotbraune Rückstand in Eiswasser gegossen. Die gebildete Emulsion der Ester wurde 3-mal ausgeäthert. Die ätherische Lösung mit Natriumbikarbonatlösung und Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Abdestillieren des Äthers blieb eine braunrote angenehm riechende Flüssigkeit in einer Ausbeute von 79% des angewandten Säuregemisches. Dieser Anteil A I wurde i. V. bei 13 mm fraktioniert, es gingen über: zwischen 70—82° 0,5 g, 82—92° 2,9 g, 93—102° 1,1 g, 103—132° 1,3 g und 133—142° 1,2 g; es blieb ein Rückstand von 3,5 g bei einem Ansatz von 11,3 g, der als Beispiel aufgeführt sei.

Da die Veresterung mit Chlorwasserstoff, wie die auftretende Braunfärbung anzeigen, mit einer teilweisen Veränderung der ursprünglichen Säuren verbunden zu sein schien, versuchten wir andere Veresterungsmethoden. Mit Dimethylsulfat trat infolge des anfangs alkalischen Mediums noch stärkere Zersetzung auf als mit Chlorwasserstoff. Dieser, nur bei Raumtemperatur

angewandt, gab nur eine etwas geringere Ausbeute an Estern. Diazomethan veresterte ebenfalls nur unvollständig; als Hauptprodukt eines Ansatzes von 15,7 g wurde eine überraschend große Fraktion von 4,9 g (133—143°, 10 mm) erhalten, die größtenteils in weiße, nadelförmige Krystalle beim Stehen überging. Sie wurden abgesaugt, und ließen sich aus Chloroform umkristallisieren. Sie schmolzen bei 119°.

0,0470, 0,0422 g Subst.: 0,0826, 0,0741 g CO<sub>2</sub>, 0,0164, 0,0147 g H<sub>2</sub>O.  
 $C_4H_{10}O_3$  Ber. C 48,00 H 4,00 Gef. C 47,93, 47,89 H 3,90, 3,90  
 Mischschmelzpunkt mit Bernsteinsäureanhydrid: 119—120°.

Am besten erwies sich darnach die oben beschriebene Methode. Wir haben über 100 g Sporonin ozonisiert und daraus die Fraktion A I gewonnen und diese weiter unterfraktioniert. Zu dieser Fraktion fügten wir noch die weiter unten beschriebene B Ia. Bei der Unterfraktionierung vereinigten wir Ester mit gleichem Siedeintervall, um möglichst einheitliche Fraktionen zu erhalten. Aber trotz wiederholter, sorgfältiger Destillation gelang es nicht, mit Ausnahme einer mengenmäßig vorherrschenden Fraktion vom Sdp. 82—85° bei 11 mm, einheitliche Substanzen zu gewinnen. Eben genannte Fraktion erwies sich nach Siedepunkt und Analyse als Bernsteinsäure-dimethylester.

5,214 mg Subst.: 9,440 mg CO<sub>2</sub>, 3,220 mg H<sub>2</sub>O.  
 $C_6H_{10}O_4$  Ber. C 49,29 H 6,90 Gef. C 49,38 H 6,91

Fast alle, besonders die höher siedenden Fraktionen, enthielten carbonylhaltige Substanzen, deren Untersuchung noch nicht abgeschlossen ist. Bezüglich Einzelheiten der Fraktionierung muß auf die Dissertationen von J. Liechti, Untersuchungen zur Konstitution des Lycopodium-Sporonins, Bern 1936 und von E. Ziegler, Zur Fossilierung der Sporopollenine, Bern 1934 verwiesen werden.

Die Rückstände der Vakuumdestillationen, die durchschnittlich ein Drittel der Ester betrugen, vereinigten wir, veresterten sie nochmals und unterwarfen sie der Hochvakuumdestillation. Bei einer Außentemperatur von 178—185° gingen von 32 g zwischen 100—140° bei einem Druck von 0,8 mm nur 0,5 g über, dann machte sich eine Zersetzung bemerkbar.

Der Anteil des Veresterungsgemisches A I, der nach beendeter Veresterung nicht ätherlöslich war, sondern in der wäßrigen Lösung zurückblieb, wurde im Vakuum unter öfteren Zusatz von Wasser eingedampft. Es blieb ein bräunlicher Sirup A II, aus dem bei längerem Stehen sich geringe Mengen krystalliner Substanzen ausschieden. Er wurde zurückgestellt. Seine Menge betrug etwa 20% des ätherlöslichen Anteils A.

Zur Überführung in die Amide wurden die Ester mit der 5—10-fachen Menge abs. Alkohol vermischt, in Kältemischung mit trocknem Ammoniak gesättigt und 4 Stunden auf 100° erhitzt. Meist schieden sich schon während des Einleitens von Ammoniak Krystalle aus, deren Menge nach dem Erhitzen zugemommen hatte. Die alkoholische Lösung war meist bräunlich gefärbt. Die nach längerem Stehen in Kältemischung oder im Kühlschrank ausgeschiedenen Krystalle wurden abgesaugt, die Mutterlauge eingeengt und im Kühlschrank stehen gelassen. Die Amidlösungen der über 100—180° i. V. von 11—13 mm siedenden Ester waren dunkelrotbraun und wiesen mit zunehmendem Siedepunkte abnehmende Ausscheidungen auf. Die Mutterlauen dieser Fraktionen verfärbten sich an der Luft, grünlich, blau, violett und teils fast schwarz, wobei sich manchmal dunkelfarbige Substanzen in geringer Menge ausschieden. Um diese durch Autoxydation wohl aus ursprünglichen Keto-verbindungen gebildeten Farbstoffe, die bei den Fraktionen vom Sdp. 116° an mengenmäßig vorherrschten, zu entfernen, erwies sich nur wiederholtes Kochen der alkoholischen Lösungen mit Fasertonerde geeignet. Die Isolierung reiner Amide war durch das Vorliegen homologer Substanzen recht verlustreich. Außer durch die Analyse wurden die Amide jedesmal durch die Misch-schmelzpunkte identifiziert. Das Überwiegen des Bernstein-säureesters bedingte, daß er in sämtlichen Fraktionen von 74 bis 100° enthalten war.

### 1. Fraktion 74—76°, 10—11 mm.

Unlöslicher Teil: Weiße Krystalle vom Schmp. 240—242°. Aus Wasser umkristallisiert, Schmp. 242—243°, also Bernstein-säurediamid. Daneben gelbliche Krystalle, die ausgelesen wurden, Schmp. 168—169°: Malonsäurediamid.

Löslicher Teil: Weiße Nadelchen aus abs. Alkohol Schmelz-

punkt 170°: Malonsäurediamid. Geringfügiger Rest in der Mutterlauge.

2. Fraktion 78—81°, 11 mm.

Unlöslicher Teil: Hauptteil weiße glänzende Nadeln, Schmelzpunkt 165—170° und kurze kompaktere Nadeln, Schmp. 242°. Das nach dem Auslesen verbleibende Gemisch wurde mit wenig kaltem Wasser stehen gelassen, bis sich die Nadeln gelöst hatten, während die kompakteren Krystalle ungelöst blieben. Beim Einengen und Abkühlen der wäßrigen Lösung schieden sich quadratische Krystalle und Nadeln aus. Schmelzpunkt beider 170—171°: Malonsäurediamid. Der Dimorphismus ist für dieses Amid kennzeichnend. Das Amid vom Schmp. 242° erhöhte seinen Schmelzpunkt nach dem Umkristallisieren aus Wasser auf 243°, also Bernsteinsäurediamid.

Löslicher Teil: Weiße krystalline Ausscheidung, nach dem Umkristallisieren aus abs. Alkohol Schmp. 169—170°: also Malonsäurediamid.

3. Fraktion 81—85°, 11 mm.

Unlöslicher Teil: Weiße Krystalle, Schmp. 240—243°, nach dem Umkristallisieren aus Wasser 243°, also Bernsteinsäurediamid.

Löslicher Teil: Da nach dem Einengen keine Ausscheidung, Mutterlauge mit Äther versetzt. Es fällt wenig einer Substanz vom Schmp. 165° aus, die unter dem Mikroskop uneinheitlich erschien. Sie wurde nicht weiter untersucht. Die Ätherlösung hinterließ nach dem Verdunsten des Lösungsmittels einen schwach rötlichen Sirup, der allmählich erstarrte. Schmp. 80°, leicht löslich in Wasser, aus Benzol, farblose, tafelige Krystallchen vom Schmp. 117°, Mischschmelzpunkt mit Succinimid: 122—125°.

4. Fraktion 87—90°, 10—11 mm.

Unlöslicher Teil: Weiße Krystalle vom Schmp. 240°, nach dem Umkristallisieren aus Wasser Schmp. 242—243°, also Bernsteinsäurediamid.

Löslicher Teil: Bräunliche Krystalle, nach dem Umkristallisieren aus abs. Alkohol unter Verwendung von Fasertonerde, leicht rosafarbige, flimmernde Blättchen vom Schmp. 173—174°, also Glutarsäurediamid. Aus der Mutterlauge wurde auf Zusatz von Äther noch etwas Glutarsäurediamid erhalten.

5. Fraktion 90—95°, 11 mm. Rotbraune Lösung, schmutzige weiße Ausscheidung.

Unlöslicher Teil: Umkristallisiert aus Wasser, Schmp. 242°, Bernsteinsäurediamid.

Löslicher Teil: Graue Krystalle, umkristallisiert aus abs. Alkohol, dann Benzol, Schmp. 174°, Glutarsäurediamid. In der Mutterlauge geringes rötliches Öl.

6. Fraktion 96—100°, 11 mm. Rotbraune Lösung, gelbliche krystalline Ausscheidung.

Unlöslicher Teil: Aus Wasser umkristallisiert, Schmelzpunkt 242—243°, Bernsteinsäurediamid. Hauptteil blieb in der Mutterlauge nach dem Eindampfen, wurde aus abs. Alkohol umkristallisiert, weiße, flimmernde Blättchen, Schmp. 165°, nach dem Umkristallisieren aus Benzol Schmp. 174—175°, Glutarsäurediamid.

Löslicher Teil. Kein Niederschlag nach starkem Einengen, aber allmählicher Farbumschlag von Rotbraun nach dunkel Blaugrün. Auf Zusatz von Äther geringer blauer Niederschlag, aus dem durch Behandeln mit Fasertonerde in abs. Alkohol nur sehr wenig einer offensichtlich uneinheitlichen farblosen Substanz erhalten wurde. Die Ätherlösung wurde stark eingengt. Es schieden sich nadelförmige Krystalle aus, Schmelzpunkt 70—75°, nach dem Umkristallisieren aus Xylol Schmp. 88°. Nach der Analyse: Adipinsäure-methylester-amid.

7. Fraktion 101—105°, 11 mm. Lösung orangerot, sehr geringe gelbliche Abscheidung.

Unlöslicher Teil: Beim Umkristallisieren aus Wasser Farbumschlag nach Violett. Nach Anwendung von Fasertonerde farblose Krystalle vom Schmp. 220°, Adipinsäurediamid.

Löslicher Teil. Nach dem Einengen auf ein Drittel, wobei Verfärbung nach Dunkelblau eintrat, wurde mit Äther versetzt. Es schieden sich dunkelblaue Krystalle aus, die nach dem Umkristallisieren aus abs. Alkohol unter Zusatz von Fasertonerde hellviolett wurden. Nach mehrmaligen Umkristallisieren aus Alkohol, denn aus Benzol waren sie farblos, Schmp. 174—175°, Glutarsäurediamid. Die Äther-Mutterlauge wurde stark eingengt, Krystalle vom Schmp. 86°, nach wiederholtem Umkristallisieren aus Xylol farblose Krystalle vom Schmp. 90°, Adipinsäure-methylester-amid.

8. Fraktion 106—110°, 11 mm. Braune Lösung, sehr geringe gelbliche Ausscheidung.

Unlöslicher Teil: Beim Umkristallisieren aus Wasser, Verfärbung nach Violett. Durch Behandlung mit Fasertonerde schließlich farblose Krystalle vom Schmp. 220°, Adipinsäure-diamid.

Löslicher Teil: Beim Einengen Farbumschlag nach Blau-schwarz, geringe ebensofarbige Ausscheidung. Nach dem Behandeln in Wasser mit Fasertonerde wenig schmutzig-weiße Krystalle, deren Schmelzpunkt nach dem Umkristallisieren aus abs. Alkohol zwischen 160—170° lag. Die alkoholische Mutterlauge schied beim längeren Stehen im Kühlschrank nadelförmige Krystalle vom Schmp. 80° aus, die leicht löslich in Wasser, Alkohol und Aceton waren. Aus Xylol wurden wieder flimmernde Nadelchen, die zu Blättchen verfilzt waren, erhalten. Schmp. 89—90°, Adipinsäure-methylester-amid.

9. Fraktion 116—126°, 11 mm. Dunkelbraunrote Lösung, geringe gelbliche Ausscheidung.

Unlöslicher Teil: Genau wie bei Fraktion 8.

Löslicher Teil: Ähnlich wie bei Fraktion 8, nur geringere Ausbeute an krystallinen Produkten. Das Adipinsäure-methyl-ester-amid hatte einen Anfangs-Schmelzpunkt von 72°, der trotz wiederholtem Umkristallisieren aus Xylol bei 78° konstant bleibt. Mischschmelzpunkt mit dem Esteramid aus Fraktion 7 und 8 ergab 89—90°. Analyse ergab ebenfalls gut auf das Esteramid stimmende Werte.

10. Fraktionen bis 180°, 11 mm. (Vgl. einleitende Bemerkungen Seite 271.)

Die nach der Entfernung der Farbstoffe erhaltenen Mengen waren so geringfügig, daß sie nicht mehr identifiziert werden konnten. Jedenfalls enthalten diese Fraktionen kaum die Amide der Pimelin- und Korksäure und ihrer höheren Homologen.

#### Malonsäurediamid

4,866 mg Subst.: 6,290 mg CO<sub>2</sub>, 2,630 mg H<sub>2</sub>O. — 2,845 mg Subst.: 0,682 ccm N (24°, 753 mm).

Ber. C	35,27	H	5,92	N	27,46
Gef. „	35,26	„	6,04	„	27,30

## Succinimid

4,854, 2,750 mg Subst.: 8,640, 4,800 mg CO<sub>2</sub>, 2,250, 1,320 mg H<sub>2</sub>O.

Ber. C 48,50 H 5,00

Gef. „ 48,54, 48,39 „ 5,18, 5,46

Glutarsäurediamid, C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>N<sub>2</sub>

5,135, 5,192 mg Subst.: 8,715, 8,725 mg CO<sub>2</sub>, 3,540, 3,590 mg H<sub>2</sub>O. —  
3,066 mg Subst.: 0,561 ccm N (24°, 767 mm).

Ber. C 46,12 H 7,74 N 21,53

Gef. „ 45,81, 46,28 „ 7,73, 7,74 „ 21,22

Adipinsäurediamid, C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>N<sub>2</sub>

3,719 mg Subst.: 6,790 mg CO<sub>2</sub>, 2,770 mg H<sub>2</sub>O. — 2,342 mg Subst.:  
0,400 ccm N (24°, 750 mm).

Ber. C 49,96 H 8,39 N 19,44 Gef. C 49,79 H 8,33 N 19,37

Adipinsäure-methylester-amid, C<sub>7</sub>H<sub>13</sub>O<sub>3</sub>N

5,032, 4,780 mg Subst.: 9,835, 9,305 mg CO<sub>2</sub>, 3,740, 3,510 mg H<sub>2</sub>O. —  
3,127 mg Subst.: 0,238 ccm N (21°, 763 mm).

Ber. C 52,79 H 8,23 N 8,80

Gef. „ 53,30, 53,13 „ 8,31, 8,22 „ 8,87

## Der ätherunlösliche Anteil B

Die Fraktion B bildete nach dem Verdunsten des Wassers eine gelbe, lackartige Substanz, die auch nach langem Stehen keine Anzeichen von Krystallisation zeigte. Sie war bis auf eine geringe Trübung völlig wasserlöslich. Sie machte etwa 50% der mit Wasserstoffperoxyd umgesetzten Ozonisationsprodukte aus.

Diese Fraktion wurde viermal mit je der dreifachen Menge Essigester ausgekocht, der nach dem Abgießen bis zur Klärung stehen gelassen wurde. Dann wurde die rotgelbe Lösung i. V. eingedampft. Es blieb ein rötlicher, sehr viscoser Sirup in einer Menge von ungefähr 60% der Fraktion B. Dieser wurde mit Methanol und Chlorwasserstoff wie Fraktion A verestert und aufgearbeitet. Es wurden 64% ätherlösliche Ester erhalten, von denen i. V. zwischen 80 und 110° bei 11 mm die Hälfte überging: Fraktion B Ia, die mit der Fraktion A I vereinigt wurde. Der Rest ließ sich auch im Hochvakuum nicht unzersetzt destillieren.

Der in Essigester unlösliche Anteil B II wurde wieder in Wasser gelöst, von einer geringen Trübung abfiltriert und auf

dem siedenden Wasserbade anteilsweise mit Bariumcarbonat behandelt, bis sich keine  $\text{CO}_2$ -Entwicklung mehr bemerkbar machte. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert. Das Filtrat wurde mit Entfärbungskohle behandelt und solange mit Barytlauge gefällt, als noch ein Niederschlag auftrat. Es fiel ein kleiner bräunlicher Anteil aus, von dem abfiltriert wurde. Dann wurde überschüssiges Bariumhydroxyd durch Kohlendioxyd entfernt und die hellbraune Lösung mit Methanol versetzt. Es fiel ein leicht brauner, flockiger Niederschlag aus, der, da er hygroskopisch war, rasch abgesaugt und sofort in viel Methanol eingetragen wurde. Nach eintägigem Stehen wurde er rasch abfiltriert und im Vakuumexsiccator über Phosphorpentooxyd aufbewahrt. Nach dem Trocknen im Vakuum bei  $100^\circ$  ergaben 0,2064 g Subst.: 0,1488 g  $\text{BaSO}_4 = 42,43\%$  Ba. Äquiv.-Gew. 93,2.

Aus dem Filtrate dieses Bariumsalzes wurde durch Zugabe von viel Methanol ein nahezu farbloses, ebenfalls hygroskopisches Salz gefällt, das folgende Werte gab:

4,818 mg Subst.: 4,500 mg  $\text{CO}_2$  und 1,850 mg  $\text{H}_2\text{O}$ . — 0,2083 g Subst.: 0,1471 g  $\text{BaSO}_4 = 41,56\%$  Ba, Äquiv.-Gew. 96,6.

$\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}_6\text{Ba}$	Ber. C 25,66	H 3,08	Ba 41,96
	Gef. „ 25,48	„ 3,13	„ 41,56

Die Methanolmutterlauge hinterließ beim Eindampfen ein gelbliches, glasiges Bariumsalz mit dem Äquiv.-Gew. 112,1. 0,1803 g Subst. gaben 0,1164 g  $\text{BaSO}_4$ .

#### Ozonisation von Tasmanin (Etienne Ziegler)

Die Ozonisation wurde in gleicher Weise wie beim Lycopodium-Sporonin beschrieben durchgeführt. Da aber das Tasmanin<sup>1)</sup> nicht so in Eisessig aufquillt wie das Lycopodium-Sporonin, konnten in einer Flasche 5 g Tasmanin in 50 ccm Eisessig suspendiert werden. Nach beendeter Ozonisation blieb ein grauer Rückstand in Höhe von 4% des eingewogenen Materials, der größtenteils aus Ton bestand.

Das Ozonisationsprodukt wurde wie oben beschrieben mit Wasserstoffperoxyd oxydiert und das Lösungsmittel i. V. bei einer  $40^\circ$  nicht übersteigenden Innentemperatur abdestilliert.

<sup>1)</sup> Helv. chim. Acta 14, 74 (1931).

Der Rückstand bildete eine dicke, teigige grünliche Masse, die mit Carbonylreagentien nicht krystalline Fällungen gab. Die Masse reagiert kongosauer.

Sie wurde mit Wasser durchgeschüttelt, es schied sich ein schweres grünlich-gelbes Öl aus, von dem abgegossen wurde. Die wäßrige trübe Lösung wurde nun weiter mit Wasser versetzt, bis keine Trübung mehr auftrat. Nach dem Klären wurde vom erneut ausgeschiedenen Öl getrennt und die Lösung mit Chloroform ausgeschüttelt, in das der Rest des noch gelösten Öles ging, das nach dem Abdestillieren des Chloroforms mit den Hauptteil des Öles (Fraktion B) vereinigt wurde. Fraktion B macht ungefähr 40%, Fraktion A, der wasserlösliche Anteil, 60% des Ozonisationsproduktes aus.

### Der wasserlösliche Anteil A

Der Anteil A wird i. V. bei 45° vom Wasser befreit und in Methanol gelöst, verestert und wie beim Lycopodium-Sporonin beschrieben aufgearbeitet. Das in Äther gehende Estergemisch betrug  $\frac{2}{3}$  des Anteils A.

Bei der Fraktionierung i. Hochv. wurden erhalten:

- I. bei 0,5 mm und 50—65°, farblos, klar,
- II. „ 0,1 „ 85—120°, geringe farblose Zwischenfraktion,
- III. „ 1,0 „ 142—145°, gelbliches, viscoses Öl, beim Erkalten teilweise erstarrend.
- IV. „ 1,0 „ 175—205°, dunkelgelbes, zähes Öl, zuletzt trat Zersetzung auf.

Im Gegensatz zur entsprechenden Fraktion A I des Lycopodium-Sporonins liefert das Tasmanin wenig niedrig siedende und viel i. Hochv. unzersetzt siedende Fraktionen.

Fraktion I wurde i. V. von 1 mm erneut destilliert. Es wurden erhalten Ia 47—58°  $\frac{2}{3}$  der Fraktion I und Ib 60° mit nahezu  $\frac{1}{3}$ .

Fraktion Ia ergab i. V. von 13 mm unterfraktioniert zwei Hauptfraktionen bei 82—83° und 87°.

Fraktion Ia 82—83° erwies sich als Bernsteinsäuredimethylester.

4,951 mg Subst.: 8,970 mg CO<sub>2</sub>, 3,130 mg H<sub>2</sub>O.

C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub> Ber. C 49,38 H 6,91 Gef. C 49,41 H 7,07

Die anderen Fraktionen waren auch hier nicht einheitlich, sie wurden genau wie beim Lycopodium-Sporonin in die Amide verwandelt und aufgearbeitet. Die erhaltenen Amide wurden hier nur mehr durch den Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt identifiziert. Die beim Lycopodium-Sporonin aufgetretenen Farbstoffe konnten hier nicht beobachtet werden. Im ganzen erschienen die Esterfraktionen beim Tasmanin einheitlicher, d. h. weniger mit Carbonylverbindungen vermischt, die erst bei den hoch siedenden Anteilen vorzuherrschen scheinen.

Es wurden isoliert aus dem Vorlauf zu A I 82 nur Bernsteinsäurediamid, Schmp. 242°. Malonsäurediamid konnte nicht nachgewiesen werden. Aus der Fraktion Ia 82° wurde Bernsteinsäurediamid und wenig Succinimid vom Schmp. 120° isoliert. Fraktion Ia 87° ergab wieder Bernsteinsäurediamid und Glutarsäurediamid, Schmp. 173°.

Fraktion Ib 60° gab hauptsächlich Adipinsäurediamid vom Schmp. 220° neben wenig Glutarsäurediamid. In den höher siedenden Fraktionen konnten keine Amide der Homologen der Methylenedicarbonsäuren in Übereinstimmung mit dem Befunde am Lycopodium-Sporonin mit Sicherheit nachgewiesen werden.

### Der wasserunlösliche Anteil B

Dieser Anteil wurde erst in Alkohol aufgenommen, von diesem wieder durch Destillation i. V. befreit und nun mit Chloroform am Rückflußkühler ausgezogen. Es blieb etwa  $\frac{1}{3}$  des ursprünglichen Öles ungelöst. Es wurde in Alkohol gelöst und i. V. eingedampft. Zurückblieb ein klares, rötlichbraunes Harz B I.

4,605 mg Subst.: 9,750 mg CO<sub>2</sub>, 2,940 mg H<sub>2</sub>O.

Durchschnittsformel C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>9</sub>	Ber. C 57,96	H 7,24
	Gef. „ 57,80	„ 7,15

Aus dem Chloroform wurde ein klarer, hellgelber, viscoser, harziger Balsam B II erhalten, der auch bei langem Stehen nicht fest wurde.

5,019 mg Subst.: 10,496 mg CO<sub>2</sub>, 3,390 mg H<sub>2</sub>O.

Durchschnittsformel C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>7</sub>	Ber. C 57,32	H 7,00
	Gef. „ 57,00	„ 7,38

B I löst sich mit brauner Farbe in rauchender Salzsäure klar auf. Beim Verdünnen scheidet sich das Harz in schmutzig-gelben Flocken wieder aus. B II löst sich nur teilweise in rauchender Salzsäure, der gelöste Anteil scheidet sich beim Verdünnen nicht wieder aus.

### Bestimmung der Bernsteinsäure

Vor der Oxydation mit Permanganat wurden die Sporen wie beschrieben ozonisiert, um sie in gelöster Form anwenden zu können. Nach der Abdestillation der Essigsäure i. V. wurde die Masse mit Wasser aufgenommen, mit Schwefelsäure versetzt und in der Siedehitze unter Röhren solange eine 5%ige Permanganatlösung zugesetzt, bis die violette Farbe 5 Minuten bestehen blieb. Dann wurde in der Hitze solange Schwefel-dioxyd eingeleitet, bis sich der ausgeschiedene Braunstein gelöst hatte. Die nunmehr schwach rosafarbige Lösung wurde auf dem Wasserbade stark eingeengt und je nach der Menge entweder ganz oder anteilsweise im Perforator 12 Stunden mit Äther ausgezogen. Beim Abdestillieren des Äthers blieb eine schwach gelbliche Krystallmasse zurück, die größtenteils aus Bernsteinsäure bestand. Von den Verunreinigungen ließ diese sich durch Behandeln mit Chloroform bei Raumtemperatur befreien. Sie war nun farblos und zeigte den Schmelzpunkt von 183—184° und gab mit Bernsteinsäure keine Schmelz-depression. Es gaben:

1. Lycopodium-Sporonin: 3,000 g (2,970 g aschefreie), 3,000 g (2,970 g aschefreie) Subst.: 0,485, 0,434 g Bernsteinsäure. Da aus einem Mol Lycopodium-Sporonin 22,5 Mol Bernsteinsäure entstehen können, wurden 2,21 und 1,98 Mol gebildet.
2. Tasmanin: 10,000 g (9,950 g aschefreie) Subst. gaben 510 ccm Lösung, von der 2-mal je 50,0 ccm extrahiert wurden. Es wurden 0,3599 g und 0,3678 g, im Mittel 0,3638 g, Bernsteinsäure = 4,58 Mol erhalten.
3. Sporenkohle mit 44,5%, Lange-Sporonin ( $\mu$ -fein gemahlen und durch Extraktion vom löslichen Bitumen befreit). 5,00 g Sporenkohle, über deren Ozonisation in einer andern Mitteilung berichtet wird, wurden ozonisiert und gaben 0,310 g Bernsteinsäure = 1,78 Mol.
4. 3,114 g aschefreie, in Natriumfluorid lösliche Torfhuminsäure gaben ozonisiert keine Bernsteinsäure.
5. 2,668 g aschefreie, in Natriumfluoridlösung unlösliche Humin-säure gaben ozonisiert keine Bernsteinsäure.

6. 3,580 g aschefreie Brenzcatechinhuminsäure gaben keine Bernsteinsäure.

7. Keine Bernsteinsäure gaben ebenfalls die nur wasserlöslichen Anteile der mit Wasserstoffperoxyd zersetzenen Ozonisationsprodukte der obigen Sporonine.

### Bestimmung der C-Methylgruppen

1. Lycopodium-Sporonin: 0,2668 g (0,2641 g aschefreie), 0,3134 g (0,3103 g aschefreie) Subst. verbrauchten 3,2, 3,7 ccm 0,1 n-KOH = 2,07, 2,03 Mol Essigsäure.

2. Phoenix-Pollenin: 0,2089 g (0,2078 g aschefreie) Subst. verbrauchten 4,35 ccm 0,1 n-KOH = 3,44 Mol Essigsäure.

3. Ceratozamia-Pollenin: 0,2230 g (0,2206 g aschefreie) Subst. verbrauchten 5,1 ccm 0,1 n-KOH = 4,08 Mol Essigsäure.

4. Taxus-Pollenin: 0,2306 g (0,2276 g aschefreie), 0,2256 g (0,2227 g aschefreie) Subst. verbrauchten 4,1, 3,6 ccm 0,1 n-KOH = 2,94, 2,54 Mol Essigsäure.

5. Pinus-Pollenin: 0,3232 g (0,3093 g aschefreie) Subst. verbrauchten 3,1 ccm 0,1 n-KOH = 1,70 Mol Essigsäure.

6. Tasmanin: 0,3237, 0,3221 g Subst. verbrauchten 6,3, 6,6 ccm 0,1 n-KOH = 2,94, 3,05 Mol Essigsäure.

7. Geiseltal-Pollenin: 0,2598 g aschefreie Subst. verbrauchten 5,1 ccm 0,1 n-KOH = 3,44 Mol Essigsäure.

8. Extraktbitumenfreie Sporenkohle mit einem Gehalte von 81,5% Lange-Sporonin: 0,2032 g Reinkohle verbrauchten 5,1 ccm 0,1 n-KOH. 100 g Kohle geben 15,06 g Essigsäure.

9. Ebensolche Sporenkohle mit einem Gehalte von 59,6% Lange-Sporonin: 0,3109 g Reinkohle verbrauchten 6,3 ccm 0,1 n-KOH. 100 g Kohle geben 12,35 g Essigsäure.

10. Ebensolche Sporenkohle mit 56,3% Lange-Sporonin: 0,3416 g Reinkohle verbrauchten 6,2 ccm 0,1 n-KOH. 100 g Kohle geben 10,71 g Essigsäure.

11. Ebensolche Sporenkohle mit einem Gehalte von 44,5% Lange-Sporonin: 0,3532 g Reinkohle verbrauchten 5,0 ccm 0,1 n-KOH. 100 g Kohle geben 8,52 g Essigsäure.

12. Extraktbitumen aus Sporenkohle 11: 0,3250 g Subst. verbrauchten 11,1 ccm 0,1 n-KOH. 100 g Bitumen geben 20,03 g Essigsäure.

13. Bogheadkohle, Zeche Brassert, Flöz 15: 0,3383 g extraktbitumenfreie 0,3063 g Reinkohle verbrauchten 4,9 ccm 0,1 n-NaOH. 100 g Reinkohle geben 9,60 g Essigsäure.