

Dehydrierungsprodukt durch den von uns früher beschriebenen Kunstgriff der Umkrystallisation des verunreinigten Chrysens aus siedendem Thiophen⁸⁾ sehr rasch reines Chrysen gewinnen können. Die HHrn. Ruzicka und Thomann haben dagegen die Cholsäure zunächst durch 2-stdg. Erhitzen in Cholatriensäure übergeführt und diese dann mit der doppelten Menge Selen, als wir sie verwendet hatten, dehydriert. Die Umkrystallisation aus Thiophen haben sie unterlassen.

Daß diese Abänderungen unserer Arbeitsweise Art, Ausbeute und Mengen-Verhältnis der Dehydrierungs-Kohlenwasserstoffe nicht unerheblich verschieben können, erscheint mir nach meinen Erfahrungen auf diesem Gebiete so gut wie sicher. Ich bin davon überzeugt, daß die Autoren, wenn sie sich genau an die von uns ausgearbeiteten Versuchs-Bedingungen halten, ebenso wie wir Chrysen unter den Dehydrierungs-Kohlenwasserstoffen der Cholsäure feststellen werden.

Die HHrn. Ruzicka und Thomann beschäftigen sich aber in ihrer Mitteilung auch mit dem besonders interessanten, von O. Diels, W. Gädke und P. Körding⁹⁾ aus Cholesterin, Cholesterylchlorid, Ergosterin und anderen Cholesterin-Derivaten durch Dehydrierung mit Selen in reichlicher Menge gewonnenen Kohlenwasserstoff, dem von uns auf Grund zahlreicher Analysen und seiner Überführung in eine charakteristische Verbindung $C_{18}H_{13}O_2N$ die Formel $C_{18}H_{16}$ erteilt worden ist. Sie sprechen dabei die Notwendigkeit der Struktur-Aufklärung dieses Stoffes, z. B. durch Synthese, aus. Ich darf wohl für mich und meine Mitarbeiter die bereits früher ausgesprochene Bitte¹⁰⁾ wiederholen, daß uns die weitere experimentelle Bearbeitung der von uns entdeckten und, wie sich jetzt herausgestellt hat, für das Cholesterin-Problem besonders wichtigen Abbau-Kohlenwasserstoffe überlassen bleibt.

103. Richard Kuhn und Edgar Lederer: Über die Farbstoffe des Hummers (*Astacus gammarus* L.) und ihre Stammsubstanz, das Astacin.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für medizin. Forschung, Heidelberg, Institut für Chemie.]
(Eingegangen am 22. Februar 1933.)

Das blauschwarze Pigment des Hummer-Panzers stellt nach J. Verne¹⁾ eine Eiweiß-Verbindung eines roten Kohlenwasserstoffs dar. Dieser wurde krystallisiert erhalten und als Isomeres des Carotins angesprochen. Nachdem im Pflanzenreich bisher 4 Carotin-Farbstoffe der Formel $C_{40}H_{56}$ nachgewiesen sind, nämlich α -, β -, γ -Carotin und Lycopin, interessierte uns die Zusammensetzung des roten tierischen Farbstoffs und die eigentümliche Bindungsart des Carotins an Eiweiß, die zu einer Farbvertiefung von rot bis blaugrün führt. Das Ergebnis unserer Untersuchung ist, daß im skandinavischen Hummer nur sehr wenig Carotin vorkommt. Die ganz überwiegende Menge der Farbstoffe besteht aus Derivaten einer roten, hochungesättigten Carbonsäure, die schön krystallisiert. Sie zeigt im

⁸⁾ Vielleicht wirkt dieses Lösungsmittel deswegen so ausgezeichnet, weil es — die sicher vorhandenen — selen-haltigen Verunreinigungen gelöst hält.

⁹⁾ A. 459, 16 [1927].

¹⁰⁾ loc. cit., S. 10.

¹⁾ Arch. Morph. gén. expér. 16, 1 [1923].

Sichtbaren nur 1 breites Absorptionsband um 500 μ . Wir schlagen für diesen natürlichen Polyen-Farbstoff den Namen Astacin vor. Die Farbstoffe des Hummers, die sich im Panzer, in der Hypodermis und in den Eiern vorfinden, leiten sich vom Astacin ab durch verschiedenartige Veresterung, sowie durch Paarung der Ester mit Eiweiß.

In der zoologischen und biochemischen Literatur finden sich bereits viele, zum Teil wertvolle Beobachtungen über die Pigmente von Crustaceen²⁾. Im Jahre 1876 hat G. Pouchet³⁾ aus Hypodermis und Eiern des Hummers und anderer Crustaceen einen Farbstoff in violetten, metallisch glänzenden Krystallen erhalten und daneben ein gelbes Pigment beobachtet. Keinem späteren Bearbeiter gelang es, den krystallisierenden Farbstoff G. Pouchets wieder zu erhalten. In einer Untersuchung aus dem Laboratorium von Ch. Dhéré hat G. Vegezzi⁴⁾ die Vermutung ausgesprochen, daß es sich um „un produit d'altération“ gehandelt habe, eine Ansicht, die sich bei J. Verne⁵⁾ wiederfindet. H. N. Moseley⁶⁾ gibt für das „crustaceo-rubin“, das er in verschiedenen Crustaceen neben einem gelben Farbstoff auffand, eine breite Absorptionsbande mit der Axe bei 490 μ an. F. Jolyet und P. Renard⁷⁾ untersuchten das gelbe Pigment im Blute von Krabben. C. de Merejkowski⁸⁾ hatte anscheinend Lösungen desselben Farbstoffs in Händen und benannte ihn „Zoon-erythrin“.

In den Eiern der Seespinne (*Maja squinado*) stellte R. Maly⁹⁾ die Anwesenheit eines roten (Vitello-rubin, 1 breites Absorptionsband bei 486 μ) und eines gelben Pigments (Vitello-lutein, 2 Absorptionsbanden bei 486 und 458 μ) fest. Beide Farbstoffe gaben mit konz. Schwefelsäure Blaufärbung. C. Fr. W. Kruckenberg¹⁰⁾ machte gleichartige Beobachtungen und zählte die Pigmente der Seespinnen-Eier, sowie andere Crustaceen-Farbstoffe zu den Lipochromen. Er hielt eine Identität mit Rhodophan für möglich, das W. Kühne¹¹⁾ in Vogel-Federn nachgewiesen hatte und das ebenfalls nur eine Absorptionsbande bei F zeigt. Ch. A. Mc. Munn¹²⁾ untersuchte Leber und Galle verschiedener Crustaceen und beschreibt in einigen Fällen ein rotes Tetron-erythrin. Später beschäftigte er sich auch mit den Farbstoffen der Hypodermis¹³⁾. Tetron-erythrin wurde von W. D. Halliburton¹⁴⁾ im Blut von Crustaceen beobachtet. R. Blanchard¹⁵⁾ wies auf die Ähnlichkeit des Pigments von Diaptomus mit Carotin hin, konnte aber keine Absorptionsbanden beobachten. W. Zopf¹⁶⁾ und M. H. Newbiggin¹⁷⁾ machten genauere Angaben über den roten Farbstoff von Maja-Eiern, dessen saure Natur sie zuerst erkannten. Das ursprünglich vorliegende grüne Pigment ist wasser-löslich und wird durch Alkohol in das rote Tetron-erythrin verwandelt, das nicht mehr wasser-löslich ist. Nach F. Kornfeld¹⁸⁾ findet sich im Krebs-Panzer Alizarin. „Das Rotwerden der Krebse beim Kochen ist nichts anderes als

²⁾ Zur Literatur bis 1922 vergl. I. S. Palmer, Carotinoids and related pigments, New York 1922, S. 161ff.

³⁾ Journ. Anat. physiol. **12**, 1—90, 113—165 [1876]; vergl. auch G. Pouchet, Compt. rend. Acad. Sciences **74**, 757 [1872]. ⁴⁾ Dissertat. Fribourg 1916, S. 86.

⁵⁾ Arch. Morph. gén. expér. **16**, 1 [1923], u. zw. S. 106.

⁶⁾ Quat. Journ. micr. Science **17**, 12 [1877]. ⁷⁾ Arch. Physiol. **4**, 548 [1877].

⁸⁾ Compt. rend. Acad. Sciences **93**, 1029 [1881]; Bull. Soc. zool. France **8**, 81 [1883].

⁹⁾ Monatsh. Chem. **2**, 351 [1881].

¹⁰⁾ vergl. Physiolog. Studien [2] **3**, 99 [1882]; Grundzüge einer vergleichenden Physiologie der Farbstoffe und der Farben, Heidelberg 1884.

¹¹⁾ Unterss. aus d. Physiol. Institut d. Universität Heidelberg **4**, 169 [1887].

¹²⁾ Proceed. Roy. Soc. **35**, 370 [1883].

¹³⁾ Ch. A. Mc. Munn, Quart. Journ. micr. Science, N. S. **30**, 51 [1890].

¹⁴⁾ Journ. Physiol. **6**, 300 [1885].

¹⁵⁾ Compt. rend. Acad. Sciences **110**, 292 [1890].

¹⁶⁾ Beitr. physiol. Morphol. nieder. Organismen **3**, 26 [1893].

¹⁷⁾ Journ. Physiol. **21**, 237 [1897]. ¹⁸⁾ Chem.-Ztg. **36**, 59 [1912], **37**, 71 [1913].

Türkischrot-Lackbildung, nichts anderes als ein Vorgang des Färbens animalischer Substanz mit Alizarin¹⁹⁾. Diese Ansicht wurde sehr bald widerlegt¹⁹⁾. G. Vegezzi²⁰⁾ wandte die chromatographische Analyse (M. Tswett) in der von Ch. Dhéré modifizierten Art auf die Pigmente der Maja-Eier an und beobachtete eine große Zahl verschiedener Farbringe.

Soweit spektroskopische Beobachtungen ausgeführt wurden, haben die angeführten Autoren übereinstimmend festgestellt, daß der rote Farbstoff der Crustaceen nur 1 Absorptionsbande im Sichtbaren, in der Nähe von F, aufweist und sich dadurch von bekannten Carotinoiden deutlich unterscheidet. Umso auffallender ist die schon eingangs erwähnte, in mehreren Arbeiten mitgeteilte Feststellung von J. Verne²¹⁾, daß Hypodermis und Panzer von Crustaceen in der Hauptsache einen farbigen Kohlenwasserstoff enthalten. Dieser zeigte alle für Carotin angegebenen Eigenschaften, nur waren die Absorptionsbanden mitunter etwas langwelliger (Hummer). Durch Einwirkung von Alkohol auf den blauen Panzer eines frisch gehäuteten Tiers hat J. Verne²²⁾ die Ausscheidung roter, mikroskopischer Farbstoff-Krystalle erzielt. In der Hypodermis konnte er neben dem roten Farbstoff, der sich in den Chromatophoren befindet, blaue Kryställchen von „Carotin-Albumin“²³⁾ beobachten.

E. Lönnberg und H. Hellström²⁴⁾ untersuchten spektroskopisch und mit Hilfe der Antimontrichlorid-Reaktion die Farbstoffe verschiedener Crustaceen. Im Integument eines frisch gehäuteten Hummers stellten sie die Anwesenheit eines gelben, carotin-ähnlichen Pigments fest, das bei der Verteilung in Benzin blieb (Banden bei 490 und 457 m μ in Benzin). Daneben fanden sie einen Farbstoff, der bei der Verteilung in den Alkohol ging und ein breites unsymmetrisches Absorptionsband bei 494 m μ (Äther) zeigte. Die Beobachtungen der schwedischen Forscher stimmen mit dem präparativen Ergebnis unserer Untersuchung überein.

Die Frage, ob die Farbstoffe der Crustaceen alimentären Ursprungs sind oder endogen gebildet werden, wurde von M. Abeloos und E. Fischer²⁵⁾ an *Carcinus maenas*, von A. Lwoff²⁶⁾ an *Idya furcata* und von J. Verne²⁷⁾ wieder an *Carcinus maenas* untersucht. Diese Untersuchungen deuten darauf hin, daß Carotinoide der Nahrung einen wichtigen Faktor bei der Farbstoff-Bildung darstellen, daß aber in gewissen Fällen auch eine endogene Bildung aus farblosen Verbindungen stattfindet. G. Teissier²⁸⁾ beobachtete, daß die Eier von Wasser-Flöhen, *Daphnia pulex*, nur Farbstoff enthalten, wenn die Tiere mit der Nahrung Carotin aufnehmen. Bei Fütterung von Lycopin, Lutein, Xanthophyll, Crocetin und Bacterio-purpurin blieb die Farbstoff-Bildung aus.

Aus den angeführten Arbeiten geht hervor, daß zahlreiche Forscher Lösungen eines besonderen Crustaceen-Farbstoffes in Händen gehabt

¹⁹⁾ E. Grandmougin, Chem.-Ztg. **36**, 1377 [1912]. ²⁰⁾ a. a. O., Fußnote 4.

²¹⁾ Compt. rend. Soc. Biol. **83**, 963, 988 [1920]; Thèse Doct. ès Sciences nat., Paris 1921; Arch. Morph. gén. expér. **16**, 1 [1923].

²²⁾ Compt. rend. Soc. Biol. **94**, 1349 [1926].

²³⁾ vergl. auch E. Chaton, A. Lwoff u. M. Parat, Compt. rend. Soc. Biol. **94**, 567 [1926]. ²⁴⁾ Arkiv för Zoologi **23**, 1 [1932].

²⁵⁾ Compt. rend. Soc. Biol. **95**, 383 [1926], **96**, 374 [1927]; E. Fischer, Compt. rend. Soc. Biol. **96**, 850 [1927]. ²⁶⁾ Bull. Biolog. France Belg. **61**, 193 [1927].

²⁷⁾ Compt. rend. Soc. Biol. **97**, 1290 [1927].

²⁸⁾ Compt. rend. Soc. Biol. **109**, 813 [1932]; s. a. J. Verne, Bull. Soc. zool. France 1923, sowie G. Teissiers Beobachtungen an *Clava squamata*, Trav. Station zool. Wime-reux **9**, 233 [1925].

haben, der nur 1 Absorptionsbande im Sichtbaren bei F besitzt und unter den verschiedensten Namen (Crustaceo-rubin, Zoon-erythrin, Vitello-rubin, Tetron-erythrin) beschrieben wurde. Als „Zoon-erythrin“ ist aber auch (J. Verne) ein Farbstoff mit charakteristischem mehrbandigen Carotin-Spektrum bezeichnet worden. Den von uns isolierten Hummer-Farbstoff hat möglicherweise schon G. Pouchet (1876), aber kein späterer Forscher zur Krystallisation gebracht²⁹⁾. Es kann sich aber auch um Derivate (Ester) gehandelt haben, und G. Pouchet hat keine Benennung vorgenommen. Aus diesen Gründen scheint uns ein neuer Name (Astacin) für die vorliegende Carbonsäure erwünscht.

Vorkommen und Extraktion der Pigmente.

Der norwegische Hummer (*Astacus gammarus* L.)³⁰⁾, den wir untersucht haben, besitzt einen Panzer, der auf der Rückenseite tief braunstichig schwarz³¹⁾ gefärbt ist. Der Panzer der Bauchseite ist fast farblos und orangerot gefleckt. Unter dem Panzer liegt die rote Hypodermis, die sich von diesem abtrennen läßt. Sie enthält Chromatophore (Erythrophone)³²⁾, in denen die Pigment-Bildung stattfinden soll. Bei den weiblichen Tieren entwickeln sich die grünschwarzen Eier zunächst in der Bauchhöhle in den Ovarien. Einige Zeit nach der Befruchtung werden sie ausgestoßen und an die Unterseite des Schwanzes geklebt. Bei fortschreitender Entwicklung schlägt die Farbe der Eier von grünschwarz nach rot um.

Unsere Untersuchung bezieht sich auf die Farbstoffe von Panzer, Hypodermis und Eiern, die getrennt verarbeitet wurden. Die braunschwarzen bzw. grünschwarzen Farbstoffe des Panzers und der Eier sind nicht ohne Veränderung durch organische Lösungsmittel extrahierbar. Verreibt man die Eier unter Zusatz von Quarzsand mit Wasser, so erhält man eine tiefgrüne kolloidale Lösung. Sie läßt eine Absorptionsbande in der Nähe von 500 m μ und starke Endabsorption im Rot erkennen. Durch Sättigen mit Ammoniumsulfat läßt sich der grüne Farbstoff aussalzen und kann dann wieder in Wasser aufgenommen werden. Durch kurzes Erhitzen, sowie auf Zusatz von Alkohol oder Aceton schlägt die grüne Farbe nach rot um, wobei gleichzeitig Eiweiß ausfällt. Auch Säuren und Alkalien zerlegen das Chromo-proteid unter Rotfärbung und Ausflockung von Eiweiß. Verwendet man Essigsäure, so bleibt das Protein in Lösung, trotzdem schlägt die Farbe von grün nach rot um. Diese Erscheinungen entsprechen denjenigen, die J. Verne für sein „Carotin-Albumin“ ausführlich beschrieben hat. Trotzdem scheint es sich nicht um identische Pigmente zu handeln. Die von J. Verne in krystallisiertem Zustande isolierte rote Farbstoff-Komponente aus französischen Hummern hat sich nämlich, wie schon erwähnt, als carotin-ähnlicher Kohlenwasserstoff erwiesen, während die rote Farbstoff-Komponente aus norwegischen Hummern eine Carbonsäure ist.

²⁹⁾ Dies gilt auch für eine eben erschienene Mitteilung von H. Willstaedt, Biochem. Ztschr. **258**, 301 [1933].

³⁰⁾ Die ältere Bezeichnung lautete *Homarus gammarus*. Sie wurde vor kurzem in *Astacus gammarus* abgeändert; vergl. Claus-Grobbe-Kühn, Lehrb. Zool., 10. Aufl., Berlin 1932, S. 625.

³¹⁾ Bei französischen Hummern ist der Panzer nach freundlicher Mitteilung von Hrn. A. Lwoff blauschwarz gefärbt.

³²⁾ Abbild. bei J. Verne, Arch. Morph. gén. expér. **16** [1923], Tafel 2.

Im braunschwarzen Panzer dürfte ebenfalls eine Eiweiß-Verbindung der roten Farbstoff-Komponente vorliegen. Die Extraktion mit Wasser ist jedoch durch inkrustierende Calciumsalze sehr erschwert. Wie bei den Eiern, wird auch im Panzer das Chromo-proteid durch Erhitzen oder durch Eintragen in verd. Salzsäure zerlegt, wobei die Farbe nach rot unschlägt. Der rote Farbstoff ist dann in Aceton und anderen organischen Solvenzien löslich. Aus der roten Hypodermis lassen sich die Farbstoffe ohne weiteres in Lösung bringen.

Isolierung der Farbstoffe: Der Aceton-Extrakt des mit verd. Salzsäure entkalkten Panzers ist orangerot gefärbt. Nach Verdünnen mit Wasser läßt sich aller Farbstoff durch Benzin ausschütteln. Die Benzin-Lösung gibt an 90-proz. Methanol nur wenig ab. Verseift man mit alkohol. Natronlauge, so wird die Anwesenheit von zwei verschiedenen Pigmenten offenbar: Bei der Entmischung bleibt der eine Farbstoff im Benzin, der andere geht in die alkohol. Schicht. Die gelbe Benzin-Lösung enthält nur etwa 1% des gesamten Farbstoffs und zeigt Absorptionsbanden bei 483 und 448 m μ . Vermutlich handelt es sich um Carotine. Die tiefrote Alkohol-Lösung zeigt nur 1 breites Absorptionsband (350—450 m μ). Beim Ansäuern mit Essigsäure scheiden sich glitzernde Kryställchen aus. Zur Reinigung wird in wenig Pyridin gelöst und mit etwas Wasser versetzt, wobei sich das Astacin in metallisch glänzenden, violetten Nadelchen ausscheidet (Figur 1). Aus 1 Tier werden 3—4 mg erhalten.

Der mit Aceton extrahierte Farbstoff der roten Hypodermis geht nach Verdünnen mit Wasser quantitativ in Benzin. Aus der Benzin-Lösung läßt sich fast kein Farbstoff durch 90-proz. Methanol ausschütteln. Nach Einwirkung von alkohol. Natronlauge geht das Astacin als Natriumsalz in den wäßrigen Alkohol. Im Benzin bleibt wieder nur sehr wenig Farbstoff (Carotin-Fraktion). Beim Ansäuern der alkohol.-alkalischen Schicht mit Essigsäure fällt das Astacin in glitzernden, violetten Kryställchen aus, die aus Pyridin durch Zusatz von etwas Wasser umkrystallisiert werden. Die Hypodermis eines Tieres liefert 7—8 mg.

Ganz andere Eigenschaften zeigt der rote Farbstoff, der beim Behandeln der grünen Eier mit Aceton in Lösung geht. Nach Verdünnen mit Wasser gibt zwar die Aceton-Lösung wieder allen Farbstoff an Benzin ab. Man kann ihn jedoch, ohne zu verseifen, durch 90-proz. Methanol der Benzin-Lösung entziehen. Aus der alkohol. Lösung scheidet sich auf Zusatz von Wasser der Farbstoff in blauviolett glänzenden Kryställchen aus. Beim Umkrystallisieren aus Pyridin-Wasser erhält man die in Figur 3 abgebildeten Prismen. Es handelt sich um einen Ester des Astacins (Ovo-ester), der durch Verseifen die freie Säure liefert, die in allen Eigenschaften mit den aus Panzer und Hypodermis dargestellten Präparaten übereinstimmt. Aus 1 Ovarium werden 2—3 mg umkrystallisierten Esters erhalten.

Es kommen also zwei Arten von Astacin-estern vor; epiphasische³³⁾ (Panzer und Hypodermis) und ein hypophasischer³⁴⁾ (Eier). Die epiphasischen Ester wurden noch nicht näher untersucht. Die folgende Übersicht stellt die aufgefundenen Zusammenhänge dar:

³³⁾ Bei der Verteilungsprobe (Benzin/90-proz. Methanol) im Benzin bleibend.

³⁴⁾ Bei der Verteilungsprobe im Alkohol bleibend.

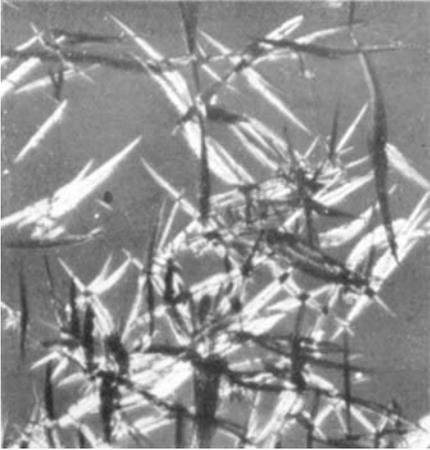


Fig. 1: Astaein aus Hypodermis, zwischen gekreuzten Nicols.



Fig. 2: Astaein aus Eiern, Verseifungsprodukt des Ovo-esters.

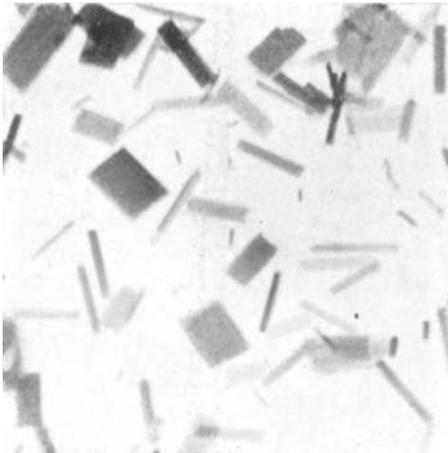


Fig. 3: Ovo-ester des Astacins.

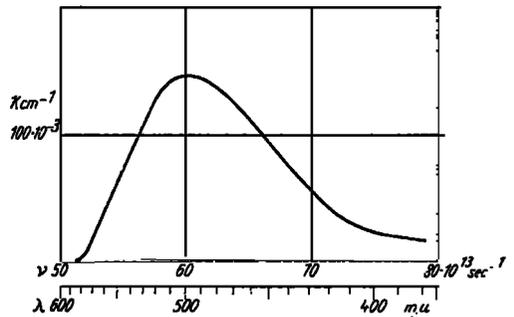


Fig. 4: Astaein in Pyridin.

Ordinaten: $\kappa = \frac{2.30}{c \cdot d} \log \frac{I_0}{I}$ (d in cm,
c in Molen/Liter für Mol.-Gew. = 400).

Panzer:	Hypodermis:	Eier:
Braunschwarzes Chromo-proteid	Rotes Lipochrom (unlöslich in Wasser)	Grünes Chromo-proteid (löslich in Wasser)
HCl ↓ Aceton	Extrahiert mit Aceton:	↓ Aceton
Roter, epiphasischer Astacin-ester	Roter, epiphasischer Astacin-ester	↓ Aceton
↓ NaOH	↓ NaOH	Roter, hypophasischer Ovo-ester (kryst., Fig. 3)
Astacin	Astacin (Fig. 1)	↓ NaOH
3—4 mg	7—8 mg	Astacin (Fig. 2)
		2—3 mg

Die angegebenen Ausbeuten beziehen sich auf Tiere von etwa 500 g Gewicht.

Beschreibung des Astacins.

Astacin kristallisiert aus Pyridin auf Zusatz von etwas Wasser in metallisch glänzenden, violetten Nadelchen, die zwischen gekreuzten Nicols gerade Auslöschung zeigen (Fig. 1). Mitunter erhält man den Farbstoff in Aggregaten von feinen, sichelförmig gebogenen Gebilden (Fig. 2). Die Farbe der Präparate ist derjenigen des Bixins vergleichbar. Astacin ist unlöslich in Wasser und in verd. Natronlauge, nahezu unlöslich in Äther, Petroläther, Methanol und Schwefelkohlenstoff, merklich löslich in Benzol, Essigester und Eisessig, gut löslich in Chloroform, Pyridin und Dioxan. Die Farbe einer konz. Pyridin-Lösung ist blutrot, verdünnte Lösungen erscheinen orange-rot. Das Absorptionsspektrum (Fig. 4) läßt nur eine anscheinend homogene Absorptionsbande mit einem Maximum bei 500 μ erkennen. Bei der Verteilung zwischen Benzin und 90-proz. Methanol geht fast alles Astacin in die obere Schicht. Fügt man einen Tropfen Lauge zu, so geht der gesamte Farbstoff in den Alkohol und kann auch durch Zusatz von viel Wasser nicht mehr in das Benzin zurückgetrieben werden. Säuert man an, so nimmt das Benzin wieder den gesamten Farbstoff auf. Astacin hat also die Eigenschaften einer Säure.

In konz. Schwefelsäure löst es sich mit tiefblauer Farbe. Eine ätherische Lösung gibt mit konz. oder 25-proz. Salzsäure keine Farbreaktion. Mit Antimontrichlorid in Chloroform wird eine bläulich grüne Lösung erhalten, die starke Endabsorption im Rot zeigt. Der Schmelzpunkt ist von der Art des Erhitzens stark abhängig. Wir fanden ihn bei langsamem Erhitzen im evakuierten Röhrchen bei 240—243° (Berl-Bock; abgekürzt. Thermom.), am Objektträger nach G. Klein bei 265—267°, übereinstimmend für die aus Panzer, Hypodermis und Eiern gewonnenen Präparate. Aus der Benzin-Lösung des epiphasischen Hypodermis-Esters wird durch Calciumcarbonat nichts adsorbiert, ein Gemisch von Aluminiumoxyd: Paser-Tonerde (4:1) hält den gesamten Farbstoff in der obersten Schicht fest. Eine chromatographische Differenzierung des Astacins konnte mit Rücksicht auf die Eigenart der Löslichkeits- und Adsorptions-Verhältnisse vorläufig nicht durchgeführt werden.

Astacin ist frei von Stickstoff und hinterläßt bei der Verbrennung keine Asche. Nach den ersten Elementaranalysen enthält es 80.0% C und 8.0% H. Unter der Annahme von 3 Sauerstoffatomen im Molekül käme die Formel $C_{27}H_{32}O_3$ (80.14% C, 7.99% H) oder eine ähnliche in Betracht. Bei der katalytischen Hydrierung, die wir Hrn. E. F. Möller verdanken, wurden, bezogen auf diese Formel, 10.3 Mole Wasserstoff aufge-

nommen. Danach ist der Farbstoff im wesentlichen aliphatischer Natur und stimmt darin mit den Carotinoiden überein. Von den bekannten Carotinoiden unterscheidet sich das Astacin vor allem durch den spektralen Befund, der die charakteristische Bandenfolge vermissen läßt.

Im Gegensatz zu Rohprodukten ist reines Astacin gegen Luft-Sauerstoff sehr beständig. An A-vitaminfrei ernährten Ratten zeigt der Farbstoff auch in täglichen Mengen von 30 γ keine Wachstums-Wirkung.

Beschreibung der Versuche.

1. Panzer: Der Panzer eines frisch getöteten Tieres und die übrigen verkalkten Teile, wie Scheren, Beine usw., wurden in 0.2-n. Salzsäure gelegt, wodurch sie nach einiger Zeit rote Farbe erlangten. Die entkalkten Teile (Trockengewicht 75 g) wurden mit Wasser abgespült und noch möglichst vollkommen von anhaftenden Teilen der Hypodermis befreit. Zur Extraktion des Farbstoffes wurde 3-mal in Aceton gelegt und je 1–2 Stdn. stehen gelassen. Nach dieser Behandlung waren nur noch die Fühler stark rot gefärbt.

Die vereinigten Aceton-Extrakte wurden mit Wasser verdünnt und mit Benzin ausgeschüttelt. Die Benzin-Lösung wurde mit Wasser gewaschen und 3-mal mit 90-proz. Methanol durchgeschüttelt, wobei nur wenig Farbstoff in die untere Schicht ging. Dieser Anteil ließ sich in wenig Benzin aufnehmen und wurde mit der Hauptmenge vereinigt. Die tiefrote Benzin-Lösung (50 ccm) versetzten wir mit 3 ccm 2-n. Natronlauge und soviel absol. Äthylalkohol als nötig war, um eine homogene Lösung zu erhalten. Nach 5-stdg. Stehen im Dunkeln entmischten wir durch Zusatz von Wasser, wobei eine nur schwach gelb gefärbte Benzin-Schicht und eine tief rote alkoholische Schicht entstand. Die alkalische Astacin-Lösung wurde mit wenig frischem Benzin überschichtet und der Farbstoff durch vorsichtiges Zusetzen von Essigsäure ausgefällt. Er wurde abgesaugt, mit heißem Methanol gewaschen, in 4 ccm reinstem Pyridin kalt gelöst und durch Zusatz einiger Tropfen Wasser zur Krystallisation gebracht.

2. Hypodermis: Die Abtrennung der Hypodermis vom Panzer erfolgte soweit als möglich mechanisch; bei einzelnen Teilen gelang sie jedoch erst nach ganz kurzer Behandlung mit 0.2-n. Salzsäure, wobei Eiweiß koagulierte. Extraktion mit Aceton, Verseifung und Isolierung erfolgten wie bei Verarbeitung des Panzers. Das umkrystallisierte Astacin wurde zur Analyse über Chlorcalcium und Kaliumhydroxyd bei 20⁰ und 1 mm getrocknet.

2.558 mg Sbst.: 7.50 mg CO₂, 1.82 mg H₂O. — 3.234 mg Sbst.: 9.505 mg CO₂, 2.295 mg H₂O.

Gef. C 79.96, 80.15, H 8.15, 7.94.

3. Eier: Ein mit Eiern gefülltes Ovarium (Gewicht nach Extraktion und Trocknen 5 g) wurde in 50 ccm Aceton zerrieben, wodurch die grüne Farbe sofort nach rot umschlug und der Farbstoff in Lösung ging. Nach 1 Stde. wurde die Flüssigkeit abgossen und der Farbstoff durch noch 2-malige Extraktion mit je 50 ccm Aceton vollkommen in Lösung gebracht. Nach Überschichten der vereinigten Extrakte mit 20 ccm Benzin wurde der gesamte Farbstoff durch Zusatz von Wasser in die obere Schicht getrieben und diese mit Wasser gewaschen. Die rote Benzin-Lösung wurde

darauf mit 20 ccm 90-proz. Methanol geschüttelt, wobei fast der gesamte Farbstoff in die untere Schicht ging. Das Benzin war nurmehr schwach gelb gefärbt und zeigte Banden bei 483, 449 μ (Carotin). Diese Lösung wurde entfernt und die dunkelrote Methanol-Lösung, deren Farbstoff ein breites Band mit dem Maximum bei 490 μ erkennen ließ, mit frischem Benzin überschichtet. Durch vorsichtigen Zusatz von etwas Wasser konnte dann der gesamte Farbstoff violett-metallisch glänzend in der Zwischenschicht ausgefällt werden. Nach kurzem Stehen wurde abgenutscht und mit etwas heißem Methanol gewaschen. Durch Auflösen in Pyridin und Zusatz von etwas Wasser wurden 2,5 mg Krystalle des Ovo-esters in Form von Rhomboedern, die oft schwalbenschwanz-artige Zwillinge bildeten, erhalten. Der Schmp. lag bei 245–248⁰ nach G. Klein.

Die Krystalle sind gut löslich in Pyridin, Dioxan und Chloroform, sehr schwer löslich in anderen organischen Lösungsmitteln. Bei der Verteilungsprobe geht der Ovo-ester in die alkohol. Schicht. Durch Verdünnen mit Wasser läßt er sich in das Benzin treiben. Dies gelingt auch nach Zusatz von Alkali. Er besitzt demnach im Gegensatz zum Astacin noch keine sauren Eigenschaften. Nach Verseifung des Ovo-esters wurden aus Pyridin-Wasser Krystalle erhalten, die nach Krystallform, Schmelzpunkt und Verteilungsverhalten mit Astacin identisch waren.

Für die weitere Bearbeitung des Astacins ist der Umstand günstig, daß der Farbstoff nach den angegebenen Verfahren auch aus dem Panzer gekochter Tiere unschwer krystallisiert zu erhalten ist. Hrn. A. L. Woff haben wir für viele wertvolle Ratschläge zu danken.

**104. Max Ulmann und Kurt Hess:
Über Zustands-Änderungen in Lösungen von Cellobiose, Maltose
und „Cellotriose“. (Osmometrische Untersuchungen an verdünnten
Lösungen polymerer Kohlenhydrate, III. Mitteil.¹⁾)**

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Chemie, Berlin-Dahlem.]

(Eingegangen am 11. Februar 1933.)

Ungeklärte Erscheinungen im Verhalten der natürlichen Polysaccharide und ihrer Abbauprodukte gegenüber Lösungsmitteln stellen die Aufgabe, die bisherigen Erfahrungen über Lösungsvorgänge bei den einfachen organischen Substanzen und im besonderen bei den bekannten Zuckern zu erweitern.

An verdünnten Lösungen der „Hendekamethyl-celotriose“ in Wasser wurde die auffallende Beobachtung gemacht, daß der Lösungs-Zustand dieser Substanz von Substanz-Konzentration, p_H der Lösung²⁾ und Temperatur³⁾ abhängt. Die bei Änderung dieser Bedingungen erfolgende Änderung der mittleren Molekülgröße verläuft unter Umständen, z. B. im Falle der Molekül-Verkleinerung, so langsam, daß der Vorgang kinetisch verfolgt werden kann. Für den zeitlichen Verlauf der Reaktion ist eine S-förmige Kurve charakteristisch.

¹⁾ I. Mitteil.: M. Ulmann, Biochem. Ztschr. **251**, 458 [1932]; II. Mitteil.: K. Hess u. M. Ulmann, A. **498**, 77 [1932].

²⁾ vergl. II. l. c.

³⁾ M. Ulmann u. K. Hess, B. **66**, 68 [1933].