

Leuko-Acetyl-Verbindung (Oktaacetyl-tetrahydro-Verbindung).

9.6 mg Spinon A wurden in 0.2 ccm Acetanhydrid suspendiert und mit 50 mg Zinkstaub versetzt. Dann wurde 0.1 ccm Pyridin zugefügt. Die rotviolette Mischung wurde auf dem Wasserbad erwärmt, wobei sie sofort hellgelb wurde. Es wurde heiß vom Zinkstaub abgessogen, wobei die Leuko-Acetyl-Verbindung als weiße, flockige Substanz ausfiel. Es wurde zentrifugiert und der Bodenkörper aus 50-proz. Essigsäure umkrystallisiert. Beim Erhitzen über 200° findet allmählich Zersetzung unter Dunkelfärbung statt.

3.950 mg Stbst.: 7.865 mg CO₂, 1.57 mg H₂O. — 2.343 mg Stbst. verbr. 2.999 ccm n_{100} -NaOH.
C₂₈H₂₈O₁₈ (620.2). Ber. C 54.18, H 4.55, COCH₃ 55.47. Gef. C 54.30, H 4.45, COCH₃ 55.07.

2-Acetyl-3-oxy-naphthochinon-(1.4).

Die Substanz krystallisiert aus Benzin in braungelben Blättchen vom Schmp. 126—126.5°. Sie ist in Wasser kaum, in Natriumbicarbonat leicht mit tiefgelber Farbe löslich.

3.905 mg Stbst.: 9.58 mg CO₂, 1.27 mg H₂O. — 12.160 mg Stbst.: 5.24 ccm n_{100} -NaOH (5-n. CrO₃).

C₁₂H₈O₄ (216). Ber. C 66.67, H 3.70, (C)CH₃ 6.94. Gef. C 66.91, H 3.64, (C)CH₃ 6.47.

216 mg Stbst., in 4 ccm *n*-Natronlauge und 20 ccm Wasser gelöst, lieferten bei der Oxydation mit 525 mg Kaliumpermanganat in 25 ccm Wasser Phthalsäure, die als Anhydrid (55 mg) vom Schmp. 128.5—129° (Mischprobe 129.5—130.5°) identifiziert wurde.

Hrn. Dr. H. Hartmann sowie Hrn. W. Schulz haben wir für experimentelle Mitarbeit zu danken, Hrn. Prof. Dr. R. Dohrn sowie Hrn. Dr. O. Schartau für die Überlassung und Präparierung des Ausgangsmaterials.

213. Kurt Wallenfels: *Komplexverbindungen von Echinochrom und verwandten Oxynaphthochinonen.*

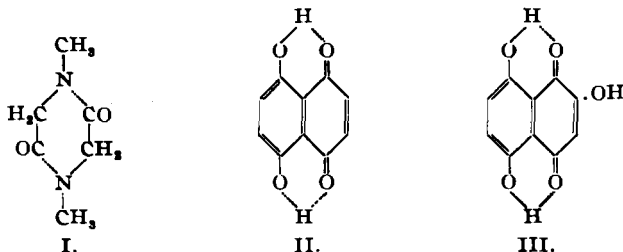
[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizin. Forschung Heidelberg, Institut für Biologie.]
(Eingegangen am 28. Juli 1941.)

A) Komplexverbindungen mit Diketopiperazinen.

P. Pfeiffer und O. Angern¹⁾ prüften 1926 die Frage, ob das Färben der Wolle und Seide ein echter chemischer Vorgang ist oder aber auf einer unspezifischen Adsorption des Farbstoffs an der Faseroberfläche beruht. Sie führten zu diesem Zweck Modellversuche mit Säureamiden durch und konnten zeigen, daß sich diese mit bestimmten phenolischen Farbstoffen zu wohlcharakterisierten Molekülverbindungen vereinigen. Das cyclische Säureamid Sarkosinanhydrid (I) erwies sich als besonders geeignet zur Darstellung derartiger krystallisierter Komplexe. Als Farbstoff-Komponenten kamen Phenole, Phenolazofarbstoffe und Oxychinone in Frage, die ein freies Hydroxyl enthielten, d. h. eines, das nicht mit einer im gleichen Molekül anwesenden Keto- oder Azogruppe Nebenvalenzbindung einzugehen in der

¹⁾ Ztschr. angew. Chem. **39**, 253 [1926]; P. Pfeiffer u. Liu Wang, Ztschr. angew. Chem. **40**, 983 [1927].

Lage ist. Diese von A. Werner²⁾ zum ersten Male ausgesprochene koordinative Absättigung durch eine intramolekulare Wasserstoffbrücke ist später im englischen und amerikanischen Schrifttum als „Chelation“ (Scherenbindung)³⁾ bezeichnet worden. Sie läßt sich nachweisen durch die Untersuchung des Ultrarotspektrums, in welchem die für Hydroxyl charakteristische Absorptionsbande fehlt, falls dieses „cheliert“ ist. Beispiele hierfür sind *o*-Oxy-acetophenone, 1-Oxy-anthrachinon, *o*-Oxy-azofarbstoffe u. a. Von den Oxynaphthochinonen, die uns im Zusammenhang mit den Ei- und Stachel-Farbstoffen der Seeigel⁴⁾ beschäftigen, wurde bisher das Ultrarotspektrum von Naphthazarin (II) untersucht und das Fehlen der OH-Absorption festgestellt⁵⁾. Die Pfeiffersche Erkenntnis der besonderen Eigenschaften von Verbindungen mit innerkomplex gebundenem Wasserstoff⁶⁾ war schon lange bekannt, bevor der Name „Chelation“ geprägt wurde. Das Unvermögen von Phenolen, mit Sarkosinanhidrid Molekülverbindungen zu bilden, ist zugleich der beste chemische Nachweis für eine innermolekulare Wasserstoffbindung⁷⁾. Aus Naphthazarin und Sarkosinanhidrid läßt sich in Übereinstimmung mit dem spektralen Verhalten keine Molekülverbindung herstellen. Naphthopurpurin (III) dagegen, das eine freie OH-Gruppe enthält, liefert ein schön krystallisierendes Additionsprodukt.



Ebenso verhält sich, wie zu erwarten war, Echinochrom (IV), das die Möglichkeit hat, mit drei verschiedenen OH-Gruppen sich an die Diketopiperazine zu addieren. Schmilzt man Echinochrom mit Sarkosinanhidrid in verschiedenem Mischungsverhältnis zusammen, so erhält man immer nur eine Additionsverbindung vom molekularen Verhältnis 1 : 1. Vermischt man gesättigte Lösungen der beiden Komponenten in Essigester, so krystallisiert nach einiger Zeit das gleiche Additionsprodukt aus, das sich gut aus Essigester umkrystallisieren läßt.

Der Farbstoff der Stacheln des Seeigels *Arbacia pustulosa* liefert auf die gleiche Weise eine prächtvoll krystallisierende Molekülverbindung, die zwei Mol. Spinon (V) und ein Mol. Sarkosinanhidrid enthält. Durch Darstellung dieser Verbindung war es möglich, den Stachelfarbstoff soweit zu

¹⁾ A. 322, 261 [1902].

²⁾ Morgan, Journ. chem. Soc. London 117, 1457 [1920].

³⁾ R. Kuhn u. K. Wallenfels, B. 72, 1407 [1939].

⁴⁾ G. E. Hilbert, O. R. Wulf, S. B. Hendricks u. M. Liddel, Journ. Amer. chem. Soc. 58, 548 [1936].

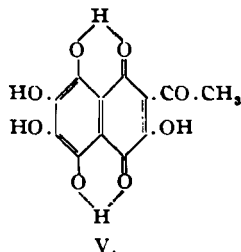
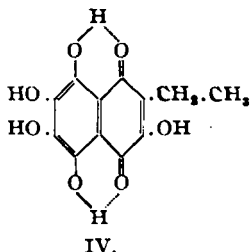
⁵⁾ P. Pfeiffer, A. 398, 137 [1913].

⁷⁾ Zur Wasserstoffbindung s. a. H. Diehl, Chem. Reviews 21, 39 [1937]; K. Kunz, Angew. Chem. 52, 436 [1939].

reinigen, daß er einwandfreie Analysenwerte lieferte, die die Aufstellung einer Bruttoformel zuließen⁹⁾.

Auch andere Verbindungen, die zu den Säureamiden gehören, sind zur Bildung derartiger Komplexe befähigt. So liefert Antipyrin zahlreiche derartige Verbindungen mit verschiedenen Phenolen, die teilweise beliebte Arzneimittel darstellen⁹⁾. Auch mit Echinochrom verbindet sich Antipyrin zu einer kristallisierten Verbindung.

Die kryoskopische Bestimmung des Molekulargewichtes der Oxynaphthochinone nach Rast ist nicht einwandfrei möglich, da einerseits bei Verwendung von Campher als Lösungsmittel beim Schmelzpunkt schon teilweise Zersetzung eintritt und bei Verwendung niedriger schmelzender Lösungsmittel sich die Substanz nicht vollständig löst, andererseits diese Farbstoffe so tieffarbige Schmelzen bilden, daß eine einwandfreie Beobachtung des Lösungsvorgangs nur schwer möglich ist. Wohl aber kann man aus dem volumetrisch bestimmten Stickstoffwert von Molekülverbindungen der geschilderten Art das Verhältnis Farbstoff/Säureamid und so das Molekulargewicht einwandfrei ermitteln.



B) Komplexverbindungen mit Proteinen.

Löst man nach Zerstörung der Zellstruktur von Seeigel-Eiern durch Einfrieren in flüssigem Stickstoff und Wiederauftauen die Zelltrümmer in Salzlösung auf, so erhält man tieffarbige Lösungen, in denen das Echinochrom hochmolekular gebunden vorliegt¹⁰⁾. Da das Echinochrom eine Säure ist, war anzunehmen, daß es mit den basischen Aminogruppen von Proteinen, die von Arginin, Lysin und Histidin geliefert werden, salzartige Bindung eingeht. Im Hydrolysat von Ei-Symplexen konnte Arginin und Histidin mit Sicherheit nachgewiesen werden¹¹⁾. Da diese Symplexe aber über einen weiten p_H -Bereich stabil sind, muß man annehmen, daß der Farbstoff ebenso wie mit Sarkosinamid auch mit den säureamidartigen Gruppen in Proteinen sich durch Wasserstoffbindung verknüpfen kann, in gleicher Weise wie P. Pfeiffer¹⁾ die Verknüpfung der phenolischen Azofarbstoffe mit der Wolle und Seide angenommen hat. K. Freudenberg hat schon 1921 darauf hingewiesen¹²⁾, daß das Gerben der Haut mit phenolischen Gerbstoffen primär eine koordinative Absättigung der säureamidartigen Gruppierungen der Eiweißkörper der Haut darstellt. Echinochrom ist ein Polyphenol. Es zieht auf die Haut stark auf.

⁹⁾ R. Kuhn u. K. Wallenfels, B. **74**, 1594 [1941].

⁹⁾ P. Pfeiffer, Molekülverbindungen, Stuttgart 1927, S. 320.

¹⁰⁾ R. Kuhn u. K. Wallenfels, B. **73**, 458 [1940].

¹¹⁾ K. Wallenfels, Angew. Chem., im Druck.

¹²⁾ K. Freudenberg, Collegium **1921**, 353.

Vermischt man Lösungen von Echinochrom in Wasser mit Eiweiß-Lösungen, so beobachtet man bei anschließender Dialyse, daß eine gewisse Menge Farbstoff fest an das Eiweiß gebunden ist. Im natürlichen Symplex aus Seeigel-Eiern enthalten 65000—70000 g organische Substanz 1 Mol Echinochrom. Von Casein vermögen 11200 g und von der Gallertsubstanz 6000 g 1 Mol des Farbstoffs zu binden. Auch aus Globin und Albumin erhält man derartige Symplexe. Diese künstlichen Chromoproteide sind so wie die natürlichen Farbstoffsymplexe mit Invertseifen fällbar¹³⁾. Der Globin-symplex zeigt ein etwas anderes Verhalten. Bei fortgesetzter Dialyse gegen destilliertes Wasser scheiden sich rote Flocken aus, die nun auch bei anderem p_H nicht mehr in Lösung gehen.

L. M. Chapman, D. M. Greenberg und C. L. A. Schmidt¹⁴⁾, die das Farbstoff-Bindungsvermögen von Gelatine und desaminierte Gelatine ermittelten, beschreiben die Fällung des Proteins durch andere saure und basische Farbstoffe und bauen darauf ein Verfahren zur Bestimmung des Bindungsvermögens auf.

Beim Echinochrom ist die Verknüpfung mit Protein von einer Verschiebung des Maximums der Lichtabsorption nach dem langwelligen Teil des Spektrums begleitet. Diese Verschiebung beträgt 20 $m\mu$ und stimmt mit dem Betrag der Spektralverschiebung überein, den man beobachtet, wenn man andere prosthetische Farbstoffe mit ihren spezifischen Trägerproteinen kuppelt. Die Tafel zeigt diese Rotverschiebung für verschiedene natürliche und synthetische Chromoproteide.

Tafel.

Lage der Hauptbande von verschiedenen prosthetischen Farbstoffen und Chromoproteiden.

Prosthetischer Farbstoff	Wellenlänge in $m\mu$	Chromoprotein	Wellenlänge in $m\mu$	Lite- ratur
Lactoflavinphosphorsäure	445	Gelbes Ferment	465	¹⁵⁾
Chlorophyll a	663 (Äther)	Chloroplastin	~683 (Wasser)	¹⁶⁾
Sehorange	480	Sehpurpur	500	¹⁷⁾
Echinochrom A p_H 5.8 .	480	Ech.-Gallert-Sbst.	500	
		Ech.-Casein	500	
		Ech.-Träger-Hilfs- träger	520	

Das Hauptmaximum der Absorption von Echinochrom, das bei p_H 5.8 bei 480 $m\mu$ liegt, verschiebt sich mit steigender OH-Ionenkonzentration nach dem langwelligen Teil des Spektrums. In Natriumbicarbonatlösung (p_H 8.5) liegt es — im Löwe-Schumm-Spektroskop gemessen — bei 493 $m\mu$, in 2-n. Natronlauge (p_H 13) bei 520 $m\mu$. Man muß annehmen, daß die Rotverschiebung, die man beim Kuppeln von Echinochrom mit Eiweiß beobachtet, darauf beruht, daß Echinochrom sich vermöge seiner sauren OH-Gruppen

¹³⁾ R. Kuhn u. H. J. Bielig, B. **73**, 1080 [1940].

¹⁴⁾ Journ. biol. Chem. **72**, 707 [1927].

¹⁵⁾ H. Rudy, Naturwiss. **24**, 497 [1936].

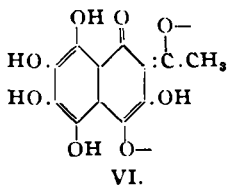
¹⁶⁾ A. Stoll u. E. Wiedemann, Atti X. Congr. Intern. Chim. Roma **5**, 206 [1939].

¹⁷⁾ G. Wald, Journ. gen. Physiol. **21**, 795 [1938].

salzartig mit basischen Aminogruppen im Eiweiß verknüpft, und so tiefer gefärbte Eiweißsalze gebildet werden, die den mit Natriumbicarbonat und mit Natronlauge entstehenden tieferfarbigen Natriumsalzen entsprechen. Das Echinochrom enthält 5 saure Gruppen, die sich durch ihren verschiedenen Aciditätsgrad unterscheiden. Mit Natriumbicarbonat dürfte ein Mononatriumsalz, bei höherem p_H ein Dinatriumsalz gebildet werden. Diese Salze sind aber dadurch wesentlich von den Eiweißsalzen unterschieden, daß sie bei p_H 6 bereits größtenteils hydrolysiert sind, während die Eiweißsalze bis p_H 4,8 stabil sind. An Eiweiß kann Echinochrom in gleicher Weise wie an Diketopiperazine noch zusätzlich durch Wasserstoffbindung addiert werden. Diese Wasserstoffbindungen sind es offenbar, welche die Dissoziation verhindern und so die Salze auch bei saurem p_H stabil machen. Sie bewirken aber, wie man an den Komplexverbindungen mit Sarkosinanhydrid sieht, keine Verschiebung des Absorptionsspektrums.

In den binären Symplexen Echinochrom-Casein und Echinochrom-Gallertsubstanz (λ_{max} 500 $m\mu$) liegt daher anscheinend die dem Mononatriumsalz entsprechende Eiweißverbindung vor, während der ternäre Symplex Echinochrom-Träger-Hilfsträger, den man erhält, wenn man reife Seeigel-Eier mit Seewasser extrahiert¹⁸⁾ (λ_{max} 520 $m\mu$), wohl dem mit Soda bzw. Natronlauge erhältlichen Natriumsalz entspricht. Auch Lactoflavin-phosphorsäure und Astaxanthin¹⁸⁾ zeigen als Natriumsalze bei p_H 11 die gleiche Lage der Hauptabsorptionsbande wie in ihren spezifischen Eiweißverbindungen, dem gelben Ferment und dem Ooverdin.

Kuppelt man das violette, äußerst luftempfindliche Natriumsalz von Spinochrom A (VI) mit Gallertprotein, so gelingt es ebenso wie beim Astaxanthin, das tieffarbige Enolat zu stabilisieren. Man erhält eine violette Lösung, aus der kein Stachelfarbstoff mehr herausdialysiert, die aber im Gegensatz zum violetten Natriumsalz⁹⁾ beim Schütteln mit Luft nicht in die gelbe Lösung des Spinons V übergeht.



Das unbefruchtete Seeigel-Ei macht bestimmte, von der Jahreszeit abhängige Veränderungen des Reifezustandes durch, die bei *Arbacia* von erheblichen Änderungen des Echinochromgehaltes begleitet sind. Der Reifezustand bedingt wesentlich den Erfolg der Befruchtung. Aus 500 Ovarien von Eiern des Monats Dezember 1939 erhielten wir etwa 50 mg Echinochrom, während die gleiche Zahl von Tieren im Monat April-

Mai 1940 etwa 5000 mg lieferte. Im Juni wächst die Farbstoffmenge noch weiter; auch die sonst fast farblose Gallerthülle wird durch Echinochrom gefärbt. Sie löst sich sogleich auf, wenn man die Eier in Seewasser bringt. Diese „überreifen“ Eier geben ein tief rotes Eiwasser, das Spermien nicht mehr normal agglutiniert, das aber Echinochrom ebenfalls hochmolekular gebunden enthält. Es ist denkbar, daß der Verlust der spezifischen biologischen Wirkung der Ei-Sekrete darauf zurückzuführen ist, daß die Eigenschaften des spezifischen Agglutinins durch Bindung von Echinochrom stark verändert werden.

Bereitet man aus den ganzen Eiern normaler Reife Extrakte durch Zerstörung der Zellstruktur und Suspension in Seewasser, so erhält man

¹⁸⁾ R. Kuhn u. N. A. Sörensen, B. 71, 1879 [1938].

Echinochrom-Eiweiß-Symplexe, die sich nur schwer wieder trennen lassen und wahrscheinlich komplizierter zusammengesetzt sind als die ursprünglich im Ei vorliegenden. Bei der Prüfung der Wirkung von Ei-Extrakten auf Spermatozoen muß man diese Möglichkeit berücksichtigen, die mit der besonderen Eigenschaft des Echinochrom-Moleküls zusammenhängt, 5 verschiedene phenolische OH-Gruppen zu besitzen.

Beschreibung der Versuche.

1) Echinochrom-Sarkosinanhidrid.

133 mg Echinochrom A wurden mit 126 mg Sarkosinanhidrid vermischt und vorsichtig geschmolzen. Nach dem Wiedererstarren der Schmelze wurde in 5 ccm siedendem Alkohol gelöst. Nach 24 Stdn. wurden die ausgeschiedenen Krystalle abgesaugt und mit wenig Äther gewaschen. Ausb. 130 mg. Zur Analyse wurde noch 2-mal aus Essigester umkrystallisiert, aus dem sich die Molekülverbindung in schönen roten Nadeln abschied. Beim Erhitzen in der Capillare sintert die Substanz von 140° an, um erst bei 202° zu schmelzen.

3.800 mg Sbst.: 7.380 mg CO₂, 1.730 mg H₂O. — 3.992 mg Sbst.: 0.244 ccm N₂ (24°, 752 mm).

C₁₂H₁₀O₇, C₈H₁₀O₂N₂ (408.2). Ber. C 52.91, H 4.95, N 6.86. Gef. C 52.97, H 5.09, N 6.95.

Mol.-Gew.: 2800:6.95 = 403, Sarkosinanhidrid 142.

Ber. Mol.-Gew. 266. Gef. Mol.-Gew. 403 — 142 = 261.

Spinon-Sarkosinanhidrid.

140 mg Stachelfarbstoff wurden in möglichst wenig heißem Essigester gelöst und mit der gesättigten Lösung von 140 mg Sarkosinanhidrid vermischt. Nach dem Abkühlen im Eisschrank begann die Abscheidung von glitzernden Blättchen, die nach 24 Stdn. beendet war. Es wurde abgesaugt und nochmals aus Essigester umkrystallisiert. Unter dem Mikroskop stellte die Molekülverbindung dünne, hellrote geschweifte Blättchen dar. Schmp. 223—225° unter Zersetzung. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 65° getrocknet.

3.820 mg Sbst.: 7.225 mg CO₂, 1.300 mg H₂O. — 3.925 mg Sbst.: 0.141 ccm N₂ (20°, 741 mm).

C₈₀H₂₆O₁₈N₂ (2C₁₂H₈O₈, C₈H₁₀O₂N₂) (702.2).

Ber. C 51.27, H 3.65, N 3.99. Gef. C 51.58, H 3.81, N 4.08.

3) Echinochrom-Antipyridin.

Eine heiße, gesättigte Lösung von 133 mg Echinochrom A wurde mit der gesättigten Lösung von 94 mg Sarkosinanhidrid in Essigester versetzt. Man ließ im Eisschrank erkalten. Über Nacht schieden sich glitzernde rote Krystalle aus, die abgesaugt und nochmals aus Essigester umkrystallisiert wurden. Schmp. 190°.

4.096 mg Sbst.: 0.228 ccm N₂ (24°, 755 mm).

C₂₂H₂₂O₈N₂ (C₁₂H₁₀O₇, C₁₁H₁₂ON₂) (454.2). Ber. N 6.17. Gef. N 6.35.

4) Naphthopurpurin-Sarkosinanhidrid.

100 mg Naphthopurpurin wurden zusammen mit 50 mg Sarkosinanhidrid in siedendem Essigester aufgelöst. Nach 2-tägig. Stehenlassen im Eisschrank waren 80 mg der Molekülverbindung in dicken tiefroten Stäb-

chen auskristallisiert. Es wurde noch 3-mal aus Essigester kristallisiert, bis die Verbindung den Schmp. 170° zeigte.

5.677 mg Sbst.: 0.252 ccm N₂ (25°, 750 mm).

C₂₀H₂₂O₁₁N₂ (2C₁₀H₈O₅, C₆H₁₀O₂N₂) (554.2). Ber. N 5.05. Gef. N 5.02.

5) Echinochrom-Casein.

Aus reinstem Hammarsten-Casein wurde mit $m_{/16}$ -Phosphatpuffer-Lösung vom p_H 5.8 eine Lösung bereitet, die nach dem Filtrieren vollständig klar war. Dann wurde durch Kochen mit Wasser eine gesättigte Lösung von Echinochrom hergestellt, die etwa 0.2 mg Echinochrom im ccm enthielt. Die erkaltete Lösung wurde zur Caseinlösung gefügt, das Gemisch dann gegen $m_{/16}$ -Phosphatpuffer dialysiert. Nach häufigem Wechsel der Außenflüssigkeit blieb diese schließlich völlig farblos, während der Cellophanschlauch den rot gefärbten Symplex enthielt. Nach 4-tägig. Dialyse wurde in der roten Innenlösung Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt und der Echinochromgehalt nach Spaltung mit 2-n.HCl mit dem Stufenphotometer ermittelt.

2 ccm Casein-Echinochrom-Lösung verbr. 0.76 ccm $n_{/100}$ -HCl. — Gef. 0.106 mg N in 2 ccm.

Die colorimetrische Bestimmung des Echinochroms in 22.5 ccm Lösung ergab eine Konzentration von 0.34 mg/100 ccm.

22.5 ccm enthalten 7.15 mg Casein, 0.17 mg Echinochrom. — 266 g Echinochrom sind daher an 10929 g Casein gebunden.

6) Echinochrom-Gallert-Substanz.

Durch $n_{/60}$ -salzsaures Seewasser läßt sich von den intakten Seeigel-Eiern die Gallerthülle vollständig ablösen, ohne daß die Proteine denaturiert werden. Die Lösung ist schwach hellrot¹⁹⁾. Die colorimetrische Echinochrom-Bestimmung zeigt, daß 1 Mol Echinochrom in 330000 g organischer Substanz enthalten ist. Bei der Dialyse bei p_H 4.1 verläßt auch dieser Farbstoff das Innere der Zelle und es bleibt eine etwas opaleszierende, farblose Flüssigkeit im Cellophanschlauch, die 1 mg Trockengewicht im ccm enthält. Der nach Kjeldahl bestimmte Stickstoffgehalt beträgt 10%.

2 ccm Gallerte-Lösung verbr. 1.47 ccm $n_{/100}$ -HCl. Gef. 0.206 mg N.

Die so dargestellte Gallert-Substanz ist durch Ammonsulfat kaum fällbar. Macht man mit Soda alkalisch, so kann durch geringen Alkoholzusatz die Hauptmenge ausgefällt werden. Die Fällung ist in $n_{/100}$ -HCl wieder vollständig löslich. Die auf diese Weise umgefällte Substanz enthielt unverändert 10% N.

Eine gegen destilliertes Wasser audialysierte Lösung wurde mit einer Lösung von Echinochrom in Natriumbicarbonat versetzt. Das Gemisch wurde wieder gegen destilliertes Wasser dialysiert, bis kein Farbstoff mehr nach außen ging. 10 ccm dieser Lösung enthielten 0.44 mg Echinochrom.

2 ccm Echinochrom-Gallert-Symplex verbr. 1.47 ccm $n_{/100}$ -HCl. — Gef. 0.206 mg N. 10 ccm wurden im Vak. über P₂O₅ eingedampft und getrocknet: 10.01 mg.

226 g Echinochrom sind in 6051 g Gallert-Symplex enthalten.

¹⁹⁾ Der Zoologischen Station Neapel und den HHrn. Dr. G. Kramer und Dr. O. Schartau habe ich für die Präparierung einer großen Zahl von Seeigeln und die Bereitung der Gallerte-Lösung bestens zu danken.