

Auch in den Blutzellen ist das Echinochrom an einen hochmolekularen Träger gebunden. Der Symplex ließ sich aber nicht in Lösung bringen. Vielleicht war das Protein auf dem Transport unter Ammoniumsulfat denaturiert worden. Sättigte man eine Suspension von Blutzellen mit Harnstoff, so erhielt man nach dem Zentrifugieren eine tiefrote klare Lösung, welche eine scharfe Absorptionsbande bei 558 μ zeigte. Bei der Dialyse des Harnstoffs fiel jedoch der Farbstoff wieder aus, zusammen mit einer weniger gefärbten Gallerte. Die Untersuchung des Echinochromsymplexes aus den Blutzellen muß daher einer späteren Zeit vorbehalten werden.

Beschreibung der Versuche.

Die Blutzellensuspension wurde zentrifugiert, der Rückstand mit verd. Salzsäure verrührt. Dabei schlug die Farbe von Dunkelrot in Hellrot um. Die trübe Flüssigkeit wurde dann mehrmals mit Äther extrahiert, wobei fast der gesamte Farbstoff in den Äther ging. Die Ätherlösung wurde mehrmals mit Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde aus Exluan-Wasser umkrystallisiert. In mehreren Ansätzen gleicher Art wurden die Blutzellen männlicher und weiblicher Tiere getrennt aufgearbeitet. Die Ätherlösungen der Farbstoffe zeigten die gleichen Absorptionsbanden 530 und 500 μ . Der Schmelzpunkt lag nach 3-maliger Krystallisation aus Exluan-Wasser bei 219°. Mischschmelzpunkt mit Echinochrom aus Eiern 219°.

Echinochrom-Sarkosinanhidrid-Verbindung: 100 mg Echinochrom aus Blutzellen wurden zusammen mit 80 mg Sarkosinanhidrid in 15 ccm Essigester gelöst und heiß filtriert. Beim Abkühlen schied sich die Komplexverbindung in glänzenden Plättchen ab. Ausb. 110 mg.

3.670 mg Sbst.: 7.095 mg CO₂, 1.630 mg H₂O. -- 5.835 mg Sbst.: 0.366 ccm N₂ (22°, 751 mm).

C₁₂H₁₀O₇. C₆H₁₀O₂N₂. Ber. C 52.91, H 4.95, N 6.86. Gef. C 53.16, H 5.01, N 7.17.

50. Kurt Wallenfels und Adeline Gauhe: Synthese von Echinochrom A.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizin. Forschung, Institut für Biologie, Heidelberg.]
(Eingegangen am 19. Februar 1943.)

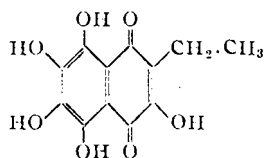
Echinochrom A, der rote Farbstoff der Eier des Seeigels *Arbacia pustulosa*, der in Bindung an einen hochmolekularen Träger Bedeutung als Befruchtungsstoff besitzt^{1) 2) 3) 4)}, hat die Bruttoformel C₁₂H₁₀O₇. Die reduzierende Acetylierung lieferte eine Heptaacetyl-Verbindung, bei der Oxydation mit Chromsäure entstanden 0.83 Mol. Propionsäure, bei der Einwirkung von Diazomethan bildete sich ein Trimethyläther. Auf Grund dieser Beobachtungen wurde von R. Kuhn und K. Wallenfels²⁾ für Echinochrom A die Formel eines 2-Äthyl-3.5.6.7.8-pentaoxy-naphthochinons-1.4 (I) aufgestellt. Die Richtigkeit dieser Formulierung konnte nunmehr durch die Synthese bestätigt werden.

¹⁾ M. Hartmann, O. Schartau, R. Kuhn u. K. Wallenfels, Naturwiss. **27**, 433 [1939].

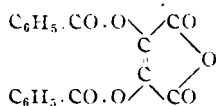
²⁾ R. Kuhn u. K. Wallenfels, B. **72**, 1453 [1939].

³⁾ R. Kuhn u. K. Wallenfels, B. **73**, 458 [1940].

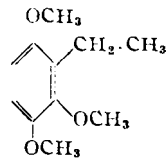
⁴⁾ M. Hartmann, O. Schartau u. K. Wallenfels, Biol. Zbl. **60**, 398 [1940].



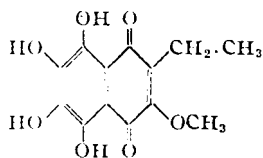
I.



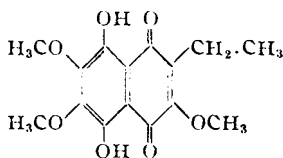
III.



II.



IV.



V.

Aus 2-Äthyl-1,3,4-trimethoxy-benzol⁵⁾ (II) und Dibenzoyloxymaleinsäureanhydrid⁶⁾ (III) bildet sich in der Aluminiumchlorid-Natriumchlorid-Schmelze bei 180—183° in einer Ausbeute von 1,5—2% d. Th. ein Farbstoff, welcher sich in allen chemischen und physikalischen Eigenschaften als identisch mit dem natürlichen Farbstoff der Eier von Arbacia erwiesen hat. Der Schmelzpunkt lag nach 3-maliger Krystallisation bei 215—216°. Im Gemisch mit natürlichem Echinochrom A vom Schmp. 219° schmolz der synthetische Farbstoff bei 217°. Da diese Krystallisationen noch etwa 0,5% Methoxyl enthielten — offenbar durch einen geringen Gehalt an dem zu erwartenden Monomethyläther IV —, wurde mit Diazomethan methyliert. Dabei entstand der Trimethyläther V, welcher schon nach einmaliger Krystallisation den richtigen Schmp. 130—131° und stimmende C- und H-Werte hatte. Er gab im Gemisch mit natürlichem Trimethyläther keine Schmelzpunktserniedrigung. Das synthetische Echinochrom lieferte mit Sarkosinanhydrid die charakteristische, schön krystallisierte Komplexverbindung⁷⁾, welche so wie der Komplex mit natürlichem Echinochrom bei 185° anfang zu sintern und bei 212° schmolz.

Natürliches und synthetisches Echinochrom zeigten im Löwe-Schumm-Spektroskop identische Absorptionsbanden bei 530 und 500 μ in Äther. Die Banden des synthetischen Trimethyläthers lagen übereinstimmend mit denen des natürlichen bei 542, 533 und 500 μ .

Ebenso wie natürliches Echinochrom A ließ sich auch der synthetische Farbstoff durch H₂O₂ und Peroxydase zu Dehydroechinochrom dehydrieren^{8) 9)}.

Beschreibung der Versuche.

2-Äthyl-3,5,6,7,8-pentaoxy-naphthoquinon-(1,4) (Echinochrom A).

15 g Aluminiumchlorid¹⁰⁾ und 3 g Natriumchlorid werden unter mechanischem Rühren im Ölbad von 160° geschmolzen. Das Ölbad wird

⁵⁾ K. Wallenfels, B. **75**, 785 [1942].

⁶⁾ H. J. H. Fenton, Journ. chem. Soc. London **69**, 551 [1896].

⁷⁾ K. Wallenfels, B. **74**, 1598 [1941].

⁸⁾ K. Wallenfels u. A. Gauhe, B. **75**, 413 [1942].

⁹⁾ R. Kuhn u. K. Wallenfels, B. **75**, 407 [1942].

¹⁰⁾ Die Qualität des Aluminiumchlorids ist entscheidend für das Gelingen der Reaktion. Der I. G. Farbenindustrie A.-G., Werk Ludwigshafen, danken wir für eine größere Menge sehr fein pulverisierten, wasserfreien Aluminiumchlorids.

entfernt, worauf man die Schmelze unter ständigem Rühren bis auf 82° erkalten läßt. Dann gibt man unter sehr lebhaftem Rühren die geschmolzene Mischung von 0.5 g 2-Äthyl-1.3.4-trimethoxy-benzol und 0.5 g Dibenzoyloxy-maleinsäureanhydrid hinzu. Hierbei steigt die Temperatur auf 105°. Nun wird wieder im Ölbad erhitzt, bis die Innentemperatur 180° beträgt. 4 Min. wird bei dieser Temperatur gelassen, dann wird das Ölbad wieder entfernt und bis zum Erkalten bzw. Erstarren der Schmelze weiter gerührt. Das braunschwarze Reaktionsprodukt wird mit Eis zersetzt und mit $\frac{1}{3}$ des Vol. konz. Salzsäure auf dem Dampfbad erwärmt. Hierbei schlägt die Farbe nach Rot um. Ein fester Klumpen von Zersetzungsprodukten wird entfernt, die rote Lösung mit Äther extrahiert. Nach dem Waschen und Trocknen des Äthers wird die Lösung durch eine Säule von Calciumcarbonat (reinst) gegossen. Im obersten Teil wird eine braune Verunreinigung adsorbiert, während eine gelbe Fraktion durchläuft. Der Rest der Säule, der den gesuchten Farbstoff enthält, wird in Salzsäure aufgelöst und das Naphthochinon mit Äther aufgenommen. Die Ätherlösung wird mit Wasser gut gewaschen und getrocknet. Die Ausbeute, stufenphotometrisch bestimmt, beträgt 7—8 mg.

Die Ätherlösungen von 6 derartigen Ansätzen wurden vereinigt und eingedampft. Der Rückstand erstarrte in Krystallen. Sie wurden in wenig Exluan gelöst und mit etwa dem gleichen Vol. heißen Wassers versetzt. Beim Erkalten schied sich das Echinochrom in zu Büscheln vereinigten Blättchen ab. Nach 3-maliger Krystallisation lag der Schmp. bei 215—216°; bei 205° begann langsames Sintern. Mischschmp. mit natürlichem Echinochrom A 216—217°.

Methoxylbestimmung: 1.910 mg Sbst.: 0.077 mg AgJ. Gef. OCH₃ 0.53%.

2-Äthyl-3.6.7-trimethoxy-5.8-dioxy-naphthochinon-(1.4).

30 mg synthet. 2-Äthyl-3.5.6.7.8-pentaoxy-naphthochinon-(1.4) wurden in 20 ccm Äther gelöst und mit 10% mehr als der ber. Menge Diazomethan-Lösung versetzt. Nach 5 Min. wurde 3-mal mit einer 5-proz. Natriumbicarbonatlösung ausgeschüttelt und einmal mit Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen und Verdampfen des Äthers blieben rote Blättchen zurück, die aus Exluan-Wasser umkrystallisiert wurden. Sie wogen nach dem Trocknen 21 mg. Schmp. 130—131° (evakuierte Capillare). Im Gemisch mit natürlichem Echinochrom-trimethyläther schmolz die Substanz bei 130°.

2.705 mg Sbst.: 5.805 mg CO₂, 1.235 mg H₂O.

C₁₅H₁₆O₇ (308.1). Ber. C 58.44, H 5.20. Gef. C 58.53, H 5.11.

Komplexverbindung mit Sarkosinanhydrid: 21 mg synthetisches Echinochrom wurden zusammen mit 20 mg Sarkosinanhydrid in 3 ccm Essigester zum Sieden erhitzt und filtriert. Beim Erkalten schied sich die Komplexverbindung in goldschillernden Blättchen ab. Schmp. 212°.

3.145 mg Sbst.: 6.085 mg CO₂, 1.410 mg H₂O.

C₁₂H₁₀O₇·C₆H₁₀O₂N₂. Ber. C 52.91, H 4.95. Gef. C 52.77, H 5.06.