

Über die Farbstoffe des Hummers (*Astacus gammaurus* L.)\*)

Von Prof. Dr. R. KUHN und Dr. N. A. SÖRENSEN, K. W. I. für medizin. Forschung, Chem. Abteilung, Heidelberg

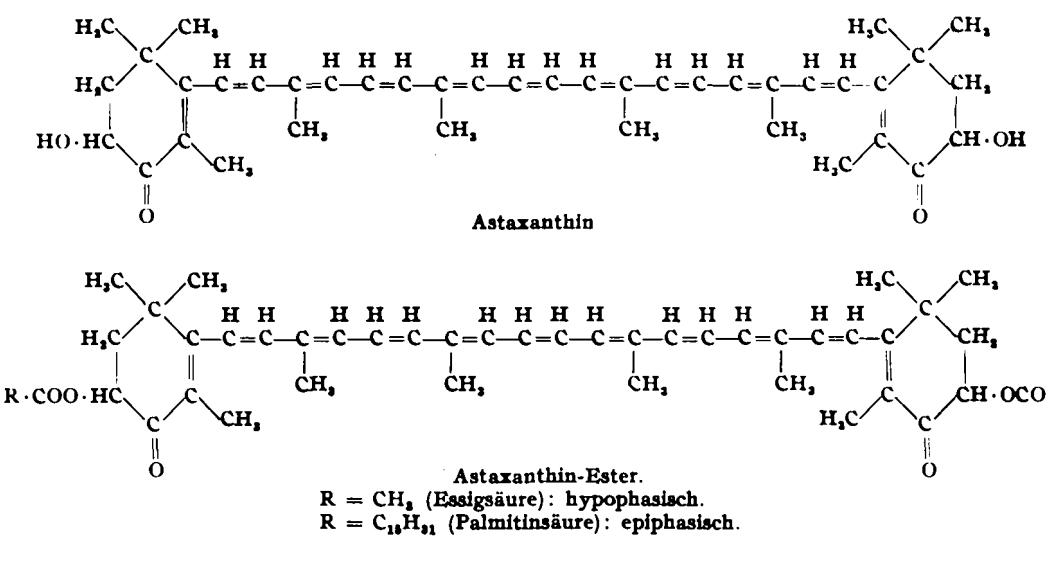
Eingeg. 8. Juni 1938

Aus den braunschwarzen Chromoproteiden des Panzers, der roten Hypodermis und aus den blaugrünen Eiern des Hummers haben R. Kuhn u. E. Lederer<sup>1)</sup> das Astacin kristallisiert erhalten. Die bekannte Erscheinung, daß die Krebse beim Kochen rot werden, beruht auf der Abspaltung (Zerstörung) der Eiweißkomponente, wobei das Carotinoid in Freiheit gesetzt wird. Unverständlich blieb, wieso die Vereinigung eines farblosen Proteins mit einer roten prosthetischen Gruppe zu einer Farbvertiefung bis Grün führt. Aus diesem Grunde hat N. A. Sörensen in seiner Heimat (Norwegen) Hummereier gesammelt und in Heidelberg eine erneute Untersuchung im Angriff genommen.

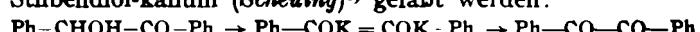
Für die Reinigung des Ovoverdins — aber auch vieler anderer Chromoproteide, Fermente und Eiweißkörper! — ist ein neues, wirkungsvolles und bequemes Verfahren aufgefunden worden. Es besteht darin, die Adsorbate an Aluminiumhydroxyd mit Ammonsulfatlösungen, deren Konzentration unterhalb der Fällungsgrenze liegt, zu eluieren. Das Ovoverdin eluiert man mit Ammonsulfat von 40%iger Sättigung, und man kann es durch Erhöhung der Ammonsulfatkonzentration auf 65%ige Sättigung sofort aussalzen. Man löst die Fällung in Wasser, adsorbiert wieder an  $\text{Al}(\text{OH})_3$ , eluiert mit Ammonsulfat von niedriger Konzentration, fällt durch Eintragen von mehr Ammonsulfat usw. So kann man in kürzester Zeit und außerordentlich schonend eine größere Zahl von scharf fraktionierenden Reinigungsoperationen mit Proteinen durchführen. Nach diesem Verfahren hat z. B. L. Birkofer das gelbe Ferment aus Hefe, ohne Heranziehung anderer Methoden, rein dargestellt mit dem richtigen Mol.-Gew. von 70000 in Ausbeuten, welche die früher erhaltenen übertreffen<sup>2)</sup>. N. A. Sörensen, der das Verhältnis Astacin (colorimetrisch): Protein (N-Gehalt der Tanninfällungen) verfolgt hat, gelangte mit Hilfe dieses Verfahrens für das grüne Proteid aus frischen Hummereiern bis zum Werte 1:242, der sich durch Wiederholung der Operationen nicht weiter verändern ließ. Daraus berechnet sich unter der Annahme von 1 Mol Astacin in 1 Mol Proteid das Molekulargewicht zu 144000. Dieser Wert ist doppelt so groß wie beim gelben Ferment und paßt sehr gut in die Gruppe  $8 \cdot 17600 = 140800$  von Th. Svedberg.

Durch Einwirkung von Alkohol, Aceton, verd. Säure oder durch Erhitzen erhält man aus dem Ovoverdin den schon 1933 kristallisiert erhaltenen „Ovoester“ des Astacins, der sich durch „Verseifen“ mit Alkalien in Astacin verwandeln ließ. Die nähere Untersuchung hat zu dem

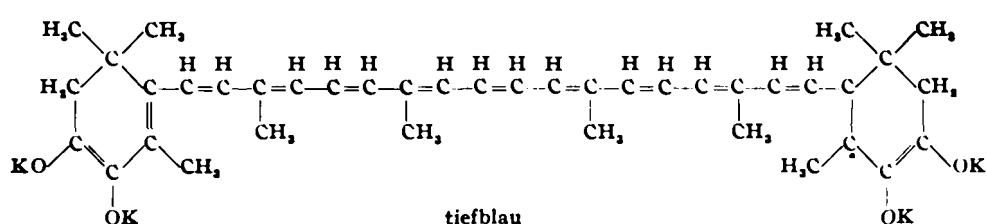
überraschenden Ergebnis geführt, daß der „Ovo-ester“ gar kein Ester ist, sondern ein freies Xanthophyll der Formel  $C_{40}H_{52}O_4$ , für das jetzt der Name Astaxanthin vorgeschlagen wird. Vom Astacin  $C_{40}H_{48}O_4$  unterscheidet sich das Astaxanthin durch den Mehrgehalt von 4 H-Atomen. Was sich bei der Einwirkung von Alkalien abspielt, ist nicht eine Verseifung, sondern die Autoxydation eines doppelten  $\alpha$ -Ketols: beim Übergang in Astacin werden genau 2 Mol  $O_2$  verbraucht und 2 Mol  $H_2O_2$  gebildet. Die beiden Hydroxyle des optisch inaktiven Astaxanthins lassen sich leicht verestern. Das Diacetat geht beim Durchschütteln der Benzinzlösung mit 90%igem Methanol in die untere Schicht, das Dipalmitat bleibt oben. In Anlehnung an die von P. Karrer für das Astacin vorgeschlagene Konstitution eines Tetraketo- $\beta$ -carotins<sup>3)</sup> werden dem Astaxanthin und dessen Estern die folgenden Formeln zugeteilt:



Daß die Carbonyle und nicht die Hydroxyle in Konjugation zur Polyenkette stehen, ist wahrscheinlich, aber noch nicht sicher bewiesen. Die Autoxydation des Astaxanthins in alkalischer Lösung steht in Parallele zu derjenigen zahlreicher anderer  $\alpha$ -Ketole, namentlich zum Übergang von Benzoin in Benzil (A. Weißberger)<sup>4)</sup>. Hier kann unter geeigneten Bedingungen das tief orangefarbige Stilbendiol-kalium (Scheuing)<sup>5)</sup> gefaßt werden:



Das Astaxanthin gibt bei Ausschluß von Luftsauerstoff mit Kalilauge tiefblau gefärbte Salze, die als Analoga des Stilbendiol-kaliums wie folgt formuliert werden:



Bei Zutritt von  $O_2$  erfolgt Farbumschlag nach Rot unter Bildung von Astacin. Es ist anzunehmen, daß das

\*) Vorgetragen in der Fachgruppe für Organische Chemie auf der 51. Hauptversammlung des VDCh in Bayreuth am 9. Juni 1938.

<sup>1)</sup> Ber. dtsch. chem. Ges. **66**, 488 [1933].

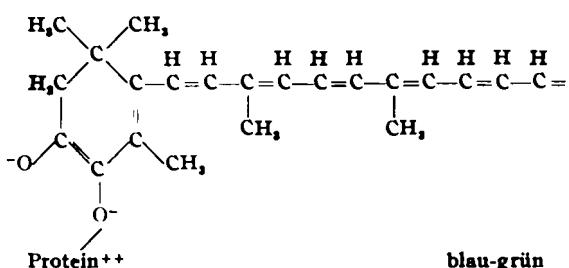
<sup>2)</sup> Unveröffentlicht.

<sup>3)</sup> Helv. chim. Acta **17**, 745 [1934].

<sup>4)</sup> Ber. dtsch. chem. Ges. **62**, 1942 [1929].

<sup>5)</sup> Liebigs Ann. Chem. **440**, 72 [1924].

Ovooverdin in entsprechender Weise ein Derivat der Enolform des Astaxanthins darstellt:



blau-grün

Die angegebene Ovooverdin-Formel behauptet nicht, daß die Eiweißkomponente aus 2 voneinander unabhängigen Proteinen besteht, deren jedes ein Mol.-Gew. von 70000 besitzt. Es ist ebenso möglich, daß 1 Protein vom Mol.-Gew. 140000 über 2 getrennte spezifische Haftstellen verfügt. Auch wird eine nur einseitige Enolisierung die Bildung tieffarbiger Chromoproteide bereits erklären. Die Ionschreibweise soll die salzartige Natur der Bindung an das Protein im Hinblick auf die optische Analogie zu den blauen Alkalosalzen zum Ausdruck bringen. Auch bei der Reaktion des Lactoflavins mit seinem spezifischen Protein, die sich bei pH 7 vollzieht, ändern sich das Absorptionsspektrum und die Fluorescenz wie bei der Salzbildung mit Alkalien bei pH > 11. Wie bei den gelben Fermenten, so ist auch beim Ovooverdin die Annahme einer „salzartigen“ Bindung der prosthetischen Gruppe an das Eiweiß notwendig, aber sie ist wie dort nicht ausreichend. Man erkennt dies daran, daß das blaugrüne Chromoproteid im Gegensatz

zu den blauen Kaliumsalzen des Astaxanthins nicht autoxydabel ist (bei streng ionogenem Bau sollte die Natur des Kations ohne erheblichen Einfluß sein). Mit Ausdrücken wie „spezifische Molekülverbindung“, „Symplex“ und dgl. können wir der zur salzartigen Bindung hinzukommenden wunderbaren Eigenschaft der Trägerproteine wohl einen Namen geben. Begreifen und erklären können wir sie noch nicht.

Die roten epiphasischen Farbstoffe in der Hypodermis des Hummers sind Ester des Astaxanthins und nicht des Astacins, wie bisher angenommen wurde. Sie geben bei der Verseifung unter Ausschluß von Luft die charakteristischen tieffarbigen Enolsalze, die sich leicht zum Tetraketone autoxydieren. Es hat den Anschein, daß alle eingangs erwähnten Farbstoffe der Crustaceen ausschließlich Derivate des Astaxanthins sind. Das Astacin stellt vermutlich überall nur ein Kunstprodukt dar. G. Wald ist es gelungen, aus der Netzhaut von Vögeln Astacin zu isolieren<sup>a)</sup>. Die neuen Erkenntnisse über das Astaxanthin und seine Bindung an Eiweiß werden aus diesem Grunde vielleicht auch noch für eine Komponente des Sehpurpurs und damit für das Verständnis des Sehvorganges von Bedeutung werden.

[A. 38.]

<sup>a)</sup> Nature 140, 197 [1937].

## Die Verwendung von Bleicherden bei der Aufarbeitung und Untersuchung von ätherischen Ölen und Riechstoffen. Zur Chemie des Tones: 3. Mitteilung

Von Dr. H. CARLSOHN und G. MÜLLER, Universität Leipzig

Eingeg. 20. Mai 1938

Unsere Kenntnisse über den Zusammenhang zwischen Aufbau, Konstitution und dem chemischen Verhalten von Tonsubstanzen sind trotz sehr zahlreicher und wertvoller Arbeiten auch heute noch verhältnismäßig gering. Wir stehen vielmehr zurzeit noch immer am Anfang der Tonforschung. Auf Grund von röntgenographischen Untersuchungen wissen<sup>1)</sup> wir, daß nur einige wenige Tonminerale, und zwar in erster Linie Kaolinit, Montmorillonit und Halloysit, maßgeblich am Aufbau der Tonsubstanzen beteiligt sind. Bei der thermischen<sup>2)</sup> Behandlung eines Tones wird Wasser abgegeben. Der Verlauf wird bestimmt durch das Verhalten der vorhandenen Tonminerale. Bei einer großen Reihe von Tonsubstanzen ändert sich bei der thermischen Behandlung der Grad der Löslichkeit in Salzsäure<sup>3)</sup>. Trotz der praktischen Bedeutung dieses Verhaltens ist es bis jetzt noch nicht gelungen, eine allseits befriedigende Erklärung für die hierbei in der Tonsubstanz stattfindenden grundlegenden Vorgänge zu finden. Empirisch kann man weiterhin das Basenaustauschvermögen<sup>4)</sup> einer Tonsubstanz ermitteln und daraus Schlüsse über die Eignung eines Tones für bestimmte Zwecke ziehen, ohne auch hier die tieferen Zusammenhänge zwischen den hierbei stattfindenden Vorgängen und dem chemischen Aufbau der Tonsubstanzen zu kennen.

<sup>1)</sup> Noll, Vortrag v. d. Hauptversammlg. d. Dtsch. Keram. Ges., Sept. 1937; Hofmann, Endell u. Wilm, diese Ztschr. 47, 539 [1934].

<sup>2)</sup> O. Krouse u. H. Wöhner, Ber. dtsch. keram. Ges. 18, 485 [1932].

<sup>3)</sup> Endell, Fendius u. Hofmann, ebenda 15, 595 [1934].

<sup>4)</sup> S. hierzu die Darstellung in Kooppel: Feuerfeste Baustoffe, S. Hirzel, Leipzig 1938.

Die vorliegende Abhandlung steht im Rahmen einer größeren Reihe von Arbeiten „Zur Chemie des Tones“<sup>5)</sup>, welche den Zweck hat, systematisch das chemische Verhalten der Tonsubstanzen zu untersuchen, um aus ihm die Konstitution der Aufbauelemente der Tone herleiten zu können. Wir glauben, daß die Behandlung dieses Gebietes erfolgreich durchgeführt werden kann, wenn man unter den Tonsubstanzen diejenigen auswählt, welche chemisch am reaktionsfähigsten sind. Zu diesen gehören in erster Linie die Bleicherden. Sie enthalten zwar als Hauptbestandteil das Tonmineral Montmorillonit, jedoch bestehen hinsichtlich der chemischen Zusammensetzung Unterschiede, welche sowohl die Adsorptionsfähigkeit als auch ihre katalytische Aktivität beeinflussen, so daß sie für einen bestimmten praktischen Zweck stets sorgfältig ausgewählt werden müssen, um die günstigste Wirkung zu erzielen.

Wir haben kürzlich<sup>6)</sup> zwei Reaktionen angegeben, welche gestatten, künstlich mit Säure aktivierte Bleicherden von natürlichen Bleicherden zu unterscheiden. Der benzilösliche Farbstoff Sudanrot gibt in Benzil- oder Benzollösung mit den künstlich aktivierten Bleicherden Tonsil AC, Frankonit KL und Clarit Standard eine blaue Adsorptionsverbindung, welche höchstwahrscheinlich salzartige Struktur besitzt und infolgedessen den Farbstoff an die Lösungsmittel Benzil und Benzol nicht ohne weiteres wieder abgibt, sondern irreversibel gebunden enthält. Im Gegensatz hierzu werden unter gleichen Bedingungen andere Tonsubstanzen, z. B. natürliche Bleicherden, wie Floridin XXF und XS, oder andere Tonarten, wie Kaolin,

<sup>5)</sup> Carlssohn u. Müller, Ber. dtsch. chem. Ges. 71, 858 [1938].