

A N G E W A N D T E C H E M I E

53. Jahrgang, Nr. 35/36, Seiten 397—416, 31. August 1940

Gallenfarbstoffe

Von Dozent Dr.-Ing. habil. WALTER SIEDEL

Organisch-chemisches Institut, Technische Hochschule München

Unter der Bezeichnung „Gallenfarbstoffe“¹⁾ faßt man heute allgemein die Pyrrolfarbstoffe zusammen, die durch den physiologischen Abbau bzw. Umbau der prosthetischen Komponente des roten Blutfarbstoffs oder Hämoglobins im menschlichen und tierischen Organismus gebildet werden und größtenteils in Form von Leukoverbindungen zur Ausscheidung gelangen. Während man bisher den Begriff „Gallenfarbstoffe“ nur auf Pyrrolverbindungen anwandte, in deren Gerüst vier Pyrrolkerne linear miteinander verbunden sind, ist er in neuester Zeit durch die Untersuchung des „Pentdyopents“ bzw. Propentyopents sowie des Mesobilifuscins und Myobilins auch auf zweikernige Pyrrolderivate ausgedehnt worden.

Mit dem Ausdruck „Bilirubinoide“ jedoch werden nur die vierkernigen Derivate belegt, gleichgültig, ob sie Produkte eines biologischen Prozesses oder einer Synthese sind.

Ausgegangen ist die strukturchemische Erforschung der Gallenfarbstoffe vom Bilirubin, das sich in der Hauptsache in der Gallenblase findet. Es ist in geringer Menge auch im Blutserum vorhanden. Bei Verschluß des Gallenganges tritt es vermehrt im Serum auf und bewirkt dann als äußerliches Merkmal der Gelbsucht (Ikterus) die Gelbfärbung des Gewebes. Wie H. Fischer u. F. Reindel²⁾ bewiesen haben, ist Bilirubin auch mit dem Hämatoidin Virchows identisch, das kristallisiert in Cysten und Blutextravasaten vorkommt. Das Bilirubin entsteht im Organismus vornehmlich in der Leber, daneben auch im Endothel der Pfortadercapillaren, im Knochenmark, in den Lymphknoten und im Reticulum der Milz, d. h., ganz allgemein im sog. reticuloendothelialen System, einem System spezifischer Zellen (L. Aschoff³), F. C. Mann u. T. B. Magath⁴⁾).

Aus der Leber gelangt das Bilirubin, das kristallisiert einen orangefarbenen Farbstoff darstellt, in die Gallenblase, wo es teilweise zum grünen Biliverdin dehydriert wird. Beide Pigmente werden von hier aus in den Darm abgegeben, wo sie durch die reduzierende Wirkung eines Bakteriensynergismus in die Leukoverbindungen Urobilinogen und Stercobilinogen übergeführt werden (F. v. Müller⁵), H. Fischer u. F. Meyer-Betz⁶), H. Kämmerer⁷⁾). Durch sekundäre Dehydrierung entstehen aus den Leukoverbindungen die beiden Farbstoffe Urobilin und Stercobilin. Ein Teil dieser Pigmente bzw. ihrer Chromogene gelangt in den intermediären Stoffwechsel zurück und wird wieder über die Leber und die Galle dem Darm zugeführt. Ist die Funktion der Leber gestört, so tritt eine vermehrte Ausscheidung von Urobilinogen oder Stercobilinogen im Harn auf, ein Zustand, der unter dem Namen Urobilinogenurie oder Urobilinurie bekannt ist. Im Darm wird eine vermehrte Gallenfarbstoffausscheidung festgestellt allgemein bei Erkrankungen, die einen erhöhten Zerfall von roten Blutkörperchen zur Folge haben, so bei perniciöser Anämie, Hämoglobinurie, hämolytischem Ikterus, Scharlach, Malaria usw. sowie bei Blutergüssen in das Gewebe.

Neben diesen vierkernigen Pyrrolderivaten darstellenden Produkten des Blutfarbstoffabbaus sind nun in den letzten Jahren im Organismus Derivate gefunden worden, deren Molekül nur zwei Pyrrolkerne enthält. So tritt unter bestimmten pathologischen Verhältnissen, besonders bei Urobilinurie oder Bilirubinurie im Harn ein farbloses Produkt auf (Propentyopent), das an einer Farbreaktion, der sog. „Pentdyopent-Reaktion“ (vgl. S. 402) zu erkennen ist (K. Bingold⁸), H. Fischer u. A. Müller⁹), H. Fischer u. H. v. Dobeneck¹⁰⁾). Es entsteht

vermutlich in der Niere aus Bilirubin. — Als weiteres zweikerniges Produkt ist in der Galle das Bilifuscin vorhanden, ein brauner Farbstoff, der im Darm zum Mesobilifuscin (W. Siebel u. H. Möller¹¹⁾) reduziert wird. Dieses ist dort in Form eines Chromoproteids, als Myobilin bei primärer progressiver Muskeldystrophie vermehrt nachgewiesen worden (G. Meldolesi, W. Siebel u. H. Möller¹²⁾). Das Myobilin scheint von dem beim Myodystrophiker beschleunigt abgebauten Muskelfarbstoff, dem Myoglobin, abzustammen. — Die soeben geschilderten Verhältnisse lassen sich schematisch in folgendem Bilde wiedergeben:

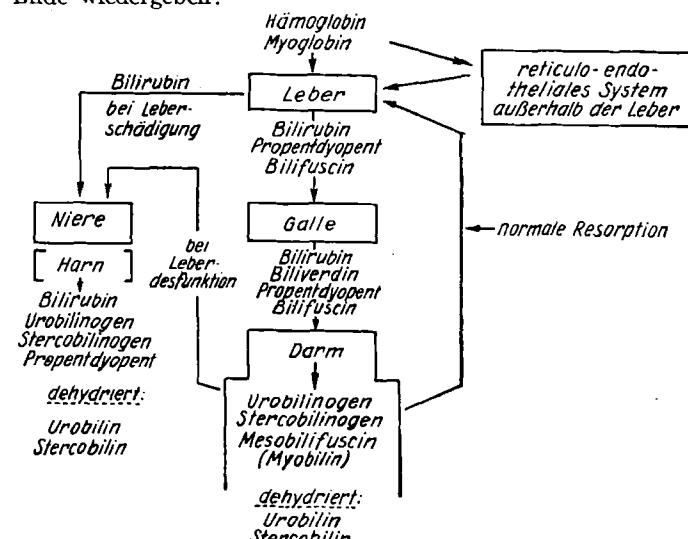
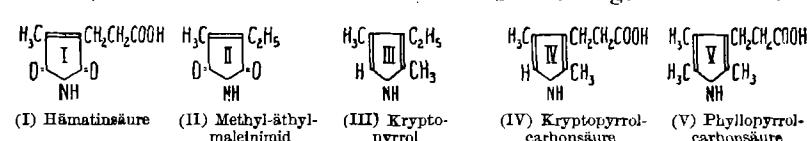


Abb. 1.

Vierkernige Gallenfarbstoffe (Bilirubinoide.) Bilirubin und Mesobilirubin.

Das Bilirubin ist erstmals von G. Städeler¹³⁾ aus Rinder-gallensteinen isoliert worden, später von H. Fischer¹⁴⁾ auch aus menschlichen Gallenkonkrementen sowie aus Faeces bei hämolytischem Ikterus. Nach einem neueren Verfahren¹⁵⁾ kann es auch direkt aus Galle gewonnen werden, u. zw. unter Ausnutzung der Schwerlöslichkeit seines Ca-Salzes. Es stellt einen kristallisierten orangefarbenen Farbstoff dar. Seine Beziehung zum Blutfarbstoff wurde von W. Küster¹⁶⁾ aufgefunden. Er erhielt bei der Oxydation von Bilirubin Hämatinsäure (I), wie sie später auch beim Hämin erhalten worden ist. Die relativ nahen Zusammenhänge von Bilirubin und Blutfarbstoff sind dann von H. Fischer und seiner Schule aufgeklärt worden.



So gelang zuerst mittels Natriumamalgam die Reduktion des Bilirubins zu seiner Leukoverbindung, dem Mesobilirubinogen¹⁴⁾, das bei Oxydation neben Hämatinsäure noch Methyl-äthyl-maleinimid (II) lieferte. Damit war auch das Vorhandensein eines basischen Pyrrolringes erwiesen. Die Zusammensetzung ergab sich zu $\text{C}_{33}\text{H}_{44}\text{O}_6\text{N}_4$ und bewies damit das Vorliegen eines Gerüstes von vier Pyrrolkernen. Über die Art der Verknüpfung der Kerne gab die Isolierung der

¹⁾ Vgl. den zusammenfassenden Bericht über „Gallenfarbstoffe“ in Bd. III der „Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe“, herausgegeben von L. Zechmeister, Verlag J. Springer, Wien 1939.

²⁾ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **127**, 299 [1928].

³⁾ Münch. med. Wschr. **69**, 1352 [1922].

⁴⁾ Amer. J. Physiol. **76**, 806 [1926]; **77**, 219 [1926], Erg. Physiol. **23**, 212 [1930].

⁵⁾ Jber. schles. Ges. vaterl. Kultur. Med. Sektion I, Breslau 1892.

⁶⁾ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **75**, 232 [1911], vgl. auch Ann. 20.

⁷⁾ Dtsch. Arch. klin. Med. **141**, 318 [1923].

⁸⁾ Naturwiss. **26**, 656 [1938], Klin. Wschr. **17**, 289 [1938]; s. a. **13**, 1451 [1934].

⁹⁾ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **246**, 43 [1937]. ¹⁰⁾ Ebenda **263**, 125 [1940].

¹¹⁾ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **259**, 113 [1939].

¹²⁾ Ebenda **259**, 137 [1939].

¹³⁾ Liebigs Ann. Chem. **132**, 325 [1864].

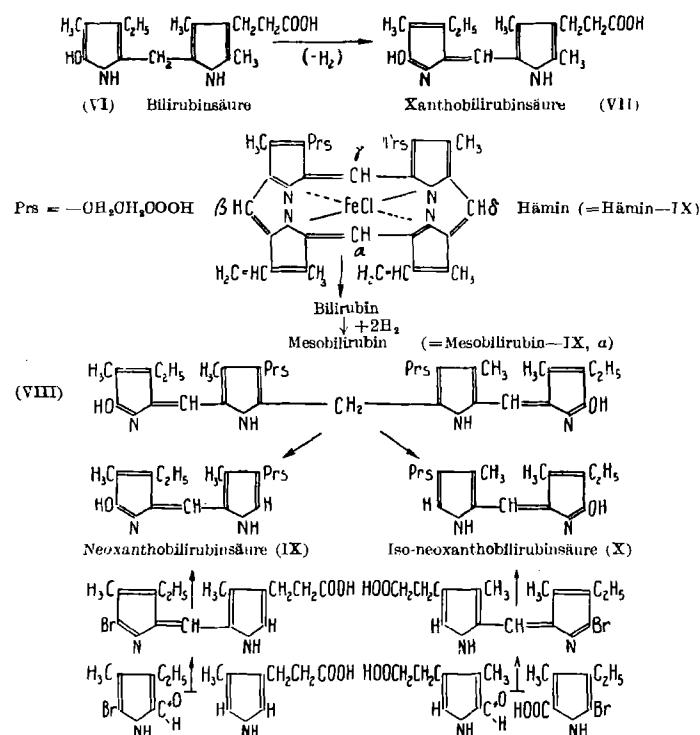
¹⁴⁾ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **73**, 204 [1911].

¹⁵⁾ J. D. Porsche, E. F. Pike u. L. Gabby, Amer. Pat. 2106073, 11./7. 1939.

¹⁶⁾ Ber. dtsch. chem. Ges. **30**, 1831 [1897].

Bilirubinsäure (VI) weiteren Aufschluß, die aus Bilirubin mittels Jodwasserstoff-Eisessig¹⁷⁾ erhalten wurde. Da sie bei weiterem Abbau Kryptopyrrol (III), Kryptopyrrolcarbonsäure (IV) und Phyllopyrrolcarbonsäure (V) lieferte und zu einem gelben Farbstoff, der Xanthobilirubinsäure (VII) dehydriert werden konnte, mußte ihr die Konstitution VI zukommen. Diese ist später von H. Fischer u. E. Adler¹⁸⁾ durch Synthese bestätigt worden.

Die katalytische Reduktion des Bilirubins mit Pd in alkalischer Lösung¹⁹⁾ führte unter Aufnahme von 2 Mol. Wasserstoff zu einem neuen Bilirubinoid, dem Mesobilirubin, mit der Zusammensetzung $C_{38}H_{40}O_6N_4$, das zum Bilirubin in dem gleichen Verhältnis stehen mußte wie Mesoporphyrin zum Protoporphyrin. Es ist dann auch aus Mesobilirubinogen mit Kaliummethylat unter Druck²⁰⁾ sowie durch Reduktion von Bilirubin mit Hydrazhydrat-Natriumäthylat²¹⁾ gewonnen worden. Durch Resorcinschmelze des Mesobilirubins wurde von H. Fischer u. R. Heß²²⁾ ein neues Abbauprodukt, die „Neoxanthobilirubinsäure“ erhalten, die von der Xanthobilirubinsäure dadurch unterschieden ist, daß sich an Stelle der α -CH₃-Gruppe eine freie Methingruppe befindet. Nachdem es durch Kondensation zweier Moleküle „Neoxanthobilirubinsäure“ mit Formaldehyd gelungen war, wieder rückwärts einen Farbstoff vom Typ des Mesobilirubins darzustellen²²⁾, war der Beweis erbracht, daß in den Gallenfarbstoffen und ihren Leukoverbindungen die Pyrrolkerne linear miteinander verknüpft sind mit einer Methylengruppe als mittleren Brücke. Der Beweis für die Anordnung der β -Substituenten im natürlichen Bilirubinoid wurde von W. Siedel u. H. Fischer²³⁾ erbracht. Es konnte gezeigt werden, daß in der analytischen „Neoxanthobilirubinsäure“ ein Gemisch zweier Isomerer vorliegt, der eigentlichen Neoxanthobilirubinsäure (IX) und einer Iso-neoxanthobilirubinsäure (X)^{23a)}, beide lediglich unterschieden in der Stellung der Methyl- und Äthylgruppen am Pyrrolenring. Der Beweis wurde durch die Synthese beider Oxy-pyrromethene in dem unten skizzierten Sinne geführt. Es wurde auch nachgewiesen, daß die Xanthobilirubinsäure kein entsprechendes Isomergemisch darstellt.



Es war damit erwiesen, daß die Gallenfarbstoffe unsymmetrisch gebaut sind und daß die Anordnung der β -Substituenten beim Bilirubin mit derjenigen des Hämins übereinstimmt. Chemisch besteht somit der Übergang vom Blutfarbstoff zum Gallenfarbstoff in einer Aufspaltung des

¹⁷⁾ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **82**, 391 [1912].

¹⁸⁾ Ebenda **197**, 237 [1931].

¹⁹⁾ Ber. deutsch. chem. Ges. **47**, 791 [1914], H. Fischer.

²⁰⁾ Z. Biol. **65** (n. F. 47), 163 [1914].

²¹⁾ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **137**, 293 [1924].

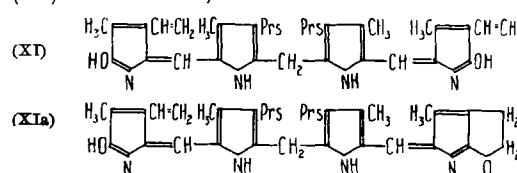
²²⁾ Ebenda **194**, 193 [1931].

²³⁾ Ebenda **214**, 115 [1933].

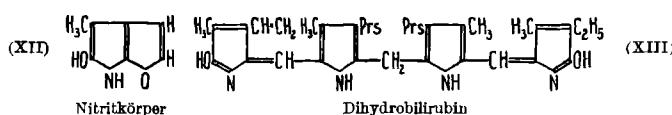
^{23a)} Ebenda **231**, 167 [1935].

Porphinringes an der α -Methinbrücke, Herausnahme derselben sowie des Eisens und Bildung zweier Oxygruppen an den frei gewordenen endständigen α -Stellen.

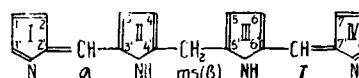
Da sich das Bilirubin vom Mesobilirubin durch einen Mindergehalt von 4 H-Atomen unterscheidet, muß ihm, u. zw. in Analogie zu den Verhältnissen beim Blutfarbstoff, die Formel (XI) zukommen²³⁾.



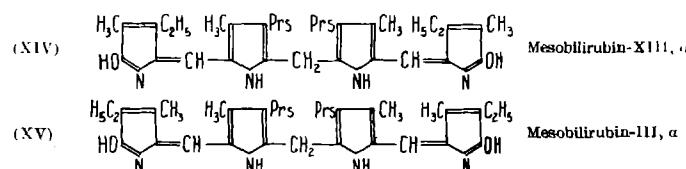
Neben dieser Formel wird von H. Fischer u. H. W. Haberland²⁴⁾ die Formulierung XIa für das Bilirubin in Betracht gezogen, mit dem an Kern IV angegliederten Hydrofuranring, u. zw. weil bei Oxydation von Bilirubin mit salpetriger Säure an Stelle von Methyl-vinyl-maleinimid eine neuartige Substanz entsteht, der sog. „Nitritkörper“, dem die Konstitution XII zugeschrieben wird²⁵⁾. Eine Stütze für die Annahme des Hydrofuranringes wird auch darin erblickt, daß bei der sehr kurz dauernden Resorcinschmelze des Bilirubins nur die der Neoxanthobilirubinsäure entsprechende Vinylverbindung²⁶⁾ erhalten wird, und endlich darin, daß bei der katalytischen Reduktion des Bilirubins als Zwischenprodukt das Dihydrobilirubin²⁴⁾ der Konstitution (XIII) abgefangen werden kann.



Nomenklatur der Bilirubinoide: Um klare Beziehungen und möglichst einfache Verhältnisse hinsichtlich der Benennung der Bilirubinoide zu schaffen, wurde für diese eine neue Nomenklatur eingeführt^{23, 24, 27)}. Es werden alle Bilirubinoide von den entsprechenden Porphyrinen abgeleitet gedacht. Von den vier isomeren Ätioporphyrinen leiten sich 15 isomere Proto- bzw. Mesoporphyrine ab, numeriert von I bis XV. Da sich die natürlichen Gallenfarbstoffe vom Proto- bzw. Mesoporphyrin IX ableiten lassen, wird ihnen die Ziffer IX angefügt. Um auch hier zwischen den vier möglichen Spaltungsprodukten unterscheiden zu können, wird die Spaltungsstelle des Porphinringes berücksichtigt. Weil die Bilirubinoide vom Typ IX durch Aufspaltung des Hämins bzw. Mesohämins IX an der α -Methinbrücke entstanden sind, erhalten sie das Kennzeichen -IX, α . Für die β -Substituenten werden durchlaufend die Zahlen 1 bis 8 verwandt, für die α -Stellen die Zahlen 1' bis 8'. Die C-Brücken erhalten die Benennung α , ms (oder β) und γ . Schließlich können noch die Kerne von I bis IV numeriert werden. Unter Verwendung



der Silbe „bili-“ als Kennzeichen des Gallenfarbstoffs und der üblichen Bezeichnung „en“, „dien“ und „trien“ ist z. B. das analytische Mesobilirubin (= Mesobilirubin-IX, α) zu benennen als: 1',8'-Dioxy-1,3,6,7-tetramethyl-2,8-diäthyl-bili-dien-(2' α ,7' γ)-4,5-dipropionsäure. — Die symmetrischen Mesobilirubine (XIV u. XV) erhalten bezüglich ihrer Abstammung von den Mesoporphyrinen -XIII und -III die Kennzeichen -XIII, α und -III, α .



Abgeschlossen wurde die Beweisführung für die unsymmetrische Struktur der Gallenfarbstoffe durch die Synthese des Mesobilirubins-IX, α (S. 399). Von Bilirubinoiden mit ungesättigten Seitenketten ist bis jetzt das Bilirubin-XIII, α dargestellt²⁸⁾ worden, u. zw. durch Kondensation von zwei Molekülen „Vinyl-neoxanthobilirubinsäure“, dem durch Resorcinschmelze des Bilirubins erhaltenen Vinyl-Isologen der Neoxanthobilirubinsäure. Ebenso sind Bilirubinoide mit Nitrovinylgruppen²⁸⁾ synthetisiert worden, allerdings nicht vom Bilirubin-, sondern vom Urobilin-Typ.

²⁴⁾ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **232**, 236 [1935].

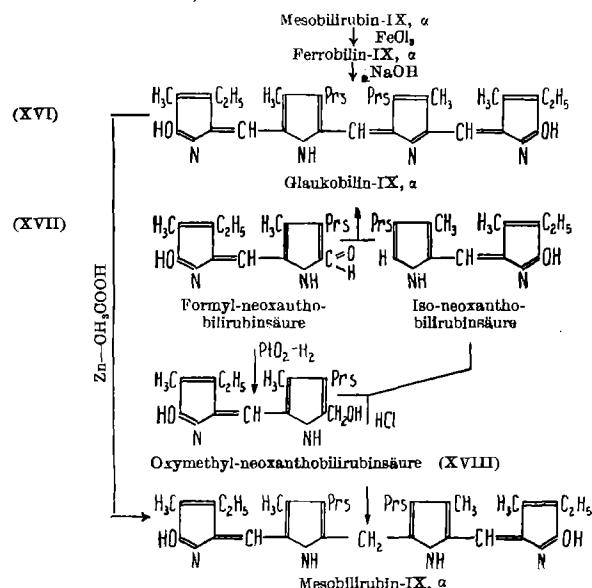
²⁵⁾ H. Fischer u. G. Niemann, ebenda **148**, 196 [1925].

²⁶⁾ H. Fischer u. H. Reinecke, ebenda **258**, 9 [1939].

²⁷⁾ W. Siedel, ebenda **245**, 257 [1937]. ²⁸⁾ H. Fischer u. H. Reinecke, ebenda **259**, 243 [1939].

Ferrobilin, Glaukobilin, Biliverdin.

Durch Einwirkung von FeCl_3 in Eisessig auf Mesobilirubin erhielten H. Fischer, H. Baumgartner u. R. Heß²⁰) das Ferrobilin, eine Molekülverbindung von der Zusammensetzung $C_{33}H_{38}O_6N_4 \cdot \text{FeCl}_3 \cdot \text{HCl}$. Bei Behandlung mit Natronlauge entstand daraus ein blauer Farbstoff, das Glaukobilin $C_{33}H_{38}O_6N_4$ (= Glaukobilin-IX, α). Dieses ist auch durch Oxydation von Mesobilirubin mit konz. $H_2\text{SO}_4$, Chinon und PbO_2 gewonnen worden. Die Annahme, daß in ihm ein Dehydrierungsprodukt des Mesobilirubins von der Konstitution (XVI) vorliegt, ist durch die von W. Siedel²¹) durchgeführte Totalsynthese bestätigt worden. Zu dieser Synthese, die gleichzeitig die erste Synthese eines unsymmetrischen Bilirubinoids der natürlichen Reihe war, wurde in die freie α -Stellung der Neoxanthobilirubinsäure mittels $\text{HCN}-\text{HCl}$ die Formylgruppe eingeführt. Kondensation der so erhaltenen Formyl-neoxanthobilirubinsäure (XVII) mit Iso-neoxanthobilirubinsäure mittels Bromwasserstoffsäure oder Essigsäureanhydrid ergab das Glaukobilin-IX, α .



Nachdem es gelungen war [durch katalytische Reduktion des Methylesters mit PtO_2 (nach Adams) - H_2], die Aldehydgruppe der Formyl-neoxanthobilirubinsäure in die Oxymethylgruppe überzuführen, konnte auch die Synthese des Mesobilirubins-IX, α durchgeführt werden (W. Siedel²²). Durch Kondensation der Oxymethyl-neoxanthobilirubinsäure (XVIII) mit Iso-neoxanthobilirubinsäure wurde so das Mesobilirubin-IX, α erhalten. Dieses konnte daneben auch durch Reduktion von synthetischem Glaukobilin-IX, α mittels Zinkstaub-Eisessig dargestellt werden.

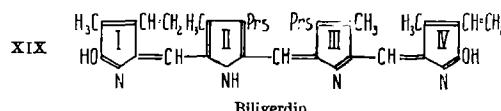
Die isomeren symmetrischen Glaukobiline -III, α und -XIII, α wurden zum Vergleich ebenfalls dargestellt. Sie werden neuerdings mit bester Ausbeute durch Einwirkung von Bleitetraacetat auf Xantho- bzw. Isoxanthobilirubinsäure erhalten²³). Auch ein Ätioglaukobilin²⁴) und das Koproglaukobilin-II, β ²⁵) sind synthetisiert worden, sowie ein vinylsubstituiertes Glaukobilin²⁶).

In der Natur ist das Glaukobilin selbst noch nicht beobachtet worden. Jedoch sind Glaukobiline als Sekundärprodukte aus den Chromoproteinen der Rotalgen, dem Phycocyan und dem Phycoerythrin nach Behandlung mit $\text{CH}_3\text{OH}-\text{HCl}$ isoliert worden (R. Lemberg u. G. Bader²⁷). Schließlich wurden Glaukobiline auch bei Aufspaltungsreaktionen des Porphyrinringes gefäßt (S. 403).

Beim Bilirubin führt die Dehydrierung zu einem analog gebauten Produkt, dem grünen Biliverdin (XIX). Es ist schon von W. Küster²⁸) bei der Gewinnung von Bilirubin aus Gallensteinen als Sekundärprodukt kristallisiert erhalten worden.

Dargestellt wird heute das Biliverdin entweder durch Dehydrierung des Bilirubins mittels Chinon²⁹) oder einfacher und mit bester Ausbeute durch Einwirkung von Ferrichlorid

auf Bilirubin-dimethylester³¹), der seinerseits aus Bilirubin mit $\text{HCl}-\text{CH}_3\text{OH} + \text{Chloroform}$ gewonnen wird^{34b}).



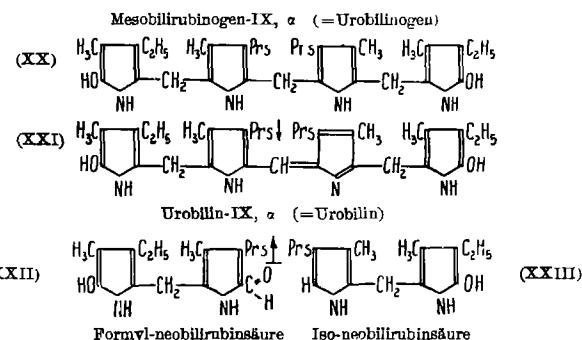
Von R. Lemberg u. J. Barcroft³⁵) ist das Biliverdin mit dem „Uteroverdin“ identifiziert worden, das schon 1830 in den grünen Säumen der Hundeplacenta entdeckt wurde. — In neuester Zeit ist gezeigt worden, daß Biliverdin auch ein Bestandteil der Katalase ist und darin zum Hämatin im Verhältnis 1:3 steht (J. B. Sumner u. A. L. Dounce³⁶), K. G. Stern³⁷, R. Lemberg³⁸).

Urobilin, Stercobilin, Urobilinogen, Stercobilinogen.

Mit der Synthese der Formyl-neoxanthobilirubinsäure war eine neue Möglichkeit zum Aufbau verschiedenster Bilirubinoide gegeben, u. zw. vor allem hinsichtlich der Hydrierungsstufe des Brückenskeletts. So konnte noch vor der Synthese des Mesobilirubins die Konstitution des Urobilins auf synthetischem Wege geklärt werden.

Das Urobilin wurde 1868 von M. Jaffé als roter Farbstoff in menschlicher Galle und in Hundegalle und 1869 auch im Harn mittels der charakteristischen Fluoreszenzreaktion mit Zinkacetat-Lösung nachgewiesen. Jaffé erkannte auch schon, daß das Urobilin ein Sekundärprodukt ist und durch Oxydation einer Leukoverbindung entsteht (L. Disque³⁹), für die seit Le Nobel⁴⁰) der Name Urobilinogen gebraucht wird. Daß beide Produkte vom Bilirubin abstammen, wurde durch dessen biologische Überführung mittels Darimbakterien in Urobilin bewiesen (Fr. v. Müller⁴¹). Von größter Bedeutung für die Strukturaufklärung war der von H. Fischer u. F. Meyer-Betz⁶) erbrachte Beweis der Identität von Urobilinogen aus Harn und dem durch Amalgamreduktion aus Bilirubin erhaltenen Mesobilirubinogen. Diesem letzteren mußte auf Grund seiner Entstehung und seiner Eigenschaft als Leukoverbindung nach dem Beweis des unsymmetrischen Baues der Gallenfarbstoffe die Konstitution (XX) zukommen (= Mesobilirubinogen-IX, α , Synthese vgl. S. 400).

Unter der Annahme, daß bei der Dehydrierung des Mesobilirubinogens ein ähnlicher Reaktionsmechanismus vorliegt wie bei der Dehydrierung des Mesobilirubins zum Glaukobilin, also eine H-Abspaltung an der ms- CH_2 -Brücke und einer benachbarten Iminogruppe eintritt, wurde von W. Siedel u. E. Meier⁴²) die Formyl-neoxanthobilirubinsäure (XVII) (mit koll. Pd in alkal. Lsg.) zur Formyl-neobilirubinsäure (XXII) reduziert und mit der Iso-neobilirubinsäure (XXIII)



kondensiert. Das so dargestellte Bilirubinoid (XXI) erwies sich mit dem aus Mesobilirubinogen-IX, α durch Oxydation mit Eisessig-Luftsausstoff erhaltenen und erstmals von C. J. Watson⁴³) kristallisierten Urobilin identisch. Damit kommt ihm die Bezeichnung Urobilin-IX, α zu. Die Bildung eines Mono-hydrochlorids, wie beim analytischen Urobilin, sowie der Übergang in die Leukoform unter Aufnahme zweier H-Atome stehen mit seiner Konstitution im Einklang. Die symmetrischen Urobiline-III, α und -XIII, α werden durch Kondensation der Iso-neo-

²⁰) Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **206**, 201 [1932].

²¹) Ebenda **237**, 8 [1935].

²²) W. Siedel u. E. Grams (unveröffentlicht).

²³) H. Fischer u. A. Stachel, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **258**, 121 [1939].

²⁴) Naturwiss. **21**, 206 [1933]; vgl. Liebigs Ann. Öhem. **506**, 151 [1933].

²⁵) Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **59**, 63 [1909].

²⁶) H. Fischer u. H. Reinecke, ebenda **265**, 9 [1940].

²⁷) Proc. Roy. Soc. London, Ser. B, **110**, 361 [1932].

²⁸) J. Biol. Chem. **121**, 417 [1938].

²⁹) Nature, London **144**, 551 [1939].

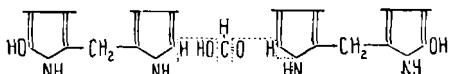
³⁰) Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **2**, 259 [1878/79].

³¹) Pflügers Arch. ges. Physiol. Menschen Tiere **40**, 501 [1887].

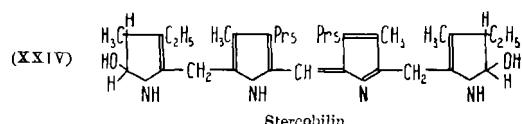
³²) Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **242**, 101 [1936].

³³) Ebenda, **221**, 145 [1933].

bzw. der Neobilirubinsäure mittels Ameisensäure (und Essigsäureanhydrid) im Sinne der folgenden Formulierung erhalten:



Ein Jahr nach der Entdeckung des Urobilins wurde von C. F. van Lair und J. B. Masius ein urobilinähnlicher Farbstoff, das Stercobilin, in den Faeces gefunden. Es ist 1932 von C. J. Watson⁴³⁾ kristallisiert erhalten worden. Die Frage nach seinem Verhältnis zu Urobilin ist durch die Untersuchungen von H. Fischer, H. Halbach u. A. Stern⁴⁴⁾, H. Fischer u. H. Halbach⁴⁵⁾ sowie auf Grund der Synthese des Urobilins geklärt worden. Im Hinblick auf die allgemeinen Eigenschaften, wie Farbe, Lichtabsorption⁴⁶⁾ und Salzbildung, muß es das gleiche Brückenskelett wie Urobilin besitzen, denn wie die analytischen und synthetischen Untersuchungen gezeigt haben, ist die Art des Brückenskeletts für den Charakter des Bilirubinoids maßgebend. Durch Überführung des Stercobilins mittels Schwefelsäure in Glaukobilin-IX, α war für die β -Substituenten die übliche unsymmetrische Anordnung bewiesen. Der entscheidende Unterschied liegt jedoch beim Stercobilin in einem Mehrgehalt von 4 H-Atomen gegenüber dem Urobilin und in der optischen Aktivität. Es wird ihm deshalb die Formel XXIV zugeschrieben. Die „überzähligen“ H-Atome sind in den Ringen I und IV untergebracht; damit entstehen vier Asymmetriezentren, die die optische Aktivität bedingen. Durch



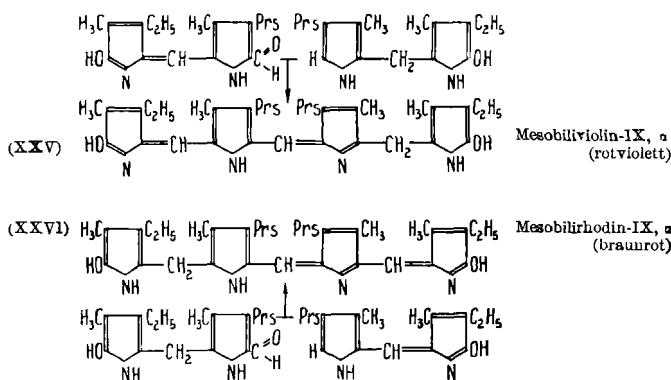
neuere Untersuchungen von H. Fischer u. H. Libowitzky⁴⁷⁾ sind die Ergebnisse bestätigt worden. Es konnte weiter festgestellt werden, daß die basischen Kerne des Stercobilins bei der Oxydation optisch aktive Spaltstücke liefern.

Durch Reduktion geht das Stercobilin in die Leukoform, das Stercobilinogen, über, das im Gegensatz zum Mesobilirubinogen (= Urobilinogen) noch nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte.

Was das Vorkommen beider Leukoverbindungen betrifft, so finden sie sich nebeneinander sowohl im Harn als auch in den Faeces. (C. J. Watson⁴⁸⁾, H. Fischer u. H. Libowitzky⁴⁷⁾ und R. Lemberg u. Mitarb.⁴⁹⁾). Meist überwiegt das Stercobilinogen.

Mesobiliviolin, Mesobilirhodin, Ψ -Mesobiliviolin, Dihydromesobilirubin.

Wie schon gesagt, haben sich Anzahl und Anordnung der Methin- und Methylengruppen im Brückengerüst als ausschlaggebend für den Charakter der Bilirubinoide erwiesen. Nach der Synthese der Formyl-neoxanthobilirubinsäure und der Formyl-neobilirubinsäure war nun die Möglichkeit gegeben, diese Feststellungen zu erhärten, u. zw. durch Kondensation der ersten mit Iso-neobilirubinsäure und Kondensation der letzteren mit Iso-neoxanthobilirubinsäure neuartige Bilirubinoide im Sinne des folgenden Schemas aufzubauen (W. Siegel⁵⁰⁾, W. Siedel u. H. Möller⁵⁰⁾.



⁴³⁾ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **204**, 57 [1932].

⁴⁴⁾ Liebigs Ann. Chem. **519**, 254 [1935].

⁴⁵⁾ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **238**, 59 [1930].

⁴⁶⁾ Vgl. F. Pruckner u. A. Stern, Z. physik. Chem. Abt. A **180**, 25 [1937], **182**, 117 [1938].

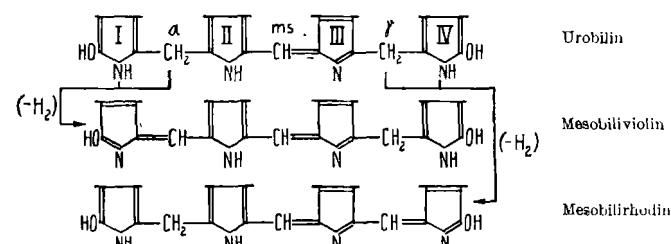
⁴⁷⁾ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **258**, 255 [1939].

⁴⁸⁾ J. biol. Chemistry **114**, 47 [1935]. ⁴⁹⁾ Austral. J. exp. Biol. med. Sci. **16**, 169 [1938].

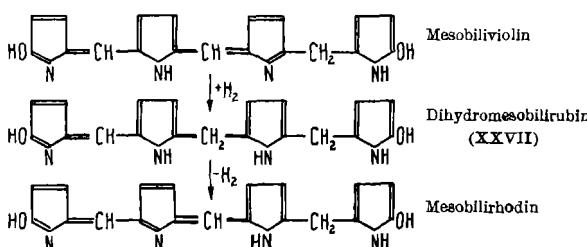
⁵⁰⁾ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **264**, 64 [1940].

Bei der ersten Umsetzung entstand ein rotvioletter Farbstoff (XXV), bei der zweiten ein braunroter (XXVI). Die Eigenschaften des rotvioletten Farbstoffes, besonders die Rotfluoreszenz seines Zink-Komplexsalzes, deuten auf eine enge Beziehung zu einem bereits bekannten Bilirubinoid, u. zw. dem „Mesobiliviolin“ hin. Dieses ist von H. Fischer u. G. Niemann⁵¹⁾ bei Untersuchungen über die Stabilität des Mesobilirubinogens aus denselben durch Einwirkung von Ferrichlorid und Salzsäure in der Hitze erhalten worden. Der Vergleich des synthetischen mit dem analytischen Produkt ergab auch, daß im analytischen „Mesobiliviolin“ das synthetische rotviolette Bilirubinoid enthalten ist und daß sich daneben auch das braune Produkt findet. Die Trennung des analytischen Gemisches in die beiden Komponenten, die nunmehr als Mesobiliviolin-IX, α und Mesobilirhodin-IX, α bezeichnet werden, geschah mittels chromatographischer Adsorptionsanalyse. Die Möglichkeit einer chromatographischen Trennung ist um so bemerkenswerter, als beide Verbindungen (XXV und XXVI) isomer sind und sich nur in der Lage der Doppelbindungen unterscheiden, bzw. in der Stellung der Pyrrol- und Pyrroleninringe zueinander.

Die Entstehung des Mesobiliviolins und des Mesobilirhodins erklärt sich zwangsläufig aus den Dehydrierungsmöglichkeiten beim Mesobilirubinogen bzw. dem bei der FeCl_3 -Oxydation primär gebildeten Urobilin, u. zw. je nachdem, ob die H-Abspaltung an der Iminogruppe des Ringes I und der $\alpha\text{-CH}_2$ -Brücke oder der Iminogruppe des Ringes IV und der $\gamma\text{-CH}_2$ -Brücke einsetzt. (Vgl. folgendes Schema).



Neben der Synthese des Mesobiliviolins-IX, α wurde auch diejenige dessymmetrischen Mesobiliviolins-XIII, α durchgeführt⁵⁰⁾. Reduktion beider Isomeren mit Natriumamalgam führte zu den bekannten Mesobilirubinogenen -IX, α und -XIII, α . Die Identifizierung mit den aus Bilirubin bzw. Glaukobilin-XIII, α erhaltenen Leukoverbindungen geschah mit Hilfe der Röntgendiagramme nach Debye-Scherrer. — Die katalytische Reduktion der Mesobilivioline führt zu den Dihydromesobilirubinen der allgemeinen Formel XXVII, von denen das Isomere IX, α von H. Fischer u. H. Baumgartner⁵²⁾ schon früher aus den Mutterlaugen der Mesobilirubindarstellung gewonnen worden ist. Bei Oxydation der Dihydromesobilirubine (mit Bleitetraacetat, HNO_3 — HNO_2 usw.) werden hauptsächlich Mesobilirhodine erhalten. Damit ist eine einfache Überführungs möglichkeit von Mesobiliviolinen in Mesobilirhodine gegeben. Die letzteren stellen anscheinend die energieärmere Form von beiden Isomeren dar.



Ein spontaner Übergang in den Typ des Mesobilirhodins ist beim Iso-mesobiliviolin-XI, α beobachtet worden, das durch Kondensation von Formyl-iso-neoxanthobilirubinsäure mit Neobilirubinsäure dargestellt worden ist⁵⁰⁾. Unter Zugrundelegung der Raumformel kann (die chromophore Gruppe als komplanar gedacht⁵³⁾) diese Isomerisierung durch eine Protonenwanderung mit einer vorausgehenden Wasserstoffbindung (Scherenbindung, Chelation⁵⁴⁾) im Sinne der Formel

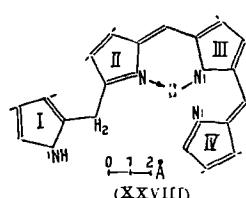
⁵¹⁾ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **137**, 293 [1924].

⁵²⁾ Ebenda **216**, 260 [1933].

⁵³⁾ Vgl. E. Hückel, Z. elektrochem. angew. physik. Chem. **43**, 752, 827 [1937]; G. Scheibe, diese Ztschr. **52**, 631 [1939].

⁵⁴⁾ B. Eistert: Tautomerie und Mesomerie, Stuttgart 1938.

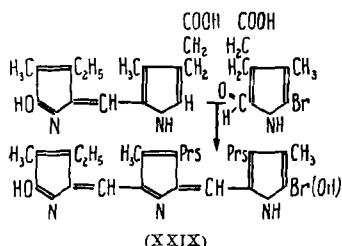
XXVIII erklärt werden. Das Produkt mit der Wasserstoffbindung dürfte intermediär auftreten, denn die violette Lösung des Iso-mesobiliviolins -IX, α verfärbt sich zuerst nach Grün und nimmt erst bei Zusatz von Mineralsäure die rote Farbe des sauren Mesobilirhodins an.



Dasselbe gilt wahrscheinlich auch für Pyromethene.

Beim Lagern der Mesobilivioline tritt eine Isomerisierung im Molekül ein. Es entsteht vorerst ein in Lösung rotbrauner Farbstoff, dessen Zink-Komplexsalz aber noch die für das Ausgangsmaterial typische Rotfluorescenz zeigt. Er wird deshalb als Ψ -Mesobilivolin bezeichnet⁵⁰). Dieses Produkt, das

noch aus vier Kernen besteht, wie die Reduktion zum Mesobilirubinogen beweist, unterliegt im Laufe einiger Monate einer weiteren Umwandlung, u. zw. zu einem orangegelben Farbstoff. Dieser konnte in seinen wesentlichen Eigenschaften mit dem von W. Siedel u. E. Grams⁵¹) dargestellten Dioxytrypyrrnen der Konstitution XXIX identifiziert werden. (Ähnliche Tripyrrne sind schon früher von H. Fischer u. E. Adler⁶⁶) und H. Fischer u. H. Reinecke⁶⁷) synthetisiert worden). — Mit dieser Feststellung ist erstmals der autoxydative Zerfall eines Gallenfarbstoffs in ein dreikerniges Produkt unter Abspaltung eines Pyrrolringes bewiesen.



Mesobilipurpurin, Bilipurpurin, Mesocholeotelin, Choleotelin, „Oxo“-urobilin.

Läßt man auf eine Lösung von Bilirubin oder Mesobilirubin in Chloroform nitrithaltige Salpetersäure einwirken, so beobachtet man ein schönes Farbenspiel, u. zw. verfärbt sich die Lösung nacheinander über Gelb, Grün, Blau, Violett und Rot wieder nach Gelb. Diese Umsetzung wird unter der Bezeichnung „Gmelinsche Reaktion“ schon seit langem zum qualitativen Nachweis von Bilirubin benutzt. — Zum Zustandekommen der Reaktion muß ein System von vier linear miteinander verbundenen Pyrrolringen⁵⁸) vorliegen mit den Brückengliedern wie beim Bilirubin oder Biliverdin.

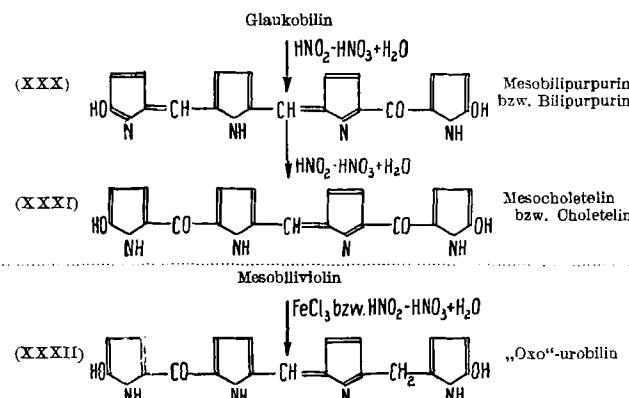
Was die einzelnen Farbstufen der Reaktion betrifft, so konnte gezeigt werden, daß der grüne Phase beim Bilirubin das Biliverdin, beim Mesobilirubin das Glaukobilin zugrunde liegt⁵⁴). — Für die dann folgende Blaustufe ist die Bezeichnung „Bilicyanin“⁵⁹), für die gelbe Endstufe die Bezeichnung „Choleotelin“⁶⁰) eingeführt worden. Wie neueste, noch im Gange befindliche Untersuchungen ergeben haben, verläuft der Prozeß von der Blaustufe ab sehr kompliziert. Versuche mit Mesobilirubin zeigten, daß die blaue Phase nicht einheitlich ist, sondern daß sie eine Mischung von salpetersaurem Glaukobilin und einem in neutraler Lösung roten Farbstoff darstellt. Für diesen letzteren wurde der Name „Mesobilipurpurin“ eingeführt. Die Zusammensetzung seines Dimethylesters wurde zu $C_{35}H_{42}O_4N_4$ von W. Siedel u. W. Fröwis⁶¹) ermittelt. Da er in allen Eigenschaften, vor allem in der Lichtabsorption und der Rotfluorescenz seines Zinkkomplexsalzes, dem Mesobilivolin außerordentlich ähnlich ist, muß bei ihm die gleiche Anordnung der Brücken- und Doppelbindungen vorliegen wie beim Mesobilivolin, nur mit dem Unterschied, daß an Stelle der $-\text{CH}_2-$ -Brücke eine $-\text{CO}-$ -Brücke (XXX) anzunehmen ist, im Hinblick auf den erhöhten Sauerstoffgehalt des Bilirubinoids. Für die Bildung der $-\text{CO}-$ -Brücke wurde bisher der gleiche Reaktionsmechanismus angenommen wie bei der Oxydation der Neoxanthobilirbinsäure über ein instabiles Enol zum Oxomeso-

bilifuscin (vgl. S. 402). Neuere Untersuchungen (W. Siedel u. E. Grams⁶²) haben ergeben, daß der Bildung der Violett-Rot-Stufe des Gmelinschen Testes Anlagerungsreaktionen vor ausgehen, u. zw. zuerst an einer der Außenständigen Brücken-Doppelbindungen des Glaukobilins. So wird bei der Oxydation von Glaukobilin mittels $\text{HNO}_2-\text{HNO}_3-\text{HO}-\text{NO}$ angelagert; bei der Oxydation mittels Brom in Chloroform werden je nach der Anwesenheit von Wasser oder Methanol zwei $-\text{OH}$ -Gruppen bzw. zwei $-\text{OCH}_3$ -Gruppen angelagert. Bei der Anlagerung von Hydroxylgruppen ist der Übergang in das Mesobilipurpurin dann leicht verständlich.

Die Verhältnisse werden jedoch noch weiter kompliziert durch Isomerisierungen, wie sie beim Mesobilivolin beobachtet wurden, sowie durch Abspaltung von Pyrrolkernen.

Ausgehend von dem Cu-Komplexsalz des Glaukobilin-XIII, α -dimethylesters kann auch mit Kupfer(II)-acetat (W. Siedel u. E. Grams) eine Oxydation im Sinne der Gmelinschen Reaktion erzielt werden. Der spektroskopische Vergleich der Umsetzungsprodukte von Glaukobilin, Mono-vinyl-glaukobilin und Biliverdin mit Kupfer(II)-acetat spricht für das Vorhandensein zweier Vinylgruppen im Biliverdin^{34b}).

In Analogie zu dem eben geschilderten Oxydationsmechanismus ist anzunehmen, daß bei fortschreitender Oxydation eine zweite $-\text{CO}-$ -Brücke im Bilirubinoidmolekül auftritt. Dem gelben Choleotelin bzw. Mesocholeotelin käme dann die Struktur XXXI zu, bei der die Lage der Doppelbindungen mit derjenigen des Urobilins übereinstimmt. Tatsächlich gleicht das Mesocholeotelin auch in seinen Eigenschaften dem Urobilin. So zeigt auch sein Zinkkomplexsalz die typische Grünfluorescenz. — In völliger Übereinstimmung mit dieser Annahme stehen auch die Befunde beim Mesobilivolin-XIII, α . Wird dieses der Oxydation mit FeCl_3 oder $\text{HNO}_2-\text{HNO}_3$ unterworfen, so entsteht ebenfalls ein urobilinartiges Produkt, das „Oxo“-urobilin (Formel XXXII)⁵⁰). Entsprechend seiner Konstitution kann es — im Gegensatz zum Urobilin — nicht mittels Ferrichlorid zum Glaukobilin dehydriert werden.



Die analytischen und synthetischen Untersuchungen haben also ergeben, daß die Anordnung der Brücken-Doppelbindungen und die Hydrierungsstufe der Brückenglieder ausschlaggebend sind für den Charakter des Bilirubinoids. Wie die folgende Tabelle zeigt, ist damit eine Einteilung der Bilirubinoide in mehrere Gruppen ermöglicht worden, und zwar werden je nach dem Hydrierungsgrad des Brückenskeletts Bilane, Biliene, Bili-diene und Bili-triene unterschieden. Die „Oxo“-Verbindungen ähneln in ihren Eigenschaften weitgehend den Produkten mit $-\text{CH}_2-$ -Brücken. (Siehe Tabelle auf S. 402.)

Zweikernige Gallenfarbstoffe.

Mesobilifuscin, Bilifuscin, Myobilin.

Bei der Reduktion des Rohbilirubins mit Natriumamalgam wurde von H. Fischer¹⁴) neben dem Mesobilirubinogen eine braune amorphe Substanz isoliert. Dieses Pigment, das damals als „Körper II“ bezeichnet wurde, gewann ein besonderes Interesse, als es G. Meldelesi gelang, aus den Faeces von Myopathikern einen sehr ähnlichen Farbstoff zu gewinnen. Obwohl bis jetzt eine Kristallisation auch des chromatographisch gereinigten „Körpers II“ nicht erzielt wurde, konnte doch seine Konstitution weitestgehend geklärt werden (W. Siedel u. H. Möller¹⁵). Durch den oxydativen Abbau zu Methyl-äthyl-

⁵⁴) Unveröffentlicht.

⁵⁵) Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **200**, 229 [1931].

⁵⁶) Ebenda **259**, 83 [1939].

⁵⁷) H. Fischer u. A. Kürzinger, ebenda **196**, 216 [1931].

⁵⁸) Heynsius u. Campbell, Pflügers Arch. ges. Physiol. Menschen Tiere **4**, 520 [1871].

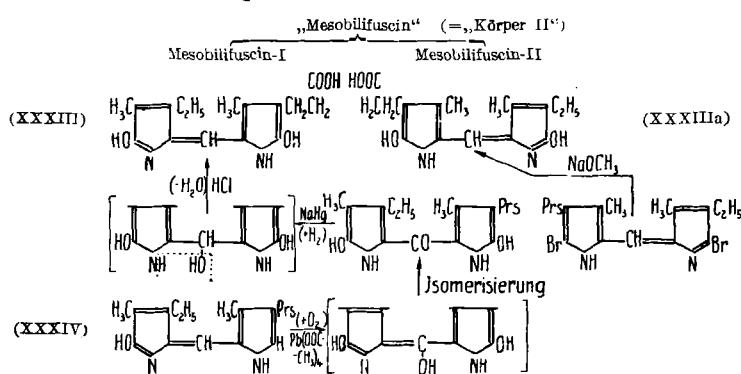
⁵⁹) R. Maly, Liebigs Ann. Chem. **161**, 368 [1872].

⁶⁰) Diese Ztschr. **52**, 37 [1939].

⁶¹) Unveröffentlicht.

	Typ
Bilane:	Mesobilirubinogen = Urobilinogen Stercobilinogen
Bili-ene:	Urobilin Stercobilin
	Dihydromesobilirubin
Bili-diene:	Mesobilivolin
	Mesobilirhodin
	Bilirubin = Hämatoxilin Mesobilirubin
Bili-triene:	Biliverdin = Uteroverdin Glaukobilin
Oxy-bili-diene:	Bilipurpurin Mesobilipurpurin
Dioxa-bili-ene:	Choleotelin Mesocholeotelin

maleinimid und Hämatinsäure wurde seine Zugehörigkeit zu den natürlichen Pyrrolfarbstoffen bewiesen. Es gelang weiter, die Substanz durch Oxydation von Mesobilirubinogen, Urobilin, Mesobilirubin und Glaukobilin mit Bleitetraacetat zu gewinnen. Da sie schließlich auch durch Bleitetraacetatoxydation der Neo- bzw. Iso-neoxanthobilirubinsäure entstand, konnte sie nur zwei Kerne im Molekül enthalten. Auf Grund der Analyse und der Molekulargewichtsbestimmung kommt ihrem Methylester die Bruttoformel $C_{17}H_{22}O_4N_2$ zu, d. h. die Zusammensetzung eines Methylesters der Oxy-neo- bzw. Oxy-iso-neoxanthobilirubinsäure von der Konstitution XXXIII u. XXXIIa. Bestätigt wurde diese Konstitutionsauffassung durch die Überführung der entsprechenden α, α' -Dibrom-pyrromethene und der Br-Substitutionsprodukte der Neo- und Iso-neoxanthobilirubinsäure mittels Natriumamylat in das braune Pigment. Ebenso steht der Nachweis von drei „aktiven“ H-Atomen in Übereinstimmung mit der Struktur.



Betreffs der Herkunft des „Körpers II“ wurde festgestellt, daß die Muttersubstanz dem Rohbilirubin beigemischt ist, u. zw. ist es das von G. Städeler¹³⁾ als „Bilifuscin“ bezeichnete Begleitpigment des Bilirubins. Da dieses ohne Zweifel noch eine Vinylgruppe enthält, wird der „Körper II“, als sein Reduktions-

produkt, „Mesobilifuscin“ genannt. Nachdem das Bilifuscin durch Aufspaltung des unsymmetrischen Bilirubins entsteht, stellt das Mesobilifuscin ein Gemisch zweier Isomerer (Mesobilifuscin-I u. Mesobilifuscin-II) dar, die sich in ihren β -Substituenten wie die Neo- zur Iso-neo-xanthobilirubinsäure verhalten.

Bei der Darstellung der Mesobilifuscine aus Neo- bzw. Iso-neoxanthobilirubinsäure mittels Bleitetraacetat wurde ein farbloses Zwischenprodukt gefaßt, das noch um ein Sauerstoffatom reicher ist als das Endprodukt und das besonders leicht nach Reduktion mit Natriumamalgam und folgender Einwirkung von HCl in Mesobilifuscin übergeht. Auf Grund dieser Befunde wird bei der Bleitetraacetatoxydation der in Formelschema XXXIV skizzierte Reaktionsmechanismus angenommen, u. zw. die intermediäre Bildung eines Enols, das sich zu dem Oxo-Produkt („Oxo“-mesobilifuscin-I bzw. -II) stabilisiert. Durch Reduktion entsteht daraus ein Carbinol, das mit Säuren sofort Wasser⁶³⁾ abspaltet unter Übergang in Pyrromethen. Das Beharren des Mesobilifuscins im amorphen Zustand dürfte weder auf einer echten Polymerisation noch auf einer Assoziation beruhen. Viel eher könnte eine Lactim-Lactam-Tautomerie in Verbindung mit einer Chelatringbildung in Betracht gezogen werden. — Der Übergang in amorphe Produkte scheint eine allgemeine Eigenschaft bestimmter Pyrromethene zu sein. So verwandeln sich die den Mesobilifuscinen zugrunde liegenden Pyrromethene, die H-Atome an Stelle der OH-Gruppen besitzen, bei dem Versuch der Isolierung aus ihren Hydrobromiden unter auffälliger Farbvertiefung in amorphe Produkte (W. Siedel, unveröffentlicht)^{34b)}.

Anschließend an diese Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß in dem oben genannten aus den Faeces von Myopathikern isolierten und wahrscheinlich aus dem Muskelfarbstoff (Myoglobin) abstammenden Pigment, dem „Myobilin“, ein Chromoproteid vorliegt, dessen prosthetische Gruppe mit dem Mesobilifuscin identisch ist (G. Meldolesi, W. Siedel u. H. Möller¹²⁾). Die Abtrennung des Mesobilifuscins wurde durch Veresterung mit HCl—CH₃OH erzielt.

Das Myobilin zeichnet sich durch eine spontane Grünlumineszenz in Alkohol- oder Chloroformlösung aus. Es ist bis jetzt nur in den Faeces gefunden worden und steht dort mengenmäßig in direktem Verhältnis zur Progressivität des Dystrophiefalles. In geringen Mengen findet es sich auch in normalem Stuhl. Vermehrt wird es beobachtet in den Faeces von Wöchnerinnen in den ersten Tagen nach der Geburt, in denen sich der myoglobinreiche Uterus zum Normalzustand zurückbildet. Auch liegen Befunde über ein Vorkommen des Pigments im Blutserum vor.

Propentdyopent, Pentdyopent.

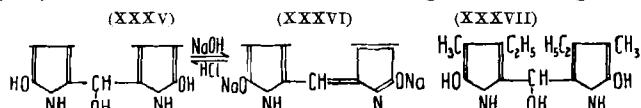
In engem Zusammenhang mit dem Bilifuscin und Mesobilifuscin steht eine Substanz, die schon 1870—1871 von B. J. Stokvis⁶⁴⁾ in pathologischen Harnen beobachtet worden ist und die bei Zusatz von reduzierenden Agentien eine Rotfärbung mit charakteristischer Absorptionsbande bewirkt. Die Reaktion ist etwa 60 Jahre später von K. Bingold⁶⁵⁾ unabhängig von den früheren Befunden neu aufgefunden worden. Er stellte fest, daß bei Reduktion bilirubinreicher Harne mit Na₂S₂O₄ in Kalilauge eine Rotfärbung auftritt. Da das Maximum der Absorptionsbande bei 525 m μ liegt, bezeichnete er den Vorgang als „Pentdyopent-Reaktion“. Daß dieser Reaktion ein Abbauprodukt des Blutfarbstoffs zugrunde liegen mußte, schloß er aus dem positiven Ausfall der Reaktion bei katalasefreien, mit Hydroperoxyd behandelten Blutlösungen. Den Beweis für die Richtigkeit der Annahme erbrachte K. Bingold durch die Oxydation von Häm in ammoniakalischer Lösung mit H₂O₂. Auch hierbei zeigte das Umsetzungsprodukt die charakteristische Reaktion. In relativ großen Mengen wird die Substanz im Harn von Ikterischen ausgeschieden.

Die erste strukturchemische Bearbeitung des Pentdyopentproblems durch H. Fischer u. A. Müller⁶⁶⁾ führte dazu, die Reaktion als eine Gruppenreaktion zu betrachten. Es wurde festgestellt, daß bei Behandlung mit H₂O₂ die Reaktion bei Bilirubin, Urobilin, Mesobilirubin, Biliverdin und Glaukobilin sowie bei verschiedenen Pyrromethenen und Oxy-pyrromethenen positiv ist. Auch Amino-oxy- und Diamino-pyrro-

⁶³⁾ Vgl. H. Fischer u. G. Fries, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **281**, 231 [1935].
⁶⁴⁾ Ber. dtsch. chem. Ges. **5**, 583 [1872].

methene⁶⁵⁾ reagierten nach Oxydation mit salpetriger Säure gleichartig. Es wurde deshalb geschlossen, daß dem Endprodukt der Umsetzung eine Dioxy-pyrromethen-Struktur zugrunde liegen mußte, wie sie später für das Mesobilifuscin (S. 401) bewiesen worden ist.

Auf Grund neuerer Untersuchungen nehmen H. Fischer u. H. v. Dobeneck¹⁰⁾ für die farblose Vorstufe der Pentdyopent-Reaktion, für das „Propentdyopent“, die allgemeine Formel XXXV an, also die Konstitution eines Dioxy-di-pyrrylcarbinols. Sie erhielten derartige Verbindungen, wie



das Dipyrrylcarbinol XXXVII, durch Einwirkung von Kaliumacetat auf das entsprechende α,α' -Dibrom-pyrromethen sowie auch durch Oxydation des entsprechenden α,α' -Dicarboxy-pyrromethans mittels Hydroperoxyd in Natronlauge. Ein isomeres Dipyrrylcarbinol wurde aus Ätiohämin I mittels H_2O_2 —NaOCH₃ gewonnen, desgleichen auch aus Mesohämin IX. Bei Einwirkung von konz. Natronlauge geht das Propentdyopent unter Wasserabspaltung in das Di-natriumsalz XXXVI über, das intensiv rot gefärbt ist. Es gelang auch, ein derartiges Natriumsalz kristallisiert zu isolieren. Bei Zusatz von Säure wird das rote Natriumsalz — unter Anlagerung von Wasser — wieder in das farblose Propentdyopent zurückverwandelt. Bei Einwirkung von Zn- oder Cu-Acetat geht das Propentdyopent unter Wasserabspaltung in das Zn- bzw. Cu-Komplexsalz des entsprechenden Dioxy-pyrromethens über.

Was die medizinische Seite des Pentdyopent-Problems betrifft, so wird vermutet, daß das Propentdyopent durch Oxydation von Bilirubin sekundär in der Galle gebildet wird. Es kann auch aus Gallensteinen isoliert werden. Auf dem Weg durch den Darm dürfte es dann in das Mesobilifuscin übergehen. Von dem im Harn pathologisch auftretenden Propentdyopent wird angenommen, daß es in der Niere aus Bilirubin entsteht. — Es ist bemerkenswert, daß Stercobilin im Gegensatz zum Urobilin die Pentdyopent-Reaktion nicht gibt, und somit eine Unterscheidung zwischen beiden Verbindungen leicht möglich ist.

Aufspaltung des Porphyrinringes zu Bilirubinoiden und Mechanismus der Bilirubinbildung.

Wie aus dem Geschilderten hervorgeht, besteht chemisch die Bildung der Gallenfarbstoffe in der Aufspaltung des Porphyringerüstes des Blutfarbstoffes zu einem kettenförmigen Molekül.

¹⁰⁾ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **257**, 190 [1939], **262**, 37 [1939].

a) Bereits 1925 beobachteten H. Fischer u. F. Lindner⁶⁶⁾ bei der Einwirkung von Hefe sowie von Oxyverbindungen (Pyrogallol, Adrenalin u. a.) oder auch Leberbrei auf Hämin in Pyridinlösung Übergang des roten Blutfarbstoffs in blaugrüne Farbstoffe. Die schon damals ausgesprochene Vermutung, daß es sich bei den Umwandlungsprodukten um Gallenfarbstoffe handeln könne, ist dann bestätigt worden. Von H. Fischer u. H. Libowitzky⁶⁷⁾ wurde so durch Einwirkung von Hefe auf Kopro-I-ester-hämin das Koproglaukobilin-I, α erhalten. — Schon früher konnte R. Lemberg⁶⁸⁾ zeigen, daß das von O. Warburg u. E. Negelein⁶⁹⁾ durch Einwirkung von Sauerstoff und Hydroxylamin auf Hämin in Pyridin gebildete „grüne Hämin“ ein Fe-haltiges Aufspaltungsprodukt (= Verdohämochromogen) ist, das mit HCl—CH₃OH in Biliverdinester übergeführt werden kann.

b) Neben dieser mit chemischen Mitteln erzielten Porphin-aufspaltung ist von H. Fischer u. K. Herrle⁷⁰⁾ auch eine photochemische Aufspaltung gefunden worden. Es konnte so bei Ätioporphyrin I in Pyridinlösung bei Anwesenheit von NaOC₂H₅ schon bei kurzer Belichtung eine Spaltung erreicht werden. Aus den Reaktionsprodukten wurde neben Ätioglaukobilin-I noch eine zweite bilirubinoide Verbindung gefaßt, der als ms-Brücke eine Ketogruppe zugeschrieben wird.

c) Hinsichtlich der physiologischen Bilirubinbildung sind die Untersuchungen von G. Barkan und O. Schales⁷¹⁾ über das „leicht abspaltbare“ Bluteisen zu nennen. Man versteht darunter organische Fe-haltige Stoffe, die hauptsächlich in den Erythrocyten, aber auch im Plasma und im Serum vorkommen und die unter der Einwirkung von 0,5%iger Salzsäure ionisiertes Eisen abspalten. Nach Barkan liegen in diesen Verbindungen, die in zwei Komponenten auftreten, Fe-haltige Vorstufen des Bilirubins vor. Sie dürften zu den Verdohämochromogenen in naher Beziehung stehen.

Was die Aufspaltung des Porphinringes in vivo betrifft, so ist es wahrscheinlich, daß sie über ein Oxyprodukt verläuft, mit der Oxygruppe an der α -Methinbrücke des Ringgerüstes. Ausgehend vom Pyridinhämochromogen des Koprohäm-I-tetramethylesters haben H. Libowitzky u. H. Fischer⁷²⁾ durch Oxydation mit H_2O_2 einen Iso-oxy-koprohäm-I-tetramethylester erhalten, der in ein „grünes Hämin“ übergeführt werden konnte. Von R. Lemberg u. Mitarb.⁷³⁾ sind ähnliche Befunde bei der gekoppelten Oxydation von Hämochromogenen mit Ascorbinsäure erhoben worden. *Eingeg. 29. Februar 1940. [A. 26.]*

⁶⁶⁾ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **153**, 54 [1926]. ⁶⁷⁾ Ebenda **251**, 198 [1938].
⁶⁸⁾ Biochemical J. **29**, 1322 [1937]. ⁶⁹⁾ Ber. dtsch. chem. Ges. **63**, 1816 [1930].
⁷⁰⁾ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **251**, 85 [1938].
⁷¹⁾ Ebenda **249**, 96 [1937]; **253**, 83 [1938]. ⁷²⁾ Ebenda **255**, 209 [1938].
⁷³⁾ Nature London **139**, 1016 [1937]; Biochemical J. **33**, 754 [1939]; vgl. auch S. Edlbacher u. A. v. Segesser, Naturwiss. **25**, 557, 667 [1937].

Die Bestimmung des Wassergehaltes (Auszug)*

Von Dr. E. ECKERT, Physikal.-chem. Institut der Universität Heidelberg
und Dr. P. WULFF, Forschungs- u. Beratungsstelle für physikalisch-chemische
Betriebskontrolle und Laboratoriumstechnik der Dechema, Frankfurt a. M.

Die Bestimmung des Wassergehaltes in zahlreichen Stoffen oder zusammengesetzten Systemen ist eine immer wiederkehrende Aufgabe im chemischen Laboratorium und Betrieb und hat auch für die verschiedensten Industrien, Gewerbe und Arbeitsgebiete die allergrößte Bedeutung. Dem zusammenfassenden Überblick über die mannigfachen Bestimmungsmethoden seien die folgenden Angaben entnommen; dabei sollen entsprechend der neuzeitlichen Entwicklung die physikalischen Methoden gegenüber den rein chemischen stärker in den Vordergrund treten. Außer Betracht bleiben die Verfahren zur Bestimmung der Feuchtigkeit in Gasen (Hygrometrie und Psychometrie), die ein Gebiet für sich darstellen.

Das Wasser befindet sich in festen und flüssigen Stoffen als Netz-, Sorptions- oder Konstitutionswasser; zwischen diesen Bindungsarten gibt es fließende Übergänge, so

dass die Definition des Wassergehaltes erhebliche Schwierigkeiten bereitet. Trotz der außerordentlichen Bedeutung solcher Bestimmungen in Getreide, Holz und anderen Wirtschaftsgütern für ihre Bewertung, Lagerung, Konservierung usw., wobei u. U. schon Bruchteile von Prozenten volkswirtschaftlich von erheblichem Interesse sein können, fehlt ein wissenschaftlich einwandfreier Versuch der Unterscheidung. Dies muß einer künftigen Arbeit vorbehalten bleiben. Die Einteilung dieser Abhandlung erfolgt daher nicht nach den Bindungsarten des Wassers, sondern aus praktischen Gründen nach den bisher angewandten Methoden.

Dies sind die gravimetrische Wasserbestimmung, die Destillationsmethode, die Wasserbestimmung aus dem Volum-Druck-Zustand des verdampften Wassers, durch Ermittlung von Gleichgewichtstemperaturen, die optischen und elektrischen Verfahren und schließlich die Wasserbestimmungen auf Grund chemischer Reaktionen.

Die gravimetrische Wasserbestimmung kann entweder durch Differenzwägung oder durch Absorptionswägung erfolgen. So einfach nun die Ermittlung des Gewichtsverlustes scheint, so schwierig ist es, bei vielen Stoffen wiederholbare Werte

* Die ausführliche Arbeit erscheint als „Beitrag zu der Zeitschrift des Vereins Deutscher Chemiker Nr. 39“ und hat einen Umfang von 12 Seiten, einschl. 10 Abbildungen. Bei Vorausbestellung bis zum 15. Okt. 1940 Sonderpreis von RM. 1,80 statt RM. 2,40. Zu beziehen durch den Verlag Chemie, Berlin W 35, Woyschstraße 37. — Bestellschein im Anzeigenteil.