

Phenylaposafranin ($C_{24}H_{17}N_3$). Dieses dem Phenylrosindulin entsprechende Safraninderivat entsteht mit der grössten Leichtigkeit, wenn man die Lösung des Chlorids oder Jodids in Wasser oder Alkohol mit Anilin versetzt. Zur Darstellung wurde so verfahren, dass man das Chlorphenylphenazoniumchlorid in verdünntem Alkohol löste, etwas mehr, als 1 Mol. Anilin zugab und nun die sofort prächtig violett werdende Lösung noch etwas erwärmte. Das Phenylaposafranin krystallisirte auf Zusatz von Ammoniak in schönen tiefdunkeln Prismen aus, die schwachen Bronceschimmer besitzen. Nach nochmaligem Umkrystallisiren aus verdünntem Alkohol schmolz die Substanz bei 201° . Die Lösungen der Base sowohl wie ihrer Salze sind schön blauviolett, an Mauveinlösung erinnernd. In concentrirter Schwefelsäure oder Salzsäure mit grasgrüner Farbe löslich. Die Base ist in Wasser nur spurenweise löslich. Das salzsaure, schwefelsaure und essigsäure Salz sind in Wasser leicht löslich; Salpeterlösung fällt daraus das Nitrat in kupferbronceglänzenden, langen, feinen Nadeln, die häufig gekrümmt sind.

Analyse der bei 100° getrockneten Base, ber. für $C_{24}H_{17}N_3$:

Procente: N 12.1.

Gef. » » 12.01.

Die Einwirkung der Phosphorchloride auf Indone und Oxindone wird fortgesetzt.

Erlangen und Höchst a. M.

330. William Küster: Ueber ein Spaltungsproduct des Gallenfarbstoffs, die Biliverdinsäure.

(Eingegangen am 17. Juli; mitgetheilt in der Sitzung von Hrn. A. Reissert.)

Es wird als nahezu sichergestellt angenommen, dass die Gallenfarbstoffe aus dem Hämoglobin und speciell aus dem eisenhaltigen Bestandtheile desselben, dem Hämatin, entstehen, da sich u. a. die ersteren nur bei Thieren vorfinden, welche rothes Blut besitzen ¹⁾. Die Umbildung soll entweder in der Leber oder, bei Injectionen resp. beim Austritt von Blut aus den Hautgefässen, an den betroffenen Stellen selbst vor sich gehen.

Ein strenger Beweis für diese Auffassung fehlt indessen, insofern der chemische Zusammenhang der beiden Farbstoffe noch nicht aufgeklärt ist. Nun konnte es aber gerade im gegebenen Falle möglich sein, die chemischen Beziehungen experimentell klar zu legen, denn

¹⁾ c. f. die Literatur z. B. in R. Neumeister's Lehrbuch der physiol. Chemie, 1. Aufl., 1. Bd., S. 171.

hier scheint einmal die lebende Zelle keine so eingreifende Wirkung auf das Molekül auszuüben, wie z. B. bei der Ueberführung von Traubenzucker in Alkohol und Kohlensäure oder wie bei der Umwandlung der Kohlenhydrate in Fette. Bekanntlich existiren verschiedene Thatsachen, aus denen geschlossen werden kann, dass Blut- und Gallen-Farbstoff chemisch verwandte Körper sind. Namentlich hat Nencki gezeigt, dass das Hämatoporphyrin, welches durch Einwirkung von Bromwasserstoff und Eisessig aus dem Hämatin hervorgeht, isomer mit dem Bilirubin ist: beiden Körpern schreibt man die empirische Zusammensetzung $C_{16}H_{18}N_2O_3$ zu. Ferner giebt es bei der Einwirkung von Salpetersäure gewisse Farbenveränderungen, welche an die Gmelin'sche Gallenfarbstoffreaction erinnern, und bei der Reduction liefert es einen Körper, welcher einem Reductionsproduct des Bilirubins ähnelt¹⁾. Diese Farbstoffe sind also zweifellos chemisch verwandte Körper und müssen sich aus ähnlichen Atomcomplexen aufbauen.

Nachdem ich nun als einen wesentlichen Bestandtheil des Hämatins aus Rinderblut und des daraus zu gewinnenden Hämatoporphyrins die sogenannte »zweibasische Hämatinsäure« $C_8H_{10}O_6$ nachgewiesen hatte²⁾, welche, wie ich inzwischen gefunden habe, ausserordentlich leicht, namentlich in alkalischer Lösung in die dreibasische Hämatinsäure $C_8H_{10}O_6$, resp. deren Lacton $C_9H_8O_5$ übergeht, war die Möglichkeit, den chemischen Zusammenhang zwischen Blut- und Gallen-Farbstoff des weiteren zu begründen, erbeblich näher gerückt. Besitzen wirklich Hämatin und Hämatoporphyrin einerseits und der Gallenfarbstoff andererseits eine ähnliche Constitution, so sollten unter denselben Bedingungen bei der Oxydation auch dieselben Spaltungsproducte oder wenigstens einander verwandte Körper aus beiden entstehen.

Um diesen Nachweis zu erbringen, bedurfte ich grösserer Mengen von Gallenfarbstoff, der nach den Angaben Maly's³⁾ aus farbstoffhaltigen Gallensteinen von Rindern oder Schafen am besten dargestellt werden kann, ein Material, das aber nicht leicht in beträchtlicher Quantität zu beschaffen ist. Ich verdanke indessen dem liebenswürdigen Entgegenkommen der Herren Directoren und Thierärzte zahlreicher Schlachthäuser Deutschlands⁴⁾, an die ich mich gewendet hatte, und

¹⁾ Arch. f. exp. Pathol. Pharmakol. 24, 441 sagt Nencki: so viel ist sicher, ein mit dem Gallenfarbstoffurobin identisches Product entsteht hierbei nicht.

²⁾ Diese Berichte 29, 821; 30, 105.

³⁾ Ann. d. Chem. 175, 76.

⁴⁾ Die meisten Zusendungen von Gallensteinen habe ich aus den westlichen Theilen Deutschlands, namentlich der Rheingegend erhalten; hier in Tübingen kommen dieselben allerdings sehr selten vor, wir haben in zwei Jahren die Gallen fast sämtlicher Schlachthiere untersucht und nur in zwei Fällen kleine Farbstoffsteine gefunden.

ganz besonders der Güte der Herren Professoren Dr. Kitt und Lüpke in München und Stuttgart, welche mir aus ihren Sammlungen werthvolle Präparate überliessen, so viel Material, dass ich daraus 36 g Gallenfarbstoff nach der Methode Maly's gewinnen konnte. Da Bilirubin in Eisessig unlöslich ist, die mit Oxydation verbundene Spaltung aber in einer Lösung dieses Mittels vorgenommen werden sollte, wurde der Farbstoff zur Ueberführung in Biliverdin in Alkali gelöst und die alkalische Lösung zur Selbstoxydation einige Tage an der Luft stehen gelassen, worauf alsdann durch verdünnte Schwefelsäure gefällt und rein ausgewaschen wurde.

Auf diese Weise wurde allerdings kein einheitlicher Körper gewonnen, das Präparat zeigte vielmehr einen Procentgehalt an Kohlenstoff, der zwischen demjenigen des Bilirubins und dem des Biliverdins lag¹⁾. Ich habe aber auf die Reindarstellung verzichtet, um nicht Verluste an kostbarem Material zu erleiden, da es mir zunächst nur auf die durch Oxydation zu gewinnenden Spaltungsproducte ankam. Um solche zu erhalten, wurde das Material in Portionen von 2 g in Eisessig gelöst und nun ganz allmählich eine wässrige Lösung von 3.6 g dichromsaurem Natrium²⁾ eingetragen, eine Menge, welche auf $C_{15}H_{18}N_2O_4$ berechnet, 6 Atomen Sauerstoff entspricht. Die Oxydation trat bei Zimmertemperatur sofort ein, wie das Umschlagen der Farbe von einem prachtvollen Gelbgrün in Blaugrün zeigte, welche Färbung schliesslich durch Blauviolett in Violett überging. Doch wurden bei 20° nur drei Atome Sauerstoff glatt aufgenommen, der Rest desselben trat erst bei längerem Erhitzen auf stark siedendem Wasserbade ein. Die Farbe der Lösung war alsdann wieder grün geworden. Hier zeigte sich also ein Unterschied gegen das Hämatoporphyrin, welches sich bedeutend leichter oxydiren liess.

Auch bei der weiteren Verarbeitung wurde das gleiche Verfahren wie bei der Darstellung der Hämatinsäuren genau eingehalten, d. h. der Eisessig wurde, soweit es ging, abdestillirt, der Rest durch Erhitzen auf dem Wasserbade unter Erneuerung des Wassers verjagt, schliesslich die berechnete Menge 20-procentiger Schwefelsäure zugefügt, um auch die gebundene Essigsäure zu entfernen, und erhitzt, bis der Geruch nach Essig verschwunden war. Hierbei hatte sich ein geringer Niederschlag ausgeschieden, von dem abfiltrirt wurde. Darauf wurde das Filtrat ausgeäthert und der Aether abdestillirt. Es hinterblieb ein Syrup, der nach 3 Wochen (während welcher Zeit die Arbeit unterbrochen werden musste) mit vielen Krystallen durchsetzt erschien.

1) Analyse: Ber. für $C_{15}H_{18}N_2O_3$ Procante C 67.13, H 6.29.

 Ber. für $C_{15}H_{18}N_2O_4$ » » 63.58, » 5.96.

 Gef. » » 65.02, » 7.34.

2) Dasselbe enthielt 94 pCt. $Na_2Cr_2O_7$.

Die Ausbeute an diesen ätherlöslichen Producten betrug etwa 20 pCt. der verwendeten Farbstoffmenge, im Ganzen wurden davon 7 g erhalten.

Zur weiteren Reinigung wurde diese halbkrySTALLisirte Masse mit erwärmtem Aether behandelt, wobei ein kleiner Theil unlöslich zurückbleibt, der ätherischen Lösung mit Soda der saure Antheil entzogen, die Lösung der Natriumsalze mit Schwefelsäure wieder angesäuert und ausgeäthert. Nach dem Abdestilliren des Lösungsmittels hinterblieb ein Syrup, der schon nach einem Tage zu einer gelben Krystallmasse erstarrt war. Dies wog noch 6 g, hatte aber kein einheitliches Aussehen. In der That konnte durch warmes Wasser eine weitere Trennung erreicht werden, indem dies eine klebrige Masse zurückliess, welche in Benzol-Alkohol löslich ist, bis jetzt aber nicht krystallisirt erhalten und nicht näher untersucht wurde.

Die wässrige Lösung im Vacuum eingedunstet giebt ca. 4 g Krystalle in Gestalt von zu Büscheln vereinigten Nadeln, die aber noch gelb gefärbt sind. Da Kochen mit Thierkohle keine Entfärbung brachte, wurde in Chloroform aufgenommen, die aus diesem Lösungsmittel erhaltenen, immer noch gefärbten Krystalle zwischen Fließpapier abgepresst und zum Schluss aus Essigester umkrystallisirt. Dieser löst die Säure heiss mit grösster Leichtigkeit, beim Einstellen in Eiswasser erstarrt dann die ganze Masse. Man saugt ab, wäscht mit kaltem Essigester nach und erhält so das Oxydationsproduct des Gallenfarbstoffs in Form schwach gelblich gefärbter Nadeln, welche den Schmelzpunkt $100-101^{\circ}$ zeigen. Die Analyse führte zur Formel: $C_8H_9NO_4$

Analyse: Ber. Procente: C 52.45, H 4.92, N 7.65.
Gef. » » 52.12, » 5.52, » 7.81.

Nach der Titration mit $\frac{1}{5}$ n-Ammoniak zu urtheilen, verhält sich die Substanz, deren wässrige Lösung übrigens stark sauer reagirt, in der Kälte wie eine einbasische Säure. Es erforderten 0.083 g zur Neutralisation 1.72 ccm, berechnet 1.8 ccm.

Das Silbersalz der Säure, dargestellt durch Fällen der mit Ammoniak neutralisirten Lösung mit einer weingeistigen Silbernitratlösung, enthält aber zwei Atome Metall.

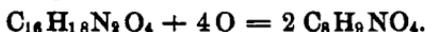
Analyse: Ber. für $C_8H_7Ag_2O_4N$.
Procente: Ag 54.33.
Gef. » » 53.96.

Es ist sehr leicht in heissem Wasser, sowie in verdünnten Säuren löslich und bräunt sich an der Luft nur langsam.

Zu weiteren Versuchen reichte das krystallinische Material nicht mehr aus, auch konnte ich aus den Abfällen ein reines Product bisher noch nicht wiedergewinnen. Die erhaltenen Resultate gestatten aber bereits folgende Schlüsse. Aus den isomeren Körpern Hämatoporphyrin und Bilirubin entstehen durch Oxydation unter denselben Bedingungen

nicht die gleichen Producte¹⁾, aber doch solche, welche ganz verschieden als verwandt angesprochen werden können. Dies beweist vor allem das gleiche Verhalten gegen Kaliumpermanganat; auch die neue Säure, welche ich einstweilen Biliverdinsäure nennen möchte, gehört zu den ungesättigten Verbindungen, denn eine kalte Lösung in Soda entfärbt Kaliumpermanganat sofort ganz energisch.

Ein wesentlicher Unterschied gegen die Hämaminsäuren besteht freilich darin, dass die Biliverdinsäure sich wider Erwarten als stickstoffhaltig erwies. Dieser Umstand dürfte auch von physiologischem Interesse sein, da er vielleicht einen Anhaltspunkt für die Art der Umwandlung giebt, welche das Hämatin beim Uebergang in den Gallenfarbstoff erleidet. In welcher Form der Stickstoff in der Biliverdinsäure enthalten ist, habe ich noch nicht ermitteln können. Mit Natronlauge gekocht, wird kein Ammoniak entwickelt, ein Säureamid dürfte also wohl kaum vorliegen. Ebenso wenig kann an eine basische Natur des Körpers gedacht werden, da eine Salzbildung bisher nicht beobachtet werden konnte. Der Stickstoff ist also entweder Bestandtheil eines Ringsystems oder er ist — und diese Annahme hat für mich die grösste Wahrscheinlichkeit — in Form einer schwer verseifbaren Cyangruppe im Molekül der Biliverdinsäure enthalten²⁾. In diesem Falle wäre auch ein directer Zusammenhang mit der Hämaminsäure möglich, wie sich das schon aus den empirischen Formeln $C_8H_5O_5$ und $C_8H_9NO_4$ ergibt. Die letztere weist endlich eine sehr einfache Beziehung zum Biliverdin auf und, wenn die erhaltene Säure das einzige Product der Oxydation wäre, würde sich ihr Entstehen durch die Gleichung wiedergeben lassen:



Dies müssen weitere Versuche lehren, die ich mir vorbehalte. Allen Herren aber, welche mich durch Uebersendung von Gallensteinen so wesentlich unterstützt haben, gestatte ich mir auch an dieser Stelle herzlichsten Dank auszusprechen.

Tübingen, am 16. Juli 1897. Physiol.-chem. Institut.

¹⁾ Oxalsäure entsteht bei Verwendung von Chromsäure weder bei der Oxydation von Hämatin noch bei der von Biliverdin.

²⁾ Auch das Hämatin dürfte, entgegen der bisherigen Annahme, weder einen Pyrrol- noch einen Pyridin-Ring enthalten, wenigstens konnte unter seinen Spaltungsproducten bisher kein solcher Körper aufgefunden werden; dagegen enthalten die von den Hämaminsäuren befreiten Flüssigkeiten reichliche Mengen von Ammoniumsalzen.