

0.1578 g Sbst. verloren im Vak. bei 120° 0.0057 g H₂O.

C₂₀H₂₇NO₄, HJ. Ber. H₂O 3.80. Gef. H₂O 3.61.

0.1521 g Sbst. (bei 120° im Vak. getr.): 0.2935 g CO₂, 0.0749 g H₂O.

C₂₀H₂₅NO₃, HJ. Ber. C 52.75, H 5.76.

Gef. » 52.63, » 5.51.

Durch Essigsäureanhydrid wurde aus dem Methyläther des ε-Methylmorphimethins, wie auch aus seinem Hydrat das gleiche Produkt erhalten, das, als Jodhydrat analysiert, sich als ein Acetoxy-Derivat des ε-Methylmorphimethin-methyläthers erwies.

0.1577 g Sbst.: 0.3064 g CO₂, 0.0810 g H₂O. — 0.1569 g Sbst.: 0.0747 g AgJ.

C₂₂H₂₇NO₄, HJ. Ber. C 53.10, H 5.67, J 25.54.

Gef. » 52.99, » 5.68, » 25.73.

Auch hier kann der Eintritt eines Acetylrestes nur nach Aufrihtung des Brücken-Sauerstoffs erfolgt sein, da die beiden übrigen methylierten Sauerstoffe für die Acetylierung nicht in Betracht kommen können.

Bei der Schwierigkeit der Materialbeschaffung mußten wir uns mit den oben geschilderten Ergebnissen, die erneut die außergewöhnliche Reaktionsfähigkeit der Morphin-Derivate wiedergeben, begnügen.

204. Hans Fischer und Heinrich Röse:

Über Bilirubinsäure, ein neues Bilirubin-Abbauprodukt.

[Aus der II. Medizinischen Klinik zu München.]

(Eingegangen am 20. Mai 1912.)

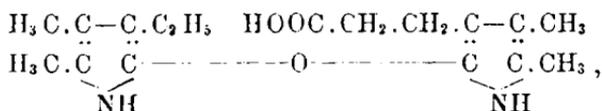
Bei der Reduktion des Bilirubins mit Jodwasserstoffsäure und Eisessig haben wir eine prachttvoll krystallisierende Säure isolieren können, für die wir den Namen Bilirubinsäure vorschlagen. Die neue Säure ist ein recht beständiger Körper, der sich nur langsam an Luft und Licht unter Grünfärbung zersetzt. Die Elementaranalyse ergab Werte, aus denen sich die Formel C₁₇H₂₄N₂O₃ berechnet. Die Molekulargewichtsbestimmung lieferte entsprechende Zahlen, ebenso stimmte die Titration auf eine einbasische Säure des berechneten Molekulargewichts.

Die Pyrrolreaktionen sind negativ; bei dem Abbau der Bilirubinsäure erhält man dagegen Körper, die sich unzweifelhaft als Pyrrol-derivate kundgeben.

Der reduktive Abbau stieß jedoch auf große Schwierigkeiten, indem die Substanz sich als äußerst stabil erwies; so wirkte einstündiges

Erhitzen mit 70-prozentiger Schwefelsäure bei Wasserbad-Temperatur kaum ein, auch bei 5-stündigem Erhitzen mit Jodwasserstoffsäure und Phosphor auf 125° blieb ein großer Teil des Körpers unverändert.

Wir stellten diese Versuche daher vorläufig zurück und unternahmen den oxydativen Abbau. Hierbei erhielten wir Methyl-äthyl-maleinimid und Hämatinsäure, deren Konstitution durch die Küsterschen Arbeiten einwandfrei festgelegt ist. Durch diesen Befund erscheint uns die Konstitution der Bilirubinsäure aufgeklärt im Sinne dieser Formel:



wobei nur die Stellung der α -ständigen Methylgruppen nicht feststeht. Diese Konstitution ergibt sich aus folgenden Betrachtungen. Durch den Befund des Methyl-äthyl-maleinimids und der Hämatinsäure im Verein mit dem zu 300 ermittelten Molekulargewicht ist sichergestellt, daß der Körper durch Verkettung von 2 verschiedenen substituierten Pyrrolen, bei denen die Stellung der β -Substituenten festgelegt ist, entstanden sein muß. Nach ihrem ganzen Verhalten ist die Bilirubinsäure ein tetra-substituiertes Pyrrol (Dimethylamino-benzaldehyd-Reaktion negativ, Fichtenspan-Reaktion negativ, kein Azofarbstoff), folglich müssen auch die vier α -ständigen Wasserstoffatome substituiert sein. Nach der Analyse stehen hierfür noch zur Verfügung zwei Methylgruppen und ein Sauerstoffatom.

Die zwei Methylgruppen reichen für die Wasserstoffatome zweier CH-Gruppen aus. Die letzten beiden CH-Gruppen müssen daher, offenbar im Gegensatz zum Blutfarbstoff, mit einander durch ein Sauerstoffatom verknüpft sein. Es wäre zwar auch denkbar, daß die beiden Pyrrole direkt Kohlenstoff an Kohlenstoff gebunden wären, und der Sauerstoff einer Alkoholgruppe angehörte. Die aber schon oben angeführte große Widerstandsfähigkeit gegen reduzierende Agenzien spricht entschieden dagegen, besonders die gegen Jodwasserstoffsäure, während das Analogon einer Verbindung der angenommenen Formel, der Phenyläther, sich gleichfalls durch große Beständigkeit auszeichnet. Weitere Beweise für unsere Auffassung der Konstitution der Bilirubinsäure hoffen wir bald beizubringen, insbesondere haben wir die Synthese derartiger, durch Sauerstoff verbundenen Pyrrole in Angriff genommen.

Was zuletzt die Stellung der Bilirubinsäure zu den bereits bekannten reduktiven Spaltprodukten des Bilirubins anlangt, dem Hemi-

bilirubin¹⁾ und Körper II, so erhalten wir aus Hemibilirubin 20% des neuen Körpers, aus Körper II 9%. Hieraus, sowie aus der molekularen Zusammensetzung der Bilirubinsäure folgt, daß diese unmöglich das einzige Spaltungsprodukt des Hemibilirubins und Bilirubins sein kann, da sonst die Formel beider Körper mindestens 34 Kohlenstoffatome enthalten müßte, was nicht der Fall ist. Infolgedessen muß auch das Bilirubin und Hemibilirubin mindestens ein Molekulargewicht von ca. 600 besitzen, eine Tatsache, die bis jetzt nur für das Hemibilirubin¹⁾ durch direkte Molekulargewichtsbestimmung bewiesen ist. Bemerkenswert erscheint es auch, daß die Ausbeute an Methyl-äthylmaleinimid bei der Oxydation des Hemibilirubins ungefähr die Hälfte betrug von der der Bilirubinsäure bei Anwendung der gleichen Methode.

Bei der Gewinnung der Bilirubinsäure aus Hemibilirubin und Körper II beobachteten wir als Nebenprodukt gleichfalls eine mit Diazobenzolsulfosäure kuppelnde Pyrrolcarbonsäure, die bis jetzt kein Pikrat gegeben hat. Über die Säure selbst hoffen wir bald berichten zu können.

Experimenteller Teil.

5 g Bilirubin²⁾ werden mit 100 ccm Eisessig und 50 ccm Jodwasserstoffsäure (spez. Gewicht 1.96) übergossen und im siedenden Wasserbad unter häufigem Umschwenken erhitzt. Nach wenigen Minuten ist vollständige Lösung eingetreten. Man erhitzt noch ca. $\frac{3}{4}$ Stunden, gibt dann Jodphosphonium zu (ca. 3—4 g), um das abgeschiedene Jod zu reduzieren, und verdünnt dann nach vorhergegangener Abkühlung mit Wasser. Jetzt wird mit Natronlauge unter Eiskühlung abgestumpft bis zur schwach sauren Reaktion auf Kongo und nun die gelbbraune, filtrierte Flüssigkeit 5—6 Mal mit Äther extrahiert.

Verschiedentlich wurde zunächst mit Soda alkalisch gemacht und mit Wasserdampf in Spuren ein Körper abgetrieben, der die Aldehydreaktion stark gab. Es gelang aber nie, Hämopyrrol zu fassen, weder als Azofarbstoff, noch als Pikrat.

Der Ätherextrakt, der die Ehrlichsche Aldehydprobe intensiv gibt, wird durch Ausschütteln mit ca. 0.8 g Diazobenzolsulfosäure in 100 ccm Wasser von dem die Aldehydreaktion gebenden Pyrrol befreit und nun im Vakuum schnell eingedampft, indem man zum

¹⁾ H. 73, 206; 75, 339.

²⁾ Durch Vermittlung von Hrn. Prof. Abderhalden erhielten wir von Hrn. Prof. Theiler in Südafrika größere Mengen von Rindergallensteinen. Beiden Herren sagen wir auch an dieser Stelle verbindlichsten Dank.

Schluß auf ca. 80° erhitzt, bis die Essigsäure nahezu verschwunden ist. Zurück bleibt ein hellbrauner Sirup, der sofort in Chloroform gelöst wird. Dieser Lösung entzieht man durch 3-maliges Ausschüteln mit Natriumbicarbonat-Lösung den neuen Körper. Die Bicarbonat-Lösung wird mit Schwefelsäure bis zur eben sauren Reaktion auf Kongo versetzt und 3—4 Mal mit wenig Chloroform extrahiert. Das Extrakt wird nun fraktioniert mit Petroläther gefällt, wodurch eine vollkommene Abscheidung der begleitenden Verunreinigungen gelingt. Die Ausbeute an reinem, krystallisiertem Material beträgt ca. 1 g, also 20 % des Ausgangsmaterials; wir hoffen jedoch, die Ausbeute noch steigern zu können. Zum Umkrystallisieren ist Chloroform und Ligroin, noch besser verdünnter Methylalkohol geeignet. Man erhält den Körper so in zu Büscheln vereinigten, makroskopischen Blättchen.

Zu den Analysen und Molekulargewichtsbestimmungen wurde Substanz I aus Chloroform und Petroläther umkrystallisiert und bei 100° und 20 mm Druck über Phosphorperoxyd zur Gewichtskonstanz getrocknet, die nach 24 Stunden erreicht war. Substanz II wurde aus Methylalkohol und Wasser umkrystallisiert; hier trat die Gewichtskonstanz schon nach 5-stündigem Trocknen bei 100° unter den gleichen Bedingungen ein.

I. 0.1551 g Sbst.: 0.3790 g CO₂, 0.1162 g H₂O. — 0.1557 g Sbst.: 13.3 ccm N (20°, 716 mm).

II. 0.1627 g Sbst.: 0.3984 g CO₂, 0.1237 g H₂O. — 0.2115 g Sbst.: 18.3 ccm N (21°, 715 mm).

C₁₇H₂₁N₂O₃ (304.21). Ber. C 67.06, H 7.95, N 9.21.

Gef. » 66.64, 66.78, » 8.38, 8.50, » 9.23, 9.30.

Molekulargewichtsbestimmung.

I. 0.2368 g Sbst. ergaben in 9.2382 g Alkohol (abs.) eine Siedepunkterhöhung von 0.082°.

II. 0.5232 g Sbst. ergaben in 8.3268 g Alkohol (abs.) eine Siedepunkterhöhung von 0.24°.

Mol.-Gew. Ber. 304.21. Gef. I. 359, II. 301.

Titration.

I. 0.2368 g Sbst. brauchten bis zur Rotfärbung gegen Phenolphthalein 7.7 ccm $\frac{1}{10}$ -Natronlauge.

II. 0.5232 g Sbst. brauchten bis zur Rotfärbung gegen Phenolphthalein 16.8 ccm $\frac{1}{10}$ -Natronlauge.

Mol.-Gew. Ber. 304.21. Gef. I. 307, II. 311.

Die Substanz schmilzt bei 187°, ist leicht löslich in Methyl- und Äthylalkohol, Chloroform und Eisessig, schwer in Essigäther, in Petroläther und Benzol so gut wie unlöslich. Die Ehrlichsche Aldehydreaktion ist negativ, alkalische Permanganatlösung wird sofort

entfärbt. Mit Bicarbonat versetzt, entwickelt der Körper sofort Kohlensäure. Neigung zur Komplexsalz-Bildung haben wir bis jetzt nicht beobachtet.

Die Oxydation der Bilirubinsäure nahmen wir zuerst mit Chromsäure in schwefelsaurer Lösung vor und erhielten leicht das Methyl-äthyl-maleinimid in reinem Zustand; dagegen gelang es nicht, die Hämaminsäure in größerer Menge in analysenreinem Zustand zu isolieren, da die Hämaminsäure-Fraktion noch beträchtliche Mengen von unveränderter Bilirubinsäure begleiteten, deren völlige Abtrennung nur mit sehr großen Verlusten gelang. Der Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt mit analysenreiner Hämaminsäure aus Hämato-porphyrin wurde als identisch befunden.

Hierauf nahmen wir die Oxydation der Bilirubinsäure mit Bleisuperoxyd in schwefelsaurer Lösung vor, entsprechend der Willstätterschen¹⁾ Oxydationsvorschrift für das Phylloporphyrin.

1 g Säure wurde in 20 ccm 50-prozentiger Schwefelsäure gelöst, mit 30 ccm Wasser verdünnt und unter Eiskühlung 20 g Bleisuperoxyd eingetragen. Nach Stehen über Nacht im Eisschrank wird die abgesaugte Flüssigkeit ausgeäthert. Der Ätherextrakt wird im Vakuum bei gewöhnlicher Temperatur eingedampft, wobei man bereits in der Vorlage einen feinen Anflug des Methyl-äthyl-maleinimids bemerkt. Der in Wasser klar lösliche Rückstand wird mit Soda alkalisch gemacht und das Imid dieser Lösung durch Äther entzogen. Beim Verdunsten des Äthers krystallisiert das Imid sofort und wird durch Umkrystallisieren aus Wasser und wenig Alkohol gereinigt. Schmp. 68—69°. Ausbeute 11%. Es stimmt in allen Eigenschaften mit dem von Küster beschriebenen Methyl-äthyl-maleinimid überein. Zur Analyse wurde bei gewöhnlicher Temperatur im Vakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet.

0.1640 g Sbst.: 15.7 ccm N (22°, 711 mm).

$C_7H_9O_2N$ (139.08). Ber. N 10.07. Gef. N 10.18.

Die sodaalkalische Mutterlauge wird angesäuert und die Hämaminsäure durch Ausäthern gewonnen. Sie zeigte nach einmaligem Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther den Schmp. 112—113°. Ausbeute 13%. Zur Analyse wurde bei 60° über Phosphorpentoxyd im Vakuum getrocknet.

0.1068 g Sbst.: 0.2055 g CO_2 , 0.0504 g H_2O .

$C_8H_9O_4N$ (195.01). Ber. C 52.44, H 4.95.

Gef. » 52.48, » 5.28.

Die Gewinnung der Bilirubinsäure aus Hemibilirubin und Körper II deckt sich im wesentlichen mit der Darstellung aus Bilirubin.

¹⁾ Richard Willstätter und Asahina, A. 874, 227.