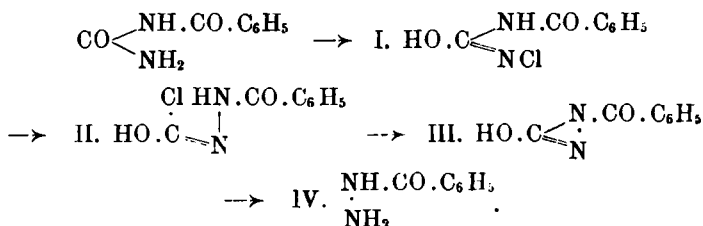


bildet, und daß diese Reaktion nach dem Hofmannschen Schema verläuft (Verwandlung der Säureamide im Amine). Dasselbe hat auch A. Darapsky¹⁾ für einige komplizierte Carbamide beobachtet.

Auch in unserem Falle erleidet der Benzoylharnstoff bei der Behandlung mit unterchlorigsauren Salzen eine Reihe von ähnlichen Umwandlungen, und als Endprodukt entstehen Benzoyl-isodiazomethanol und Benzoyl-hydrazin:



Die erste Phase dieser Verwandlungen führt zu der Bildung von Benzoyl-chlor-harnstoff, und die Beobachtung von O. Diels und H. Okada kann nur als ein Beweis der Richtigkeit des von uns angeführten Reaktionsverlaufs dienen.

Wir hoffen, daß auch »das weitere Studium der hier beschriebenen Verbindungen« unsere Beobachtungen bestätigen wird.

St. Petersburg, den 23. Oktober 1912.

428. Hans Fischer und Heinrich Röse: Über den Abbau des Bilirubins und der Bilirubinsäure.

[Aus der II. Medizinischen Klinik zu München.]

(Eingegangen am 8. November 1912.)

Während der Blutfarbstoff unter der Einwirkung von Eisessig-Jodwasserstoff bei 100° vollständig in seine Bausteine, die drei Basen und zwei Säuren zerfällt, ist das Bilirubin relativ beständig gegen dieses Reduktionsmittel. Es konnte die Basenfraktion in nennenswerter Menge bis jetzt nicht erhalten werden.

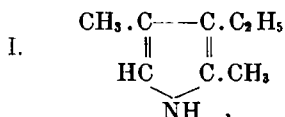
Daß Spuren von Basen entstehen, haben zuerst Orndorff und Teeple²⁾ festgestellt. Sie erhielten mit Sublimat geringe Mengen eines Quecksilberdoppelsalzes, das nach diesen Autoren andere Eigenschaften zeigte als das Hämopyrrol-quecksilber-Doppelsalz. Diese

¹⁾ J. pr. [2] 76, 433.

²⁾ Salkowski-Festschrift, S. 305.

Feststellung wurde dann später von H. Fischer und Röse¹⁾ und von O. Piloty und S. Thannhauser²⁾ bestätigt.

Es ist uns nun gelungen, die Reduktionsbedingungen beim Bilirubin so zu gestalten, daß die Basenfraktion in faßbarer Menge entsteht und zwar durch Behandeln mit Eisessig-Jodwasserstoff in der Siedehitze während 14—16 Stunden. Es gelang relativ leicht, das von Fischer und Bartholomäus³⁾ im Hämin entdeckte Kryptopyrrol (I)⁴⁾ nachzuweisen. Ob auch die beiden anderen



Basen, Hämopyrrol und Phyllopyrrol, vorhanden sind, darüber können wir noch kein abschließendes Urteil abgeben. Es ist also auch hier in der Basenfraktion ein dem Blutfarbstoff entgegengesetztes Verhalten vorhanden, da in jenem ja bekanntlich die vorherrschende Base das Hämopyrrol ist.

Als zweites Spaltprodukt tritt bei dem neuen Verfahren die isomere Phonopyrrol-carbonsäure in relativ großer Menge auf und ist so leicht gewinnbar, daß wir von ihr zur weiteren Charakterisierung durch Veresterung mit Methylalkohol und Salzsäure, entsprechend dem E. Fischerschen Veresterungsverfahren der Aminosäuren, den schön krystallisierenden Ester der Säure gewinnen

¹⁾ H. 73, 225 [1911], B. 45, 1579 [1912].

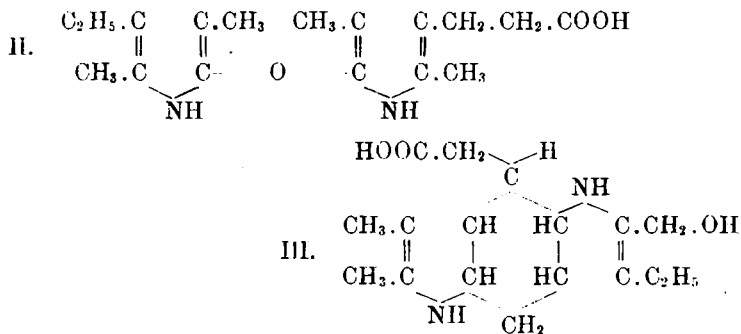
²⁾ A. 390, 191 [1912].

³⁾ B. 45, 1979 [1912].

⁴⁾ Zwei Monate später haben O. Piloty und Stock (A. 392, 215) in einer umfangreichen Arbeit diesen Befund bestätigt. Außerdem wollen sie noch zwei weitere Pyrrole aufgefunden haben, ein am Stickstoff substituiertes Pyrrol und das 3-Methyl-4-äthyl-pyrrol. Das zuerst genannte Pyrrol glaubten wir auch schon beobachtet zu haben (B. 45, 467), halten es jedoch für ein Kunstprodukt. Die experimentellen Daten für die Existenz eines Methyl-äthyl-pyrrols sind nach unseren Erfahrungen keineswegs stichhaltig. Piloty und Stock stützen sich auf die Elementaranalyse und den Siedepunkt des destillierten Öles. Die Elementaranalysen von Pyrrol-Ölen entbehren nun nach unseren Erfahrungen fast jeglicher Beweiskraft; unserer Ansicht nach kann der Beweis für die Einheitlichkeit eines Pyrrol-Öles nur durch Überführung in stabile, krystallisierte Derivate geführt werden. Das von den Autoren erhaltene »dritte Oxim des Methyl-äthyl-maleinimids« scheint uns ein Gemisch der beiden bekannten Oxime zu sein. Übrigens ist auch ein drittes Dimethyläthylpyrrol mit festgelegter β -ständiger Methyl- und Äthylgruppe nicht möglich. Daher ist auch die Hämopyrrolfrage durch unseren Nachweis des Kryptopyrrols im Verein mit dem Konstitutionsbeweis des Hämopyrrols durch Synthese des 2.3-Dimethyl-4.5-diäthylpyrrols gelöst.

konnten, der ein hellgelbes Pikrat gibt. Zum Vergleich haben wir nach der gleichen Methode den Ester der Phonopyrrol-carbonsäure gewonnen, der so sehr leicht zu erhalten ist, während die Veresterung mittels Dimethylsulfat scheinbar Schwierigkeiten¹⁾ bereitet. Auch dieser Ester gibt ein schön krystallisierendes Pikrat, das auffallenderweise eine dunkelbraunrote Farbe besitzt, während das des isomeren Esters hellgelb ist wie alle Pyrrolpikrate, die wir bis jetzt beobachtet haben. Der Unterschied ist so evident, daß wir anfangs der Ansicht waren, daß durch die Pikrinsäure der Ester der Phonopyrrol-carbonsäure irgendwie verändert würde, und wir haben deshalb den Ester aus dem Pikrat wieder regeneriert. Er erwies sich aber als unverändert.

Wir haben nun das neue Reduktionsverfahren auch auf die Bilirubinsäure, für die wir die Formel II vertreten, während Piloty und Thannhauser die Formel III diskutieren, angewandt und er-



hielten bei der Reduktion Kryptopyrrol (I) in geringer Menge und die isomere Phonopyrrol-carbonsäure in relativ guter Ausbeute. Daneben blieb noch ein nicht unbeträchtlicher Teil der Bilirubinsäure scheinbar unverändert.

Durch diese Befunde ist wohl die Pilotysche Formel widerlegt, da nach ihr bei der Reduktion Pyrrole überhaupt nicht entstehen können. (Um bei der Reduktion jegliche intermediäre hypothetische Oxydation durch freiwerdendes Jod auszuschließen, haben wir zwei Versuche bei Gegenwart von Phosphor mit demselben Erfolg durchgeführt.) Unsere Formel mit der Sauerstoffbindung dagegen erklärt alle bisherigen experimentellen Befunde; das letzte Wort spricht hier natürlich nur die Synthese.

¹⁾ O. Piloty, A. 366, 259 [1909].

Experimentelles.

Reduktion von Bilirubin und Körper II. 5 g Bilirubin¹⁾ werden mit einem Gemisch von 110 ccm Eisessig und 40 ccm Jodwasserstoffsäure (spez. Gew. 1.96) ca. 15 Stunden unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Hiernach wird das ausgeschiedene Jod mit Jodphosphonium reduziert und das Säuregemisch im Vakuum abdestilliert. Der Rückstand wird in Soda aufgenommen, wobei sich ein charakteristischer Geruch nach Sellerie bemerkbar macht. Durch Dampfdestillation erhält man ein Öl, das durch Ausäthern und Versetzen mit feuchtätherischer Pikrinsäurelösung ein in feinen Nadeln kristallisierendes Pikrat gibt (0.1 g), welches nach einmaligem Umkristallisieren aus 7 ccm Alkohol den Schmp. 136—137° zeigt. Die Reaktion mit Dimethylamido-benzaldehyd ist stark positiv. Der Mischschmelzpunkt mit Kryptopyrrol-Pikrat ergibt keine Depression, dagegen eine erhebliche mit dem Pikrat des Hämopyrrols (110°).

Die sodaalkalische Mutterlauge wird angesäuert und durch Äther erschöpft. Den Ätherextrakt dampft man im Vakuum ein, wobei ein öfliger Rückstand hinterbleibt. Dieser wird mehrmals mit siedendem Wasser ausgezogen und der Extrakt nach dem Erkalten mit Äther ausgeschüttelt. Die ätherische Lösung wird auf ein geringes Volumen gebracht und mit 1 g Pikrinsäure in 20 ccm feuchtem Äther versetzt, wobei sich fast momentan ein hellgelbes Pikrat abscheidet, das sich als vollkommen identisch erweist mit dem schon früher beschriebenen der isomeren Phopyrrol-carbonsäure.

Nachdem so festgestellt war, daß im Bilirubin die Basenfraktion isolierbar ist, wurde für die weiteren Versuche zunächst nicht Bilirubin, sondern Körper II, von dem von früheren Reduktionsversuchen des Bilirubins her noch größere Mengen vorhanden waren, benützt. Zur Verfügung standen im ganzen 17 g, die in 3 Portionen, wie oben beschrieben, verarbeitet wurden.

Die vereinigte Basenfraktion wurde 2-mal mit primärer Natriumphosphatlösung ausgeschüttelt und in der üblichen Weise mit ätherischer Pikrinsäure die Basen als Pikrate abgetrennt, die nach einmaligem Umkristallisieren den Schmp. 110—111° zeigten (0.4 g). Durch weiteres Umkristallisieren aus 11 ccm Alkohol wurde der unscharfe Schmp. 129—130° erreicht (0.28 g), der nach nochmaligem Umkristallisieren aus 7 ccm Alkohol, worin sich das Pikrat nur noch sehr schwer löste, auf 135—136° stieg (0.18 g). Der Mischschmelzpunkt mit Kryptopyrrol-Pikrat ergab keine Depression; die Reaktion mit Dimethylamido-benzaldehyd war intensiv.

¹⁾ Hrn. Dr. Flatow in Köln sind wir für Übermittlung von über 100 g Rindergallensteinen zu großem Dank verpflichtet.

0.1250 g Subst. (im Vakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet): 18.3 ccn N (18°, 721 mm).

$C_{14}H_{16}O_7N_4$. Ber. N 15.91. Gef. N 16.16.

Die gesamten, beim Umkrystallisieren erhaltenen Mutterlaugen wurden mit Äther versetzt und hieraus durch mehrmaliges Ausschütteln mit Wasser der Alkohol entfernt. Der ätherischen Lösung der Pyrrol-pikrate wurden die Pyrrole durch Ausschütteln mit 50-proz Schwefelsäure entzogen und die schwefelsaure Lösung nach Entfernung der Pikrinsäure durch Äther und Verdampfen des gelösten Äthers im Vakuum mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt. Die nun 25-proz. Lösung wurde bei gewöhnlicher Temperatur mit Nitrit oxydiert. Nach kurzem Reiben und Kühlen mit Eis krystallisiert ein Oxim, das aus wenig Wasser umkrystallisiert, den Schmp. 202—203° zeigte, während das dem Kryptopyrrol entsprechende bei 216° sich zersetzt.

Nach diesem Ergebnis erscheint es nicht ausgeschlossen, daß neben Kryptopyrrol auch noch Hämopyrrol vorliegt. Die Untersuchung soll mit größeren Mengen Material wiederholt werden.

Zur Fahndung auf Phyllopyrrol wurde die Gesamtmutterlauge des oben erwähnten Rohpikrats (0.4 g) nach dem früher beschriebenen Verfahren¹⁾ auf diese Base verarbeitet. Es hinterblieb nach dem Auskuppeln mit Diazobenzolsulfosäure eine beträchtliche Menge eines öligen Rückstandes, aus dem es bis jetzt nicht gelungen ist, Phyllopyrrol zu isolieren. Die Versuche werden fortgesetzt.

Die Säurefraktion, erhalten nach dem gleichen Verfahren wie beim Bilirubin beschrieben, ergab wiederum beträchtliche Mengen der isomeren Phonopyrrol-carbonsäure. (Aus 5 g etwa 1.1 g Rohpikrat.)

Die Gesamtmutterlaugen des Rohpikrates wurden nach Entfernung der Pikrinsäure und des Äthers in der üblichen Weise in schwefelsaurer Lösung bei 50° mit Nitrit oxydiert. Wider Erwarten wurde nicht das Oxim der isomeren Säure, sondern das der Phonopyrrol-carbonsäure erhalten (Schmp. 236°).

Reduktion der Bilirubinsäure. Diese wurde im ganzen dreimal ausgeführt, zweimal mit je 1.5 g und einmal mit 1 g. Bei den ersten beiden Versuchen wurde unter Zusatz von Phosphor reduziert, bei dem dritten das abgeschiedene Jod erst durch nachherigen Zusatz von Jodphosphonium entfernt. Das Resultat war bei allen 3 Versuchen durchaus das gleiche. Es gelang auch hier, Kryptopyrrol-Pikrat vom Schmp. 136—137° zu fassen. Die Säurefraktion

¹⁾ B. 45, 467 [1912].

ergab (aus 1.5 g Bilirubinsäure) 0.35 g Pikrat der isomeren Phonopyrrol-carbonsäure (Schmp. 152°).

0.1080 g Sbst.: 14.1 ccm N (19°, 719 mm).

$C_{15}H_{16}O_9N_4$. Ber. N 14.14. Gef. N 14.23.

Eine Probe des Pikrates wurde in die freie Säure verwandelt und diese wie gewöhnlich mit Nitrit oxydiert. Nach einmaligem Umkrystallisieren aus Wasser schmolz das Oxim bei 220°, während früher 215° beobachtet war.

Aus der Mutterlauge krystallisierte beim weiteren Stehen eine geringe Menge wahrscheinlich unveränderter Bilirubinsäure, Schmp. 174—175°. Auch nach Lösen in Chloroform, Auskuppeln mit Diazobenzolsulfosäure und Umkrystallisieren der durch Abdunsten wiedergewonnenen Substanz konnte der richtige Schmelzpunkt (187°) nicht erreicht werden. Schmp. 180—181°.

Die vereinigten Mutterlaugen der Pikrate wurden nach Entfernung der Pikrinsäure und des Äthers mit Nitrit bei 50° oxydiert und auch hier nicht das Oxim der isomeren Säure, sondern das der Phonopyrrol-carbonsäure (Schmp. 233°) erhalten. Der Mischschmelzpunkt mit dem aus der reinen isomeren Säure erhaltenen Oxim (Schmp. 220°) ergab eine erhebliche Depression (210°). Es erfolgt also die Nitritoxydation auf die im Verband befindliche Säure anders, als auf die durch Reduktion erhaltene Säure. Auf theoretische Spekulation über diesen überraschenden Befund verzichten wir vorläufig, aber jedenfalls spricht er nicht gegen unsere, eine Sauerstoffbrücke enthaltende Formel der Bilirubinsäure.

Methylester der Phonopyrrol-carbonsäure. Aus 2 g Pikrat der Phonopyrrol-carbonsäure wurde in der üblichen Weise die freie Säure dargestellt und diese in 20 ccm Methylalkohol (Kahlbaum) gelöst. Unter Feuchtigkeitsabschluß wurde trocknes Salzsäuregas bis zur Sättigung eingeleitet, bei gleichzeitiger Kühlung mit Eis. Nach Stehen über Nacht bei gewöhnlicher Temperatur wurde im Vakuum bei 30—35° zur Trockne gebracht. Der Rückstand wurde in Äther gelöst und die Lösung mit 10-proz. Bicarbonatlösung 2-mal ausgeschüttelt. Beim Eindampfen im Vakuum krystallisierte der Ester der Phonopyrrolcarbonsäure sofort. (Ausbeute ca. 90%.) Er wird aus verdünntem Methylalkohol umkrystallisiert. Farblose, flache Nadeln, die bei 57—58° schmelzen.

0.1330 g Sbst. (im Vakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet): 9.7 ccm N (20°, 720 mm).

$C_{10}H_{15}O_2N$. Ber N 7.74. Gef. N 7.93.

Der Ester ist luft- und lichtempfindlich; mit Dimethylamidobenzaldehyd gibt er eine intensive Rotfärbung. Er löst sich sehr leicht

in Äther, Methyl- und Äthylalkohol. Mit Pikrinsäure bildet er ein Pikrat von rotbrauner Farbe. Aus Alkohol umkrystallisiert rotbraune Nadeln mit starkem Oberflächenglanz. Schmp. 121—122°.

0.1340 g Sbst.: 17.0 ccm N (19°, 711 mm).

$C_{16}H_{18}O_9N_4$. Ber. N 13.66. Gef. N 13.70.

Methylester der isomeren Phonopyrrol-carbonsäure. Die Gewinnung dieses Esters deckt sich mit der soeben beschriebenen vollkommen, er zeigt jedoch nicht die Krystallisationsfähigkeit des aus der Phonopyrrol-carbonsäure erhaltenen und wurde daher als Pikrat abgeschieden. Dieses krystallisiert aus Alkohol in feinen, gelben, zentrisch gruppierten Nadeln, die bei 107—108° schmelzen.

0.1185 g Sbst. (im Vakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet): 15.0 ccm N (20°, 720 mm).

$C_{16}H_{18}O_9N_4$. Ber. N 13.66. Gef. N 13.76.

Den freien Ester der isomeren Phonopyrrolcarbonsäure erhält man durch Zerlegen des Pikrates in krystallisiertem Zustande. Aus verdünntem Methylalkohol umkrystallisiert, schmilzt er bei 47—48°.

429. Ad. Jolles: Bemerkung zur Darstellung der *p*-Bromphenylhydrazin-Verbindung der Glucuronsäure nach Neuberg.

(Eingegangen am 8. November 1912.)

G. Goldschmiedt und E. Zerner¹⁾ berichten in einer Abhandlung über die Einwirkung von *p*-Bromphenylhydrazin auf Glucuron²⁾, daß sie bei der Nachprüfung der Neubergschen Reaktion³⁾ auf Schwierigkeiten gestoßen sind, indem sie nicht die charakteristischen hellgelben Nadeln, sondern vorwiegend in absolutem Alkohol leicht lösliche dunkelbraune Schmierer erhalten konnten, die nur minimale Spuren eines hellgelben krystallinischen Niederschlages zurückließen. Diese Beobachtung kann ich auf Grund meiner Erfahrungen, die ich gelegentlich meiner Versuche zur Darstellung der Glucuronsäure durch Oxydation von Glucose mit Wasserstoffsperoxyd³⁾ gewonnen habe, bestätigen, da auch ich bei der Nachprüfung der Neubergschen Vorschrift anfangs mit denselben Schwierigkeiten zu kämpfen hatte.

¹⁾ Sitzungsber. d. Kaiserl. Akad. d. Wissensch. in Wien, math-naturw. Klasse. 121, Abt. II, Juli 1912.

²⁾ B. 32, 2395 [1899].

³⁾ M. 32, 623 [1911].