

423. Fritz Wrede und Otto Hettche: Über das Prodigiosin, den roten Farbstoff des Bacillus Prodigiosus (I. Mitteil.).

[Aus d. Physiolog. Institut d. Universität Greifswald.]

(Eingegangen am 7. August 1929.)

Der Bacillus Prodigiosus findet sich sehr häufig z. B. im Wasser und im Erdboden. Obwohl von diesem Saprophyten keine krankheits-erregenden Wirkungen bekannt sind, „hat er doch mehr Menschen umgebracht als mancher pathogene Bacillus“¹⁾. Eigentümlich ist für den Bacillus Prodigiosus die intensive Rotfärbung seiner Kulturen. Da er wenig anspruchsvoll in bezug auf Substrat und auf Temperatur ist, bildet er auf allerhand Lebensmitteln, wie Brot, Kartoffeln, Fleisch usw. rot gefärbte Flecke, die ähnlich wie Blutstropfen aussehen. Das Auftreten solcher Flecke auf geweihten Hostien hat in früheren Jahrhunderten oft zu der Annahme verleitet, daß die Hostien „von Juden gestochen worden seien und deshalb bluteten. Die Täter wurden dann rasch gefunden und meist verbrannt oder einfach totgeschlagen“¹⁾. Auf diese Weise sollen „Hekatomben von Menschen durch den Prodigiosus umgekommen sein.“

Die rote Färbung der Kulturen hat oft zu Untersuchungen über die Bedingungen der Bildung und über die Natur des Farbstoffes angeregt. Nachdem es vor kurzem in dem hiesigen Laboratorium gelungen war, das Stoffwechselprodukt des Bacillus Pyocyanus, den blauen Farbstoff Pyocyanin, in bezug auf seine Konstitution aufzuklären und seine Synthese durchzuführen²⁾, reizte uns wegen der gleichen Gesichtspunkte, die wir bei den Arbeiten über das Pyocyanin dargelegt haben, auch die Erforschung des Farbstoffes aus dem Bacillus Prodigiosus.

Wie von früheren Forschern schon beschrieben wurde, läßt sich das in Form von Schollen oder öligen Tropfen im Bacillenkörper befindliche Pigment leicht mit lipoiden Flüssigkeiten extrahieren. Durch Eindampfen dieser Extrakte waren stark gefärbte, salben-ähnliche Produkte gewonnen worden, die allerdings in bezug auf Reinheit viel zu wünschen übrig ließen. Dem Farbstoff war schon früher der Name Prodigiosin beigelegt worden, obwohl es keineswegs geglückt war, ihn auch nur annähernd rein darzustellen. Durch Vergleich der Farbstärken von dem jetzt von uns in reinem Zustande gewonnenen Prodigiosin mit der der Prodigiosin-Präparate früherer Forscher konnten wir feststellen, daß diese Präparate nur ca. 2% des Farbstoffes enthielten³⁾.

Die älteren Beobachtungen über die Eigenschaften des „Prodigiosins“ fanden wir bei unserem reinen Farbstoff dementsprechend auch nur z. T. wieder. Von den relativ spärlichen Angaben über das chemische Verhalten des Farbstoffes konnten wir bestätigen: Die Löslichkeit in lipoiden Flüssigkeiten, die fast völlige Unlöslichkeit in Wasser, den Farbumschlag von gelb nach rot bei Ansäuern der alkalischen oder neutralen Lösung. Nicht gelang es uns dagegen, das aus „Prodigiosin“ erhaltene „Paraprodigiosin“ wiederzugewinnen, das nach E. Kraft sich auf Zusatz von schwachen Alkalien (auch von Würzburger Leitungswasser) bilden soll.

¹⁾ Scheurlen, Arch. Hygiene **26**, 3 [1896]; siehe dort auch eine ausführliche Zusammenstellung der älteren Literatur.

²⁾ Wrede u. Strack, Ztschr. physiol. Chem. **140**, 1 [1924], **142**, 103 [1925], **177**, 177 [1928], **181**, 58 [1929].

³⁾ E. Kraft, Dissertat., Würzburg 1902.

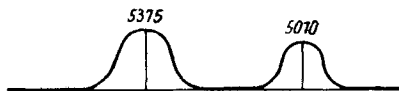
Da die Ausbeute der Kulturen an reinem Farbstoff recht gering ist, mußten wir sehr große Mengen derselben verarbeiten. Unsere Versuche, den Bacillus auf flüssigem Nährboden zu züchten, verliefen unbefriedigend. Wir nahmen zuletzt die Züchtung auf dünnen Schichten von Agar vor, der Pepton, Maggis Fleischbrühe, Glucose und etwas Magnesiumsulfat enthielt. Die Zusammensetzung des Nährbodens wird im experimentellen Teil angegeben. Die Farbstoffbildung war bei einer Temperatur von ca. 25° nach 4–5 Tagen optimal; die Kulturen waren dann mit einem blutroten, zusammenhängenden Bakterien-Rasen bedeckt. Aus 1 qm Kulturfläche ließen sich ca. 150 mg des reinen Farbstoffes gewinnen.

Da das Prodigiosin von den Bakterien-Leibern eingeschlossen wird, erwies es sich als zweckmäßig, diese vor der Extraktion mit Petroläther durch verdünnte Lauge zu zerstören. Aus dem gelbgefärbten Extrakt wurde der Farbstoff in Form seines Chlorhydrates gefällt. Dieses wurde zur weiteren Reinigung in alkohol. Lösung mit 5-proz. Überchlorsäure solange versetzt, bis das schön krystallisierte Perchlorat ausfiel. Aus diesem schon fast reinen Produkt konnte der freie Farbstoff regeneriert werden. Derselbe ließ sich in festen, amorphen Blättchen gewinnen, die ähnlich wie Fuchsin grünen Metallglanz zeigen. Aus dem gereinigten, asche-freien Präparat ließen sich prachtvoll krystallisierte Salze mit Überchlorsäure, Pikrinsäure, Salicylsäure und Benzoesäure darstellen. Die Salze mit Halogenwasserstoffsäuren waren zwar auch krystallin, neigten aber zum Verschmieren und waren deshalb zur Analyse ungeeignet. Auch andere organische Säuren gaben krystallisierte Salze; bemerkenswert ist das Salz der Weinsäure, das sich zum Unterschied von anderen Salzen durch eine gewisse Löslichkeit in Wasser auszeichnet.

Die Analyse der reinen und sicher einheitlichen Substanzen stieß wegen der Schwerverbrennlichkeit auf erhebliche Schwierigkeiten. Die gefundenen Werte passen am besten auf die Formel $C_{20}H_{25}N_3O$, Ac (Ac = einbasische Säure). Der reine Farbstoff dürfte danach die Formel $C_{20}H_{25}N_3O$, oder — falls eine Ammoniumbase vorliegt, was aber wegen der Reaktion der Base und ihrer Salze gegen Kohlensäure und Natriumcarbonat unwahrscheinlich ist — $C_{20}H_{27}N_3O_2$ haben. Die Molekulargewichts-Bestimmungen gaben nicht gerade eindeutige Ergebnisse. Bei der ebullioskopischen Bestimmung in Alkohol wurde mit dem freien amorphen Farbstoff und auch mit dem schön krystallisierten Salicylat keine Spur einer Siedepunkts-Erhöhung beobachtet, obgleich offenbar klare Lösungen vorlagen. Bei der kryoskopischen Methode in Benzol wurde beim freien Farbstoff ein Wert gefunden, der für das Doppelte des oben angegebenen Molekulargewichts — also für $C_{40}H_{50}N_6O_2$ — spricht. Dagegen deuteten die Werte beim Salicylat in Bromoform-Lösung und beim freien Farbstoff in Eisessig-Lösung ziemlich eindeutig auf das einfache Molekulargewicht. In letzterem Falle — Lösen der freien Base in Eisessig — wurde damit gerechnet, daß aus einem Molekül des freien Farbstoffes sich ein Molekül des undissoziierten Acetats bildet⁴⁾. Es scheint demnach, als ob der freie Farbstoff entweder kolloidale Lösungen bildet oder stark zur Assoziation neigt, worin vielleicht die Ursache zu finden ist, daß er nicht krystallisiert.

⁴⁾ siehe Wrede und Strack, Ztschr. physiol. Chem. **140**, 5 [1924], **181**, 59 [1928].

Da der kostbare Farbstoff bisher bei den üblichen chemischen Abbauprobungen, die bekanntlich viel Material kosten, keine charakteristischen Produkte lieferte, dachten wir daran, durch die spektroskopische Untersuchung Aufklärung über seine Zugehörigkeit zu einer bekannten Farbstoffklasse zu erhalten. Hr. Prof. Formánek in Prag, dessen grundlegendes Werk über die spektroskopische Untersuchung der Farbstoffe uns manche Anregung gegeben hatte, besaß die große Freundlichkeit, die Untersuchung selbst auszuführen. Seine Mitteilung möge hier folgen: „Das Perchlorat löst sich in Alkohol ohne Fluorescenz mit einer so intensiv roten Farbe, daß schon Spuren genügen, um ein deutliches Absorptionsspektrum zu erzeugen. Dasselbe besteht aus zwei ziemlich schmalen scharfen Streifen, von denen der erste (Hauptstreifen) stärker, der zweite (Nebenstreifen) schwächer erscheint (vergl. nebenstehende Figur).



Der Hauptstreifen liegt bei 5375 Å.-E., der Nebenstreifen bei 5010 Å.-E. Auf Zusatz von 3 Tropfen alkohol. Salzsäure ändert sich die Farbe der Lösung nicht, die Streifen verschieben sich auf 5355 und 4985 Å.-E. Die Lösung in Xylol zeigt: Hauptstreifen bei 5415, Nebenstreifen bei 5050 Å.-E.; in Tetralin: bei 5430 und bei 5055 Å.-E.“ Auf Grund dieser Beobachtungen schließt Hr. Prof. Formánek, daß in der Substanz kein Rosanilinfarbstoff vorläge. Weitere Diskussionen über die Natur des Farbstoffes sind rein hypothetisch. Offenbar handelt es sich bei dem Prodigiosin um einen ganz neuen Typus eines Farbstoffes, der gerade so wie auch der Bakterien-Farbstoff Pyocyanin sich nicht in eine der bekannten Farbstoffklassen einreihen läßt.

Wir sind nun zurzeit damit beschäftigt, größere Mengen des Prodigiosins zu bereiten, und den chemischen Abbau vorzunehmen. Bis dahin mögen aber die bisher gefundenen Beobachtungen mitgeteilt werden: Die freie Base zeigt sich ebenso wie ihre Salze fast unlöslich in Wasser, leicht löslich in organischen Solvenzien. Die Lösungen der Salze sind intensiv rot gefärbt, die der freien Base rein gelbbraun. Die Farbe der gelbbraunen Lösung wird durch Kohlensäure nicht wesentlich verändert; dagegen bewirken Natriumcarbonat und Natriumbicarbonat in den sauren Lösungen Umschlag von rot nach gelb. Die Farbintensität der Salze erweist sich als ungefähr ebenso groß — vielleicht sogar etwas größer — wie die von reinen Fuchsin-Salzen; in starker alkohol. Verdünnung ist die Farbe der angesäuerten Prodigiosin-Lösung allerdings mehr gelbrot als die entsprechende des Fuchsin, die einen mehr blauen Ton aufweist. Die Licht-Echtheit des Farbstoffes ist nicht sehr groß: angefärbte Filtrierpapier-Streifen werden im Sonnenlicht schon nach einigen Stunden stark gebleicht. Die Frage, ob das Prodigiosin eine Drehung der Ebene des polarisierten Lichts bewirkt, ließ sich wegen der außerordentlich starken Färbung der Lösung nicht entscheiden.

Prodigiosin wird in alkalischer wie in saurer alkohol. Lösung durch Natriumhydrosulfit nicht merklich verändert. Dementsprechend wirkt auch alkoholische schweflige Säure nicht ein. Eine Lösung in 70-proz. Alkohol wird durch Natrium-amalgam erst bei längerem Erhitzen verändert: Die braungelbe Farbe wird im Verlauf von etwa $\frac{1}{2}$ Stde. wesentlich heller. Diese Lösung behält, auf Papier ausgegossen, die helle Farbe bei; es erfolgt also keine Reoxydation durch den Luft-Sauerstoff. Mit Platin-

oxyd-Wasserstoff⁵⁾ wird in Alkohol- und Eisessig-Lösung sehr langsam Wasserstoff aufgenommen, die Menge des Wasserstoffs entspricht einer Doppelbindung. Die hydrierte Verbindung ist fast farblos. Sie wird beim Stehen an der Luft rasch dunkel gefärbt, wobei sich der ursprüngliche Farbstoff aber nicht wieder zurückbildet.

Im Gegensatz zu der Resistenz gegenüber Reduktionsmitteln erweist sich das Prodigiosin gegen Oxydationsmittel als ziemlich empfindlich. Durch Kaliumpermanganat wird der freie Farbstoff in acetonischer Lösung fast momentan entfärbt, wobei pro Molekül etwa 13 Atome Sauerstoff verbraucht werden; die Oxydationsprodukte werden zum großen Teil von dem ausfallenden Braunstein mit niedergedrückt. Bei dieser Oxydation konnten wir bisher außer Oxalsäure keine krystallisierten Stoffe isolieren. Auch durch Chromsäure in Eisessig erfolgt schnelle Oxydation unter Entfärbung, desgleichen durch Wasserstoffsperoxyd in Eisessig. Auch konz. und verd. Salpetersäure, sowie salpetrige Säure verändern den Farbstoff sofort.

Die Isolierung eines Acylproduktes gelang bisher nicht. Verwandt wurden Benzoylchlorid mit Natronlauge, Benzoylchlorid mit Pyridin, Essigsäure-anhydrid mit Pyridin, Essigsäure-anhydrid mit konz. Schwefelsäure. Bei Anwendung des letzteren Reagens wurde keine wesentliche Farbänderung bewirkt, jedoch war die gefärbte Verbindung wasser-löslich geworden und ließ sich weder bei alkalischer, noch bei saurer Reaktion mit organischen Lösungsmitteln dem Wasser entziehen.

Das Prodigiosin gab bei der Bestimmung nach Zeisel Werte, die für eine Methoxyl- (oder Äthoxyl-)gruppe sprechen. Dagegen verlief die Methylimid-Bestimmung völlig negativ. Beim Erhitzen mit konz. Jodwasserstoff- und mit konz. Bromwasserstoffsäure im Rohr auf 100° trat Zersetzung unter Abscheidung von Kohle ein. Bei der Behandlung mit heißer konz. Salzsäure wurde der in der Säure unlösliche Farbstoff nicht verändert; erhitzte man dagegen auf 150°, so trat Verkohlung ein. Längeres Kochen mit verd. alkohol. Salzsäure ließ den Farbstoff intakt, desgleichen längeres Kochen mit alkohol. Natriumäthylat.

Die Bestimmung nach van Slyke ergab keinen Stickstoff, woraus hervorgeht, daß keine aliphatisch gebundene primäre Aminogruppe vorliegt. Der Versuch, durch Erwärmen mit methylalkoholischer Kalilauge und Jodmethyl Methylgruppen in das Molekül einzuführen, verlief ergebnislos; es konnte ein großer Teil des Farbstoffs unverändert in Form seines Perchlorats wiedergewonnen und identifiziert werden. Auch beim Erhitzen des freien Farbstoffes mit Jodmethyl auf 100° wurde bisher keine Veränderung festgestellt.

Beschreibung der Versuche.

Gewinnung des Prodigiosins.

120 g Agar werden 24 Stdn. in 4 l Wasser eingeweicht, dann durch Erhitzen in Lösung gebracht. Weiterhin werden 70 g „Maggis gekörnte Fleischbrühe“, 70 g „Peptonum siccum sine sale“ (Merck), 40 g Traubenzucker und 5 g kryst. Magnesiumsulfat in 4 l kochendem Wasser gelöst. Letztere Lösung wird nach dem Abkühlen vom ausgeschiedenen Fett befreit, dann mit der heißen Agar-Lösung vermischt. Nach 24 Stdn. wird nochmals

⁵⁾ R. Adams und R. L. Shriner, Journ. Amer. chem. Soc. 45, 2171 [1923].

durch Erhitzen im Dampftopf sterilisiert. Die Nährlösung gießt man in dünner Schicht auf Platten aus. Für unsere Zwecke erwiesen sich als sehr geeignet flache Schalen aus Weißblech von 20×50 cm Kantenlänge. Mit der angegebenen Menge Agar-Lösung konnten jeweils 2 qm Kulturfläche hergestellt werden. Die Platten werden übereinander gestellt, so daß die oberen die Deckel der unteren bildeten.

Von einer Stammkultur werden die Bakterien mit steriler Bouillon abgeschwemmt. Von dieser Suspension werden einige ccm auf jede Schale gegossen und mit einem sterilen Spatel verteilt. Nach 4—5-tägigem Wachsen bei 25° , nach welcher Zeit die Platten mit einem gleichmäßigen, blutroten Überzug versehen sind, wird dieser abgeschabt. Die rahm-artige rote Masse (ca. 150 ccm) wird im Scheidetrichter mit etwa 70 ccm 10-proz. Natronlauge durchgeschüttelt. Nach etwa 2 Stdn. setzt man je 250 ccm Alkohol und Petroläther zu und schüttelt kräftig durch. Die restlose Trennung in eine klare untere (Alkohol und Natronlauge) und eine obere, stark getrübbte (Petroläther und suspendierte feste Teilchen) Schicht ist nach ca. 2 Stdn. erfolgt. Die untere Schicht enthält trotz einer gewissen Färbung nur wenig Farbstoff und wird verworfen. Die obere Schicht wird ca. 5-mal mit dem gleichen Volumen Petroläther geschüttelt. Dabei wird jedesmal mit einigen ccm Alkohol eine Trennung der Emulsionen von dem klaren Petroläther-Extrakt bewirkt. Die gesammelten Petroläther-Extrakte werden nun auf ca. 250 ccm eingeengt, dann wird zur Entfernung des Alkohols 3-mal mit je $\frac{1}{2}$ l Wasser durchgeschüttelt. Nach dem Filtrieren dampft man den Petroläther-Extrakt auf 50 ccm ein und leitet in ihn trocknes Salzsäuregas, worauf das Chlorhydrat ausfällt. Dieses wird nach kurzem Stehen abgesaugt. Die Ausbeute ist etwa 0.4 g aus 2 qm Kulturfläche.

Prodigiosin-Perchlorat.

1 g von dem noch nicht ganz reinen und noch wenig schön krystallisierten Chlorhydrat wird in 100 ccm 96-proz. Alkohol unter Erwärmen gelöst. Nach dem Filtrieren wird langsam mit 5-proz. Perchlorsäure bis zur beginnenden Trübung versetzt. Nach kurzer Zeit hat sich das Perchlorat in schön metallisch glänzenden Krystallen abgeschieden, die unter dem Mikroskop den Eindruck der Einheitlichkeit machen. Eine weitere Portion krystallisierter Substanz kann aus der Mutterlauge durch Zusatz von Wasser gewonnen werden.

Zur Analyse wird das Perchlorat nochmals in Alkohol gelöst und mit einer 1-proz. wäßrigen Perchlorsäure abgeschieden. Die Substanz wird im Vakuum bei 80° getrocknet.

4.502 mg Sbst.: 9.32 mg CO_2 , 2.53 mg H_2O . — 4.528 mg Sbst.: 9.39 mg CO_2 , 2.55 mg H_2O . — 3.080 mg Sbst.: 0.256 ccm N (18° , 754 mm). — 4.458 mg Sbst.: 0.364 ccm N (18° , 758 mm). — 8.220 mg Sbst.: 2.60 mg AgCl.

$\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}$, HClO_4 (423.7). Ber. C 56.64, H 6.19, Cl 8.37, N 9.92.

Gef. „ 56.45, 56.56, „ 6.29, 6.30, „ 7.82, „ 9.67, 9.55.

$\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}$, HClO_4 (437.7). Ber. C 57.57, H 6.45, Cl 8.10, N 9.60.

$\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}$, HClO_4 (425.7). Ber. C 56.38, H 6.63, Cl 8.33, N 9.87.

Methoxy-1-Bestimmung nach Zeisel: 7.275 mg Sbst.: 3.472 mg AgJ. — 8.522 mg Sbst.: 4.730 mg AgJ.

$\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}$, HClO_4 . Ber. OCH_3 7.32. Gef. OCH_3 6.30, 7.33.

Das Perchlorat bildet Nadeln von eventuell mehreren mm Länge, die bei 226° sintern und bei 228° (unkorr.) schmelzen. Sie sind unlöslich in Wasser,

mäßig löslich in Alkohol und in Chloroform, wenig löslich in Äther und Benzol.

Freies Prodigiosin.

1 g des Perchlorats wird in 100 ccm warmem Alkohol gelöst und mit 10-proz. Natronlauge bis zum Farbumschlag nach gelbbraun versetzt. Nach 1-stdg. Stehen wird filtriert, zum Filtrat setzt man 30 ccm Chloroform und ca. 100 ccm Wasser. Beim Schütteln geht der Farbstoff in die Chloroform-Schicht. Diese wird mehrmals mit Wasser zur Entfernung des Alkohols gewaschen, filtriert und im Vakuum auf wenige ccm eingedampft. Die Lösung wird dann im Vakuum-Exsiccator vom Chloroform befreit. Der freie Farbstoff hinterbleibt in Form einer festen, spröden Masse, die lebhaft grünen Metallglanz zeigt.

19.244 mg Sbst. braucht. 23.00 ccm n_{10} -Ba(OH)₂ für C + 14.52 ccm n_{10} -Ba(OH)₂ für H.⁶⁾ — 16.524 mg Sbst. braucht. 19.90 ccm n_{10} -Ba(OH)₂ für C + 12.94 ccm n_{10} -Ba(OH)₂ für H.

$C_{20}H_{25}N_3O$ (323.2). Ber. C 74.26, H 7.80.
Gef. „ 71.71, 72.27, „ 7.61, 7.89.

Die Substanz zeigt keinen scharfen Schmelzpunkt, sondern sie sintert zwischen 70 und 80°. Sie zeigt keine Neigung zur Krystallisation, löst sich nicht in Wasser, ziemlich leicht aber in Alkohol und in Äther, recht leicht in Chloroform, Bromoform und Benzol.

Molekulargewichts-Bestimmung. Wie im theoretischen Teil erwähnt, wird beim Eintragen des Prodigiosins in siedenden Alkohol keine Erhöhung des Siedepunkts beobachtet.

0.0995 g Sbst. in 6.8 g Benzol: Gefrierpkt.-Erniedrig. $\Delta = 0.119^\circ$. — 0.0516 g Sbst. in 7.3 g Benzol: $\Delta = 0.060^\circ$.

$C_{20}H_{25}N_3O$. Ber. Mol.-Gew. 323.2. Gef. Mol.-Gew. 627, 601.

0.0804 g Sbst. in 7.35 g Eisessig: Gefrierpkts.-Erniedrig. $\Delta = 0.110^\circ$. — 0.105 g Sbst. in 8.05 g Eisessig: $\Delta = 0.130^\circ$.

$C_{20}H_{25}N_3O$. Ber. Mol.-Gew. 323.2. Gef. Mol.-Gew. 387, 390.

Hydrierung des Prodigiosins.

I. 0.161 g (= $\frac{1}{2}$ Millimol) freier Farbstoff in 15 ccm Alkohol gelöst, nehmen mit 50 mg Platinoxid bei einem Überdruck von 100 mm Hg im Laufe von 5 Stdn. 15.9 ccm Wasserstoff (reduziert auf 0°, 760 mm) auf. Die Lösung ist dann fast entfärbt und absorbiert keinen Wasserstoff mehr. Sie wird an der Luft schnell dunkelviolet; das Oxydationsprodukt zeigt nicht mehr die Eigenschaften des Prodigiosins.

II. 0.161 g Prodigiosin in 10 ccm Eisessig nehmen mit 50 mg Platinoxid bei 100 mm Hg Überdruck im Laufe von 3 Stdn. 13.5 ccm Wasserstoff (reduziert auf 0°, 760 mm) auf. Es ist dann Entfärbung eingetreten, auch hier erfolgt keine Wasserstoff-Aufnahme mehr. Die Lösung wird an der Luft ebenfalls schnell dunkel.

Unter Berücksichtigung des üblichen Wasserstoff-Verlustes während dieser Zeiten ergibt sich ein Wert, der ziemlich gut für Aufnahme der für eine Doppelbindung berechneten Menge Wasserstoff (11.2 ccm) stimmt.

⁶⁾ Analyse nach Lindner, Ztschr. physikal. Chem. 68, 305 [1925].

Prodigiosin-Pikrat.

0.1 g freies Prodigiosin wird in ca. 20 ccm Alkohol gelöst. Die filtrierte Lösung wird mit wäßriger Pikrinsäure bis zur beginnenden Trübung versetzt und die Trübung durch leichtes Erwärmen wieder zum Verschwinden gebracht. Beim Stehen scheidet sich das Pikrat in derben, kugeligen Krystallaggregaten ab. (Bisweilen treten auch feine Nadeln auf, die isoliert werden konnten und auf Grund der N-Analyse offenbar eine Verbindung des Monopikrats mit 1 Mol. Pikrinsäure darstellen. Es muß deshalb die Krystallisation des normalen, in kugeligen Aggregaten krystallisierten Pikrats sehr sorgfältig überwacht werden, um eine einheitliche Substanz zu gewinnen).

Die Krystalle werden zur Analyse sorgfältig mit 50-proz. Alkohol gewaschen und im Vakuum bei 80° getrocknet.

4.570 mg Sbst.: 9.48 mg CO₂, 2.03 mg H₂O. — 4.650 mg Sbst.: 9.64 mg CO₂, 2.10 mg H₂O. — 4.788 mg Sbst.: 9.92 mg CO₂, 2.18 mg H₂O. — 3.017 mg Sbst.: 0.391 ccm N (18°, 752 mm). — 3.816 mg Sbst.: 0.479 ccm N (18°, 758 mm).

C₂₀H₂₅N₃O, C₆H₃N₃O₇ (552.2). Ber. C 56.49, H 5.11, N 15.22.
Gef. „, 56.57, 56.53, 56.48, „, 4.97, 5.05, 5.09, „, 15.05, 14.69.

C₂₁H₂₇N₃O, C₆H₃N₃O₇ (566.2). Ber. C 57.22, H 5.34, N 14.85.

C₂₀H₂₇N₃O, C₆H₃N₃O₇ (554.2). Ber. C 56.30, H 5.64, N 15.17.

Das Pikrat sintert bei 173° und schmilzt bei 176° (unkorr.). Es löst sich nicht in Wasser, mäßig in Alkohol, gut in Chloroform.

Methoxyl-Bestimmung nach Zeisel: 9.322 mg Sbst.: 3.88 mg AgJ.

C₂₀H₂₅N₃O, C₆H₃N₃O₇. Ber. OCH₃ 5.61. Gef. OCH₃ 5.50.

Prodigiosin-Salicylat.

Die Darstellung erfolgt ähnlich wie die des Pikrats, indem zu der alkohol. Prodigiosin-Lösung eine alkohol. Salicylsäure-Lösung und Wasser bis zur beginnenden Trübung zugesetzt wird. Die Krystalle werden bei 80° im Vakuum getrocknet.

4.540 mg Sbst.: 11.62 mg CO₂, 2.81 mg H₂O. — 4.716 mg Sbst.: 0.366 ccm N (18° 749 mm). — 5.498 mg Sbst.: 0.439 ccm N (18°, 758 mm).

C₂₀H₂₅N₃O, C₇H₆O₃ (461.3). Ber. C 70.24, H 6.77, N 9.11.

Gef. „, 69.81, „, 6.92, „, 8.97, 9.34.

C₂₁H₂₇N₃O, C₇H₆O₃ (475.3). Ber. C 70.69, H 7.00, N 8.84.

C₂₀H₂₇N₃O, C₇H₆O₃ (463.3). Ber. C 69.93, H 7.18, N 9.07.

Das Salicylat bildet millimeterlange Nadeln von schönem Goldglanz. Sie sintern bei 176° und schmelzen bei 178° (unkorr.), sind unlöslich in Wasser, mäßig löslich in Alkohol, leicht löslich in Chloroform.

Molekulargewichts-Bestimmung. Eine ebullioskopische Bestimmung des Salicylats in Alkohol gab keine Erhöhung des Siedepunkts.

0.106 mg Sbst. in 24.9 g Bromoform: Gefrierpkts.-Erniedrig.: Δ = 0.121°.

C₂₀H₂₅N₃O, C₇H₆O₃. Ber. Mol.-Gew. 461.3. Gef. Mol.-Gew. 507.

Prodigiosin-Benzoeat.

Die Darstellung ist entsprechend der des Salicylats. Die Krystalle werden im Vakuum bei 80° getrocknet.

18.595 mg Sbst. braucht. 22.65 ccm n_{10} -Ba(OH)₂ für C + 12.40 ccm n_{10} -Ba(OH)₂ für H. — 4.690 mg Sbst.: 12.47 mg CO₂, 2.97 mg H₂O. — 4.345 mg Sbst.: 11.58 mg CO₂, 2.79 mg H₂O. — 4.428 mg Sbst.: 0.364 ccm N (18°, 758 mm).

C₂₀H₂₅N₃O, C₇H₆O₂ (445.3). Ber. C 72.76, H 7.02, N 9.44.
Gef. „ 73.08, 72.49, 72.68, „ 6.72, 7.09, 7.18, „ 9.62.

C₂₁H₂₇N₃O, C₇H₆O₂ (459.3). Ber. C 73.16, H 7.24, N 9.15.

C₂₀H₂₇N₃O, C₇H₆O₂ (447.3). Ber. C 72.43, H 7.44, N 9.40.

Die goldglänzenden Krystallnadeln sintern bei 168° und schmelzen bei 170° (unkorr.). Die Löslichkeit ist ganz ähnlich der des Salicylats.

Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft danken wir für Mittel, die zur Durchführung der Arbeit benötigt wurden.

424. Erwin Ott:

Berichtigung zu der Mitteilung von K. v. Auwers und K. Schaum zur Isomerie der Methyl-diphenyl-pyrazole.

(Eingegangen am 13. Juli 1929.)

Zu der Angabe von K. v. Auwers und K. Schaum¹⁾, daß K. Schaum 1914, Dufraisse und besonders Weygand im Jahre 1926 als erste gezeigt hätten, daß Isomeren, für deren Auftreten wir zurzeit noch keine befriedigende Erklärung kennen, in bestimmten Körperklassen mit einer gewissen Regelmäßigkeit auftreten, erlaube ich mir berichtigend zu bemerken, daß ich darauf bereits im Jahre 1912 nicht nur nachdrücklich aufmerksam gemacht habe, sondern daß ich die Regelmäßigkeit dieser Erscheinung bereits mit unter die Konstitutions-Beweise für die unsymmetrische Formel der Maleinsäurechloride aufgenommen habe²⁾. Für die damals in die Zusammenstellung mit aufgenommenen Tetrachloride der Phthalsäure (und dementsprechend vermutlich auch für die der Dichlor-maleinsäure) hat die rätselhafte Isomerie allerdings inzwischen eine sehr natürliche Erklärung durch rein chemische Isomerie gefunden³⁾, für die anderen 3 Fälle, von denen ich den des Chlor-maleinsäure-chlorids besonders genau untersucht und beschrieben habe⁴⁾, bleibt die festgestellte „Dimorphie“ in ihrem regelmäßigen Auftreten bei γ -Lactonen noch ebenso unerklärlich wie die seither von Dufraisse, Weygand und von Auwers und Schaum untersuchten Isomeren in anderen Klassen von organischen Verbindungen.

¹⁾ K. v. Auwers und K. Schaum, B. **62**, 1676 [1929].

²⁾ A. **392**, 256 [1912]; B. **46**, 2172, Anmerk. 3 [1913].

³⁾ E. Ott, B. **55**, 2108 [1922].

⁴⁾ A. **392**, 260 [1912].