

Walter Siedel: Chemie und Physiologie des Blutfarbstoff-Abbaues.

[Vortrag, gehalten in der besonderen Sitzung der Deutschen Chemischen Gesellschaft in Wien am 10. Oktober 1943; eingegangen aus München am 25. Oktober 1943.]

Die roten Blutkörperchen des Menschen und der Tiere haben nur eine begrenzte Lebensdauer. In dem Prozeß, den man als „Blutmauserung“ bezeichnet, entstehen die Erythrozyten im Knochenmark und werden nach einer verhältnismäßig kurzen Spanne ihrer respiratorischen Funktion wieder eingeschmolzen und durch neue ersetzt. Mit diesem biologischen Vorgang auf das engste verknüpft ist ein rein chemischer Prozeß, und zwar der Aufbau und der Abbau des roten Blutfarbstoffes, des Hämoglobins, und dessen prosthetischer Komponente, des Häms oder Hämatins. Das gleiche Schicksal erleidet auch das Hämoglobin des Muskels, das Myoglobin, das in seiner Farbkomponente mit dem Hämoglobin des Blutes übereinstimmt, sich jedoch im Eiweißanteil von ihm unterscheidet. Während wir über den Chemismus des Aufbaues des roten Blutfarbstoffes noch nichts aussagen können, sind wir über die Vorgänge des biologischen Abbaues heute ziemlich genau unterrichtet, und zwar durch das Studium der Gallenfarbstoffe und ihrer Leukoverbindungen. Sie entstehen als charakteristische Umwandlungsprodukte aus dem Blutfarbstoff.

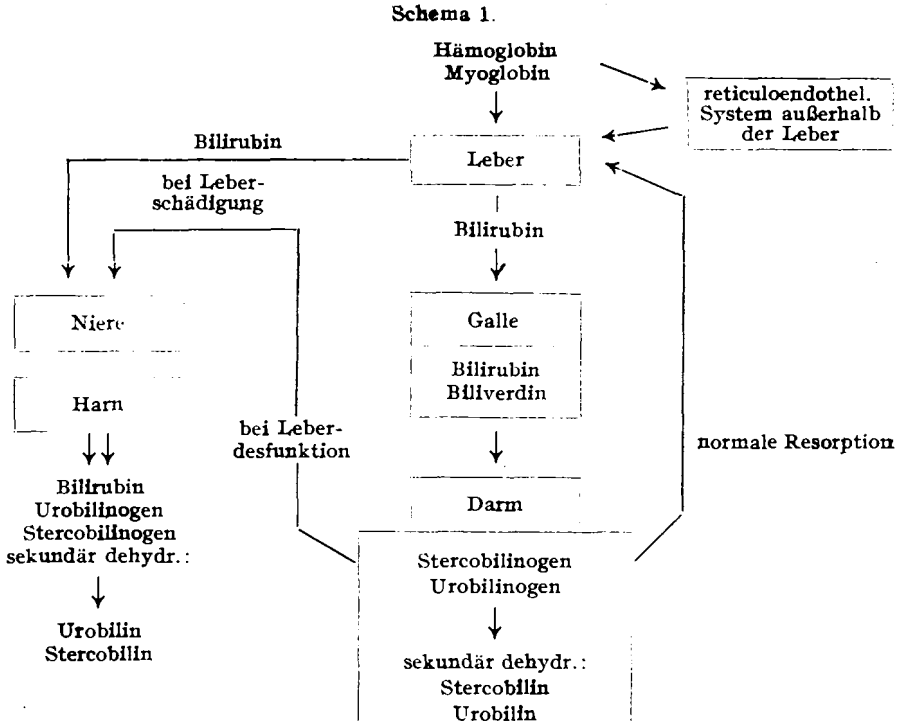
Durch L. Aschoff¹⁾ und seine Schule ist die seit langem gestellte Frage, ob sich die biologische Erythrozytolyse, also die physiologisch-normale Auflösung der roten Blutkörperchen im Organismus, nur in der Leber oder auch extrahepatisch vollzieht, endgültig geklärt worden. Es hat sich herausgestellt, daß für die Erythrozytolyse ein bestimmtes Zellsystem, das reticuloendotheliale System, verantwortlich ist. Die Zellen dieses Systems finden sich vorzugsweise — als „Kupffersche Sternzellen“ — in der Leber, daneben aber auch im Reticulum der Milz, im Knochenmark, in den Pfortadercapillaren und in den Lymphknoten. Auch im strömenden Blute findet mit großer Wahrscheinlichkeit Erythrozytolyse statt²⁾.

Das Schema 1 veranschaulicht in rohen Umrissen die weiteren Zusammenhänge zwischen Blutfarbstoffabbau und Gallenfarbstoffbildung sowie die Pathologie der Gallenfarbstoffe. — Nach der Phagozytierung der roten Blutkörperchen entsteht aus dem Hämoglobin (sowie dem Myoglobin des Muskels) als erstes faßbares Abbauprodukt das Bilirubin, und zwar tritt es in der Galle auf. Unter pathologischen Umständen findet sich dort auch sein Dehydrierungsprodukt, das grüne Biliverdin. Mit dem Galleninhalte werden dann diese Farbstoffe kontinuierlich in den Darm sezerniert. Bei der Passage des Dickdarmes wird das Bilirubin zu der Leukoverbindung Stercobilinogen reduziert. Daneben tritt als weitere Leukoverbindung das Urobilinogen auf. Diese beiden Chromogene können sekundär, besonders an der Luft, wieder zu gelben Farbstoffen, dem Stercobilin und dem Urobilin dehydriert werden. Einzelheiten dieser Vorgänge werden auf Seite 30 näher geschildert.

Eine vermehrte Ausscheidung der Leukoverbindungen wurde bei den verschiedensten Krankheiten festgestellt, so bei Malaria, Scharlach, Tetanus, Typhus, Diabetes, pernicioöser Anämie, hämolytischem Ikterus und bei Blut-

¹⁾ Klin. Wschr. **11**, 1620 [1932].

²⁾ A. Csike, Dtsch. Arch. klin. Med. **164**, 236 [1929]; M. Engel, Dissertat. Zürich 1935.



ergüssen in das Gewebe, also hauptsächlich bei Erkrankungen, die einen erhöhten Zerfall von roten Blutkörperchen zur Folge haben.

Ein Teil der Leukoverbindungen wird durch den Darm resorbiert und wird im normalen Organismus über den kleinen Kreislauf durch die Pfortader wieder der Leber zugeführt. Nur ein kleiner Teil, eigentlich nur Spuren der Leukoverbindungen, gelangen über den großen Kreislauf durch die Niere zur Ausscheidung.

Bei Insuffizienz der Leber ist jedoch diese Ausscheidung stark erhöht, so bei Stauungsleber, Lebercirrhose, carcinomatösen Erkrankungen der Leber, katarrhalischem Ikterus, aber auch bei Vergiftungen mit Kohlenoxyd, Phosphor, Alkohol, Blei und Chloroform (Narkose). Man spricht dann von einer Urobilinurie bzw. Urobilinogenurie.

Im Harn kann aber auch das Bilirubin selbst auftreten (Bilirubinurie), und zwar, wenn der Schwellenwert der Bilirubin-Konzentration im Blut überschritten wird. Dies ist der Fall bei Schädigung der Leberzellen, bei Verschuß der Gallenwege und bei gesteigertem Zerfall der Erythrozyten (z. B. bei perniziöser Anämie). Parallel damit treten die äußeren Merkmale des Ikterus auf. — Bei sehr starkem Bilirubinanstieg in der Leber, wie beim hämolytischen Ikterus, kommt das Bilirubin auch in den Faeces vor³⁾. Krystallisiert findet sich das Bilirubin oft in Cysten und Blutextravasaten (als Virchows „Hämatoidin“⁴⁾), ein Vorkommen, das allein schon die extrahepatische Bilirubin-Bildung beweist.

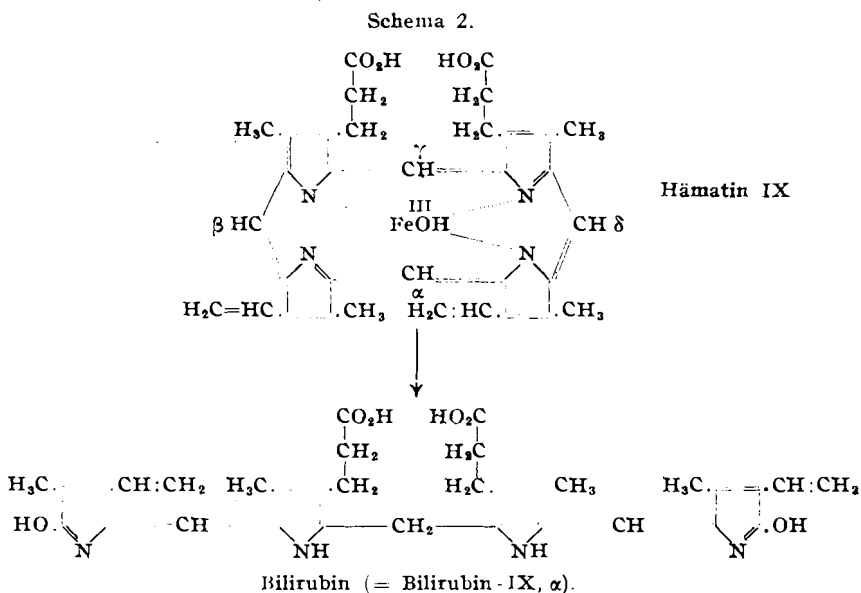
³⁾ H. Fischer u. H. Libowitzky, Ztschr. physiol. Chem. 258, 255 [1939].

⁴⁾ H. Fischer u. F. Reindel, Ztschr. physiol. Chem. 127, 299 [1923].

Bilirubin, Mesobilirubin, Glaukobilin, Biliverdin.

Die Chemie der Gallenfarbstoffe beginnt 1824 mit Friedrich Tiedemann und Leopold Gmelin⁵⁾, und zwar mit der Entdeckung einer sehr charakteristischen Farbreaktion des Bilirubins mit konz. Salpetersäure, einer qualitativen Probe, die heute allgemein als „Gmelinsche Reaktion“ bekannt ist. Dann gelang es G. Städeler⁶⁾ in Wien 1864 erstmals, das Bilirubin aus Rindergallensteinen krystallisiert zu isolieren. Von H. Fischer⁷⁾ ist es später auch aus menschlichen Gallenkonkrementen sowie aus Faeces bei hämolytischem Icterus gewonnen worden. Nach einem neueren Verfahren von J. D. Porsche⁸⁾ und Mitarbeitern kann es auch direkt aus der Galle über sein Calciumsalz dargestellt werden. Es ist ein orangegelber Farbstoff.

Die Beziehungen des Bilirubins zum Blutfarbstoff wurden von W. Küster⁹⁾ aufgefunden. Bei der Oxydation von Bilirubin erhielt er die Hämatinsäure, die er später auf dem gleichen Wege auch aus dem Hämatin gewinnen konnte. Die weiteren strukturchemischen Zusammenhänge zwischen Gallenfarbstoff und Blutfarbstoff wurden von H. Fischer und seiner Schule¹⁰⁾ aufgeklärt. Die Arbeiten führten im Jahre 1933 zur Aufstellung der endgültigen Konstitutionsformel des Bilirubins¹¹⁾.



Wie aus dem Schema 2 hervorgeht, stellt das Bilirubin ein direktes Aufspaltungsprodukt des Protoporphyrins dar. Nach der Entfernung des

⁵⁾ Die Verdauung nach Versuchen, Leipzig-Heidelberg 1826, Bd. I, 80.

⁶⁾ A. **132**, 325 [1864].

⁷⁾ Ztschr. physiol. Chem. **73**, 204 [1911].

⁸⁾ J. D. Porsche, E. F. Pike u. L. Gabby, Amer. Pat. 2166073 (C. **1940** I, 936); vergl. auch H. Libowitzky, Ztschr. physiol. Chem. **263**, 267 [1940].

⁹⁾ B. **30**, 1831 [1897].

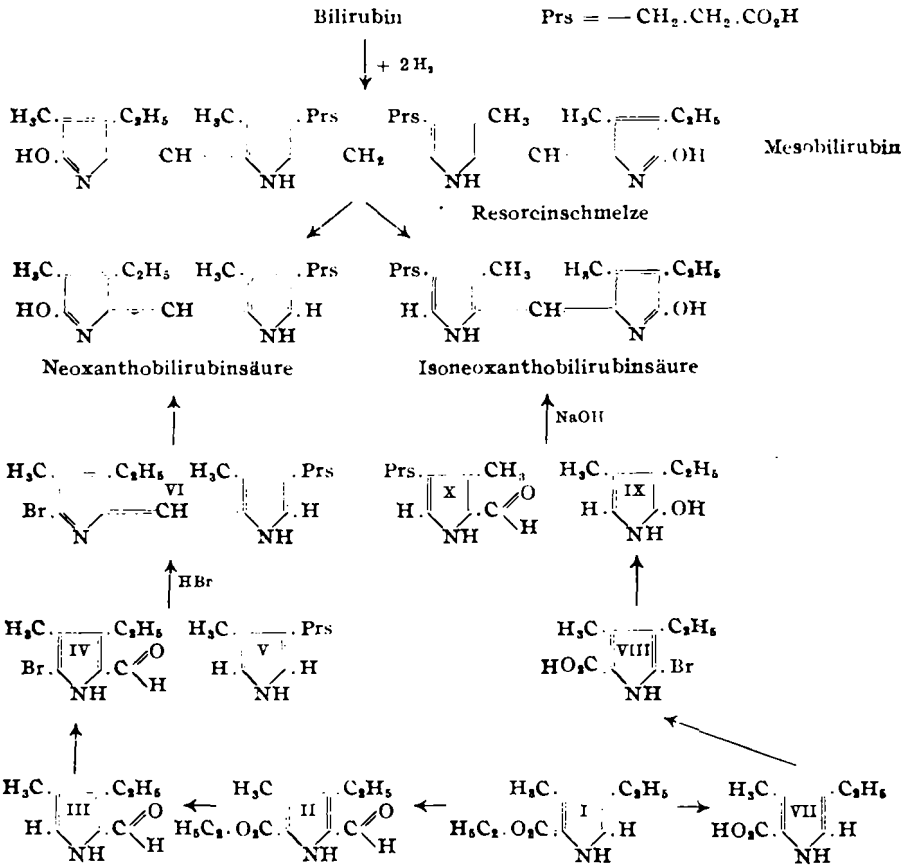
¹⁰⁾ Neuere Zusammenfassungen vergl.: W. Siedel, Chemie **56**, 185 [1943]; Angew. Chem. **53**, 397 [1940]; Fortschritte der Chemie organ. Naturstoffe (L. Zechmeister), Bd. **3**, 81 [1939], Wien.

¹¹⁾ W. Siedel u. H. Fischer, Ztschr. physiol. Chem. **214**, 145 [1933].

Eisens aus dem Hämatin ist die α -Methinbrücke aus dem Porphyrinring herausgenommen worden, und an den endständigen Pyrroleninringen sind Hydroxylgruppen eingetreten. Gleichzeitig hat eine Hydrierung der mittleren Methinbrücke und des benachbarten Pyrroleninringes stattgefunden.

Wird das Bilirubin mit koll. Palladium in alkalischer Lösung hydriert, so entsteht unter Absättigung der beiden β -ständigen Vinylgruppen das Mesobilirubin¹²⁾. Im Farbcharakter des Bilirubins ist dabei keine wesentliche Änderung eingetreten. Bei der Resorcinschmelze des Mesobilirubins resultiert als Abbauprodukt die „Neoxanthobilirubinsäure“¹³⁾, die sich als Gemisch von zwei Isomeren, der Neoxanthobilirubinsäure und der Isonoxanthobilirubinsäure erwiesen hat¹¹⁾. Diese letztere Feststellung, zu der die Synthesen dieser beiden Säuren führten, erbrachten den Beweis, daß das Bilirubin und damit die natürlichen Gallenfarbstoffe unsymmetrisch gebaut sind und in der Anordnung der β -Substituenten mit dem Hämatin übereinstimmen.

Schema 3.



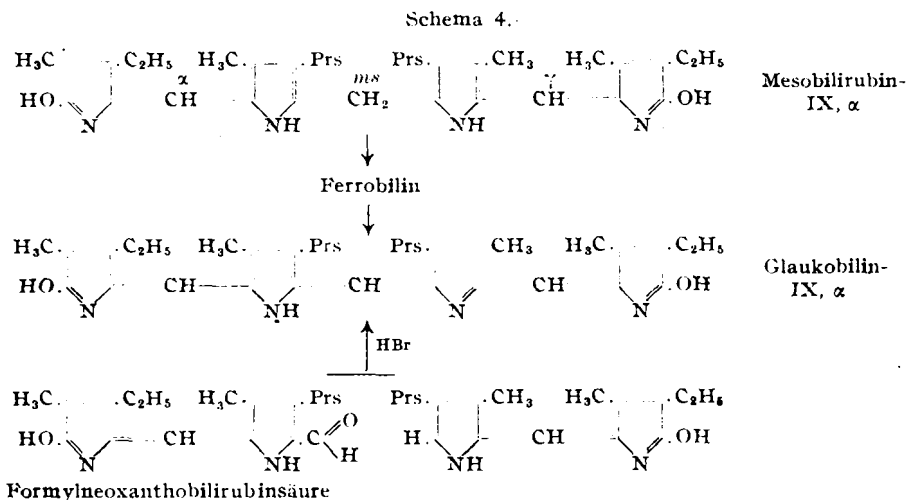
¹²⁾ H. Fischer, B. 47, 791 [1914]; Ztschr. Biol. 65, 163 [1914].

¹³⁾ H. Fischer u. R. Hess, Ztschr. physiol. Chem. 194, 193 [1931].

Da sich das Bilirubin und die natürlichen Bilirubinoide vom Hämin IX bzw. Protoporphyrin IX ableiten, erhalten sie zum Unterschied von einer Reihe synthetischer Bilirubinoide die Ziffer IX, dazu noch den Buchstaben α (also —IX, α) im Hinblick auf die Aufspaltung des Porphyrinringes an der α -Methinbrücke.

Bei der Synthese der Neoxanthobilirubinsäure¹¹⁾ wird ausgehend von dem 3-Methyl-4-äthyl-2-carbäthoxy-pyrrol (I) mittels HCN—HCl das 3-Methyl-4-äthyl-5-formyl-2-carbäthoxy-pyrrol (II) dargestellt. Durch Verseifung und Decarboxylierung entsteht daraus das 3-Methyl-4-äthyl-5-formyl-pyrrol (III), das, mit Brom in Eisessig umgesetzt, das 2-Brom-3-methyl-4-äthyl-5-formyl-pyrrol (IV) ergibt. Durch Kondensation dieses Pyrrols mit Opsopyrrolcarbonsäure (V) entsteht das Pyromethen VI, dessen Brom-Atom schließlich mittels NaOCH₃—H₂O gegen die Hydroxylgruppe ausgetauscht wird. — Bei der neuesten Synthese der Isonoxanthobilirubinsäure¹⁴⁾ wird ebenfalls vom Pyrrol I ausgegangen. Nach der Verseifung der Carbäthoxygruppe zu VII wird durch Bromierung das 5-Brom-3-methyl-4-äthyl-2-carboxy-pyrrol (VIII) dargestellt. In einer eigenartigen „intramolekular gekoppelten Reaktion“ gelingt es, mittels wäbr. Salzsäure oder Bromwasserstoffsäure die Decarboxylierung und den gleichzeitigen Austausch des Brom-Atoms gegen die Hydroxylgruppe zu erzielen (IX). Durch alkalische Kondensation¹⁵⁾ dieses Pyrrols mit Formyl-opsopyrrolcarbonsäure (X) erhält man die Isonoxanthobilirubinsäure.

Vom Mesobilirubin aus gelangten nun H. Fischer, H. Baumgartner und R. Hess¹⁶⁾ durch Oxydation mittels Ferrichlorid in Eisessig über eine Bilirubinoid-FeCl₃-HCl-Molekülverbindung (Ferrobilin) zu einem neuen Typ eines Bilirubinoids, und zwar zu einem in neutralem Medium blauen Farbstoff. Sie nannten ihn Glaukobilin und vermuteten schon, daß ihm die im Schema 4 aufgezeichnete Konstitution zukommt, daß also eine Dehydrierung an der *ms*-Methylenbrücke des Mesobilirubins und einer der benachbarten



¹⁴⁾ W. Siedel, A. 554, 157 [1943].

¹⁵⁾ H. Plieninger u. H. Lichtenwald, Ztschr. physiol. Chem. 273, 206 [1942].

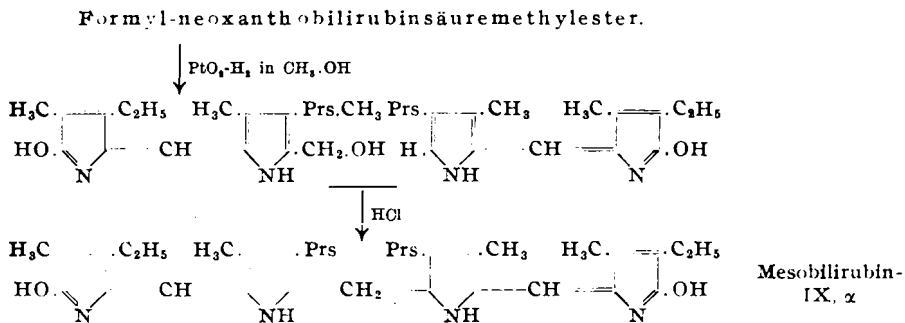
¹⁶⁾ Ztschr. physiol. Chem. 206, 201 [1932].

Iminogruppen eingetreten ist. Durch diese Dehydrierung wird die durchlaufende Konjugation der Doppelbindungen geschaffen und damit die große Zahl von Grenzanordnungen, die sowohl die tiefe Farbe der Substanz als auch die reaktive Eigenart bedingen. Endgültig bewiesen wurde die Konstitution durch die Totalsynthese¹⁷⁾.

Bei dieser Synthese, die gleichzeitig die erste Synthese eines unsymmetrischen Bilirubinoids war, wurde in den Neoxanthobilirubinsäuremethylester mittels Blausäure und Salzsäure die Formylgruppe eingeführt. Der so erhaltene Formyl-neoxanthobilirubinsäure-methylester wurde mit Bromwasserstoffsäure in Methanol mit Isonoxanthobilirubinsäure kondensiert. Durch Wasserabspaltung zwischen beiden Komponenten entstand (unter vollständiger Veresterung) der Glaukobilin-IX, α -dimethylester.

Anschließend an diese Synthese gelang es auch, den Formyl-neoxanthobilirubinsäuremethylester katalytisch (mit PtO_2 in Methanol) zum Oxy-methyl-neoxanthobilirubinsäuremethylester zu reduzieren und durch Kondensation dieses Produktes mit der Isonoxanthobilirubinsäure das Mesobilirubin-IX, α direkt zu synthetisieren¹⁸⁾.

Schema 5.



In Parallele zur Dehydrierung des Mesobilirubins zum Glaukobilin steht die Dehydrierung des Bilirubins zum Biliverdin (vergl. Schema 6). Dieser blaugrüne Farbstoff ist identisch mit dem Uteroverdin¹⁹⁾, das von G. Breschet 1830 in den grünen Säumen der Hundeplazenta entdeckt worden ist. Neuerdings ist das Biliverdin auch aus anderem biologischen Material, wie z. B. der Pferdeleberkatalase, mittels Eisessig isoliert worden²⁰⁾. Dargestellt wird das Biliverdin entweder durch Einwirkung von Chinon²¹⁾ oder Ferrichlorid¹⁹⁾ auf Bilirubin. Von H. Fischer und H. Plieninger²²⁾ ist im vergangenen Jahre schließlich auch die Totalsynthese des Biliverdins durchgeführt worden (Schema 6). Dabei werden die β -ständigen Vinylgruppen

¹⁷⁾ W. Siedel, Ztschr. physiol. Chem. **237**, 8 [1935].

¹⁸⁾ W. Siedel, Ztschr. physiol. Chem. **245**, 257 [1937].

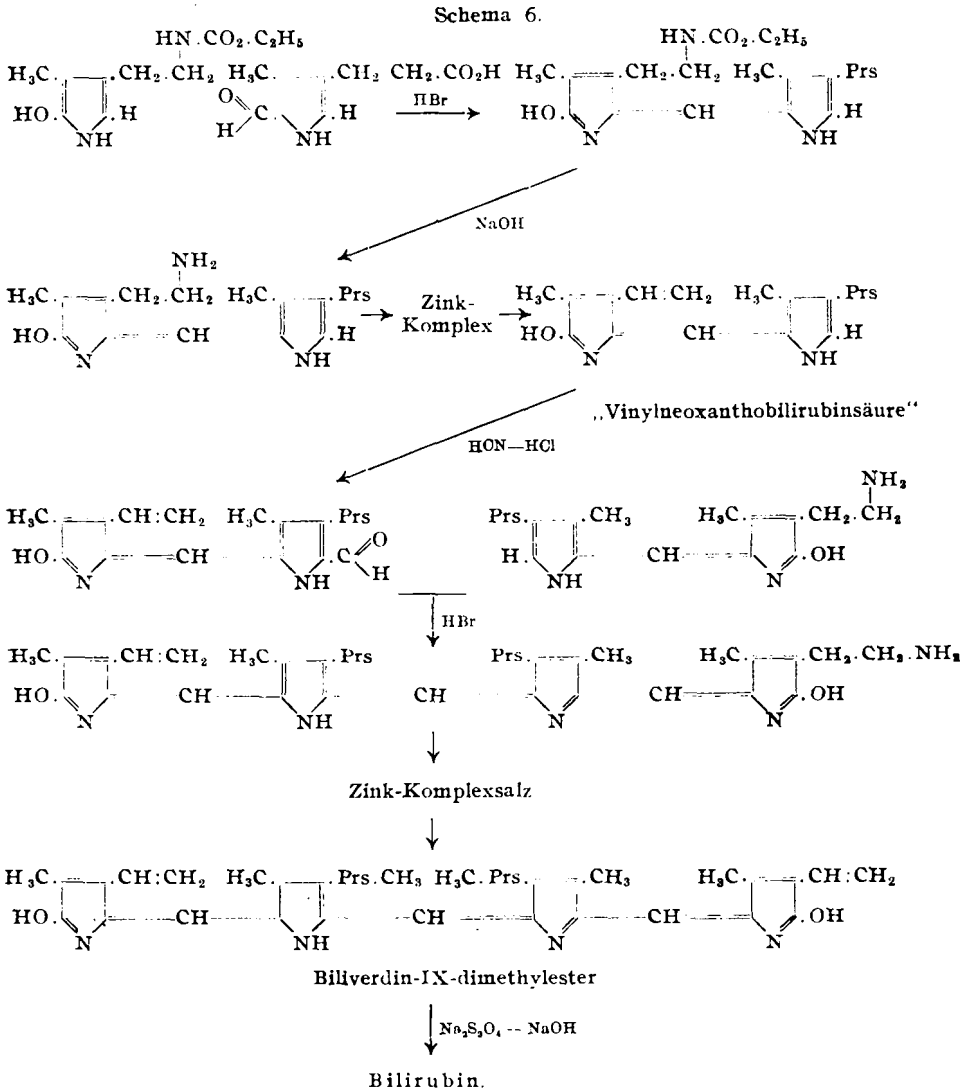
¹⁹⁾ R. Lemberg u. J. Barcroft, Proc. Roy. Soc. [London], Ser. B. **110**, 361 [1932].

²⁰⁾ J. B. Sumner u. A. L. Dounce, Journ. biol. Chem. **121**, 417 [1938]; R. Lemberg, Nature [London] **144**, 551 [1939]; R. Lemberg u. J. W. Legge, Biochem. Journ. **87**, 117 [1943].

²¹⁾ H. Fischer u. H. Reinecke, Ztschr. physiol. Chem. **265**, 9 [1940].

²²⁾ Ztschr. physiol. Chem. **274**, 231 [1942].

ausgehend von Propionsäurehydrazid-Resten über die Äthylurethan- und Äthylaminogruppen und deren Hofmannschen Abbau gewonnen. Es wurde schließlich (vergl. Schema 6) die „Vinylneoxanthobilirubinsäure“ dargestellt



und diese nach Einführung der Formylgruppe mit der entsprechend synthetisierten Amino-isonoxanthobilirubinsäure zum vierkernigen Produkt kondensiert. Nach erneutem Hofmannschen Abbau (vorgenommen am Zink-Komplexsalz) und Veresterung mit Methanol-Chlorwasserstoffsäure wurde der Biliverdindimethylester erhalten. Die Reduktion desselben mit alkalischer Natriumdithionit-Lösung führte zum Bilirubin selbst.

Urobilinogen, Stercobilinogen, Urobilin, Stercobilin.

Schon die Betrachtung der Formeln des Mesobilirubins und des Glaukobilins zeigt, daß für die Unterschiede in den Eigenschaften der Bilirubinoide vor allem die Anlage der Doppelbindungen im Brückensystem ausschlaggebend ist. Daß tatsächlich die Verteilung der Brücken-Methin- und -Methylengruppen und nicht etwa Unterschiede in den β -Substituenten das Wesentliche für den Charakter des Bilirubinoide sind, wurde durch die gleichzeitige Konstitutionsaufklärung und Synthese des Urobilins erneut erhärtet und sichergestellt²³⁾.

Das Urobilin wurde 1868 von M. Jaffé in menschlicher Galle und in Hundegalle entdeckt, 1869 auch im Harn. Sein Zink-Komplexsalz ist durch eine intensive Grünfluoreszenz charakterisiert (Schlesingersche Reaktion). Schon Jaffé erkannte, daß das Urobilin ein Sekundärprodukt ist und durch Oxydation einer Leukoverbindung entsteht. Diese Leukoverbindung ist das Urobilinogen. Sie wurde von H. Fischer und F. Meyer-Betz²⁴⁾ erstmals aus dem Harn krystallisiert isoliert und mit dem farblosen Natrium-Amalgam-Reduktionsprodukt des Bilirubins, dem Mesobilirubinogen, identifiziert. Es wurde damit auf rein chemischem Wege die Brücke vom Bilirubin zum physiologischen Umwandlungsprodukt geschlagen.

Da das Urobilin durch Dehydrierung des Urobilinogens entsteht und aus diesem (erstmalig von C. J. Watson²⁵⁾) durch Behandlung mit Eisessig-Luftsauerstoff krystallisiert dargestellt worden war, war die Annahme naheliegend, daß bei dieser Dehydrierungsreaktion ein ganz ähnlicher Mechanismus vorliegt wie bei der Bildung des Glaukobilins aus Mesobilirubin, also eine Überführung der mittleren Methylenbrücke in eine Methinbrücke²³⁾¹⁸⁾. Tatsächlich führte auch die Kondensation der Formyl-neobilirubinsäure (erhalten durch Reduktion der Formyl-neoxanthobilirubinsäure mit Pd-H₂ in Alkali) mit der Isonobilirubinsäure (erhalten aus Isonoxanthobilirubinsäure durch Amalgamreduktion) zum Urobilin (= Urobilin-IX, α) (vergl. Schema 7). Mit der Formel des Urobilins stehen auch die Bildung eines Monohydrochlorids sowie der Übergang in die Leukoform unter Aufnahme eines Moleküls Wasserstoff im Einklang.

In Gemeinschaft mit dem Urobilin, ja dieses im allgemeinen sogar an Menge übertreffend, kommt noch ein weiterer urobilinähnlicher Farbstoff in den Faeces und pathologisch im Harn vor. Es ist das schon eingangs genannte Stercobilin, das 1932 von C. J. Watson²⁶⁾ erstmals krystallisiert gewonnen worden ist. Die Aufklärung seines Verhältnisses zum Urobilin war Gegenstand eingehender Untersuchungen. Im Hinblick auf die außerordentliche Ähnlichkeit zwischen Stercobilin und Urobilin in Farbe, Lichtabsorption, Salzbildung und Grünfluoreszenz seines Zinkkomplexsalzes war nach der Synthese des Urobilins die Frage nach dem Brückenskelett des Stercobilins beantwortet. Die Anlage der Brücken-Methingruppen und -Methylengruppen mußte bei beiden Farbstoffen die gleiche sein. Nachdem durch die Überführung des Stercobilins in Glaukobilin mittels Schwefelsäure die Anordnung der β -Substituenten als identisch mit der des Urobilins erwiesen worden war, war entscheidend die Feststellung der optischen Aktivität

²³⁾ W. Siedel u. E. Meier, *Ztschr. physiol. Chem.* **242**, 101 [1936].

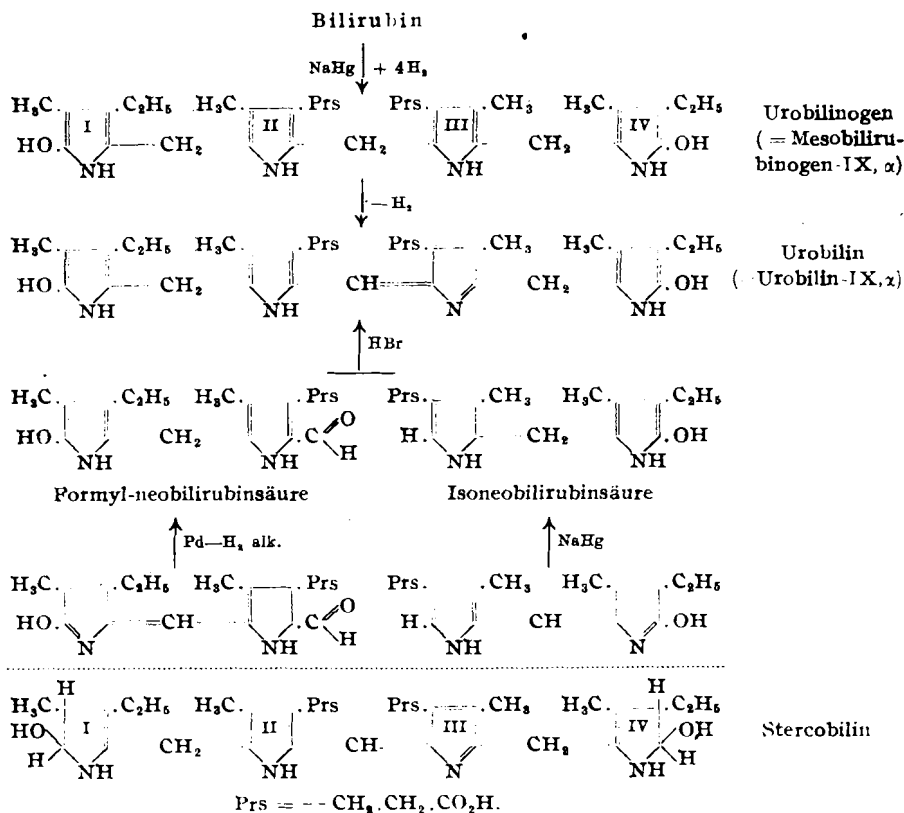
²⁴⁾ *Ztschr. physiol. Chem.* **75**, 232 [1911]; vergl. *Ztschr. Biol.* **65**, 163 [1914].

²⁵⁾ *Ztschr. physiol. Chem.* **221**, 145 [1933].

²⁶⁾ *Ztschr. physiol. Chem.* **204**, 57 [1932].

des Stercobilins²⁷⁾ sowie des Mehrgehaltes von vier Wasserstoffatomen gegenüber dem Urobilin²⁸⁾. Diese „überzähligen“ H-Atome müssen in den Kernen I und IV des Stercobilins sitzen, da nur die basischen Kerne bei der Oxydation optisch aktive Spaltstücke liefern²⁹⁾. Die Unterbringung der H-Atome in

Schema 7.



α , β -Stellung ist vorläufig willkürlich³⁰⁾. Die Aufrichtung von Doppelbindungen liefert jedenfalls die Asymmetriezentren, welche die optische Aktivität bedingen.

Wie dem Urobilin, so liegt auch dem Stercobilin eine Leukoverbindung zugrunde, und zwar das Stercobilinogen. Im Gegensatz zum Urobilinogen konnte es noch nicht zur Krystallisation gebracht werden. Wir haben damit als Leukoverbindungen des Bilirubins zwei Produkte zu unterscheiden: a) das Urobilinogen und b) das wasserstoffreichere Stercobilinogen. Sie finden sich beide nebeneinander in den Faeces und im Harn (in letzterem

²⁷⁾ H. Fischer, H. Halbach u. A. Stern, A. 519, 254 [1935].

²⁸⁾ F. Fischer u. H. Halbach, Ztschr. physiol. Chem. 238, 59 [1936].

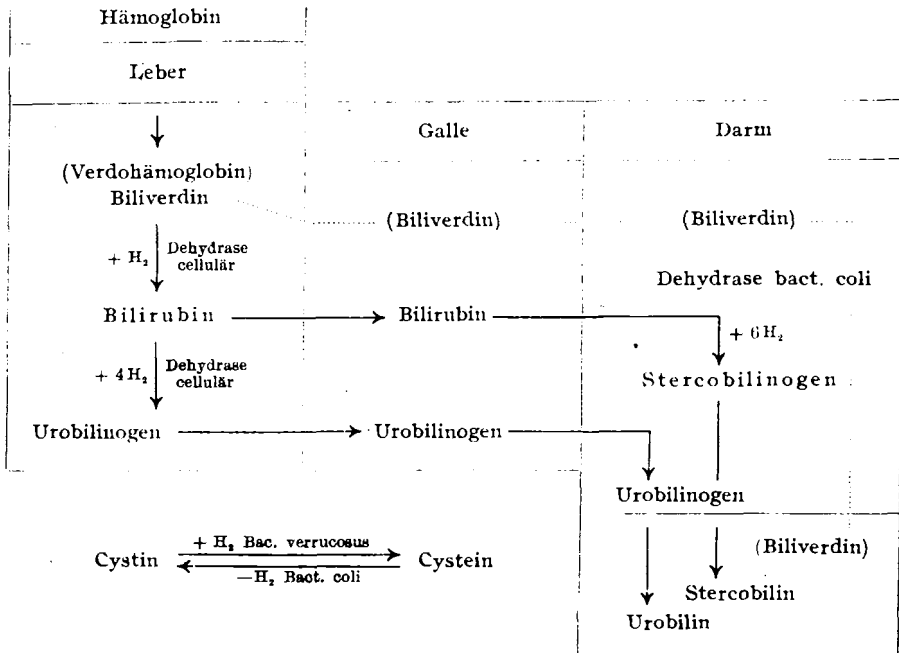
²⁹⁾ H. Fischer u. H. Libowitzky, Ztschr. physiol. Chem. 258, 255 [1939].

³⁰⁾ Vergl. W. Siedel u. E. Grams, Fußn. 52. Die Anlagerung der $-\text{OCH}_3$ -Gruppen an Glaukobilin rechtfertigt auch die Annahme einer Addition der H-Atome in α , β -Stellung der Kerne I und IV.

bei pathologischen Zuständen), das Verhältnis ist im allgemeinen 1:5, unterliegt aber oft großen Schwankungen³⁰⁾³¹⁾.

Nachdem schon Friedrich von Müller 1892 zeigen konnte, daß bei Einführung von Galle (also Bilirubin) per os bei einem Patienten mit vollständigem Verschuß des Ductus choledochus im Harn wie in den Faeces doch die Urobilinoide auftreten und weiter Bilirubin durch Darmbakterien bei Ausschluß von Luft in Urobilinoide übergeführt wird, war der Beweis der Abstammung der Urobilinoide vom Bilirubin erbracht. Im Hinblick auf diese Ergebnisse hat T. Baumgärtel³²⁾ in neuester Zeit das Problem der biologischen Bilirubin-Reduktion einer vertieften Bearbeitung unterzogen. Er konnte dabei zeigen, daß die Bilirubin-Reduktion mit dem bakteriellen Cystin-Abbau und dem Redoxsystem Cystin-Cystein verknüpft ist. Während schon H. Kämmerer³³⁾ feststellen konnte, daß die Bildung der Leukoverbindungen mit der Tätigkeit eines „Synergismus anaerober und aerober Bakterien“ verbunden ist, konnte Baumgärtel nunmehr nachweisen, daß der anaerobe *Bac. verrucosus* im Coecum das Cystin der Nahrung unter Bildung von Cystein reduziert und daß die Dehydrase des aeroben *Bacterium coli* den im Cystein locker gebundenen Wasserstoff auf das Bilirubin überträgt, und zwar nur unter Bildung von Stercobilinogen. Das Urobilinogen der Faeces ist nach Baumgärtel nicht enteralen, sondern nur hepatogenen Ursprungs. Es gelang ihm, Bilirubin, ja auch Biliverdin, mittels Leberbrei bei Gegenwart von Cystein zu Urobilinogen zu reduzieren. Die celluläre

Schema 8.



³¹⁾ C. J. Watson, Journ. biol. Chem. **114**, 47 [1935]; R. Lemberg u. Mitarb., Austral. J. exp. Biol. med. Sci. **16**, 169 [1938].

³²⁾ Klin. Wschr. **22**, 92, 297, 416, 457 [1943]; Z. ges. exp. Med. **112**, 459 [1943].

³³⁾ H. Kämmerer u. K. Miller, Dtsch. Arch. klin. Med. **141**, 318 [1923].

Dehydrase der Leber ist also fähig, das Biliverdin zum Bilirubin und dieses zum Urobilinogen zu reduzieren. Die Dehydrase des *Bact. coli* reduziert nicht Biliverdin, sie besitzt also nicht die Fähigkeit, eine mittelständige Methinbrücke bei den Bilirubinoïden zu einer Methylenbrücke zu hydrieren. Gelangt infolge eines erhöhten Anfalles von Biliverdin in der Leber und der Galle dieses Biliverdin in den Darm, so passiert es diesen unverändert, da es eben nur in der Leber (cellulär) reduziert werden kann. Im Schema 8 sind diese Verhältnisse noch einmal übersichtlich dargestellt.

Aufspaltung des Porphyrin-Ringes und Mechanismus der Gallenfarbstoffbildung.

Während die Prozesse der Umwandlung des Bilirubins in die Leukoverbindungen nunmehr weitgehend geklärt sind, ist noch die Frage nach dem Mechanismus der Bilirubin-Bildung selbst offen, also nach der Aufspaltung des Porphyrin-Ringes.

Wenn man sich vorstellt, daß der Porphyrin-Ring zum Bilirubinoid geöffnet wird, so muß man als Primärprodukt vor der Hydrierung zum Bilirubin das Biliverdin annehmen, denn es sind ja vorerst drei Methinbrücken vorhanden. Tatsächlich sind schon bei den ersten Versuchen, bei Einwirkung von Hefe bzw. Leberbrei auf eine Pyridin-Lösung von Hämin (H. Fischer und F. Lindner)³⁴ bzw. Einleiten von Sauerstoff in eine hydrazinhaltige Pyridin-Lösung von Hämin (O. Warburg und E. Negelein)³⁵ blaugrüne und grüne Farbstoffe beobachtet worden. R. Lemberg³⁶) konnte dann zeigen, daß diese „grünen Hämine“ mit Methanol-Salzsäure in einen Gallenfarbstoff vom Typ des Biliverdins überführbar sind. Versuche, die hierauf mit dem symmetrischen Kopro-I-tetramethylesterhämin als Modellsubstanz unternommen wurden³⁷), führten auch zur Isolierung von Zwischenprodukten und so zu einem weitreichenden Einblick in den Mechanismus der Porphyrinspaltung. Im Schema 9 sind die Ergebnisse dargestellt. Da bei der Aufspaltungsreaktion eine Reduktions- und eine Oxydationskomponente vorhanden sein müssen und so intermediär die Bildung von Hydroperoxyd verursacht sein könnte, wurde als Oxydationsmittel verdünntes Hydroperoxyd verwendet. Als erstes Produkt der Umsetzung des Kopro-I-tetramethylester-pyridinhämochromogens wurde so nach Behandlung der dabei auftretenden grünen Substanz mit 5-proz. methanolischer Salzsäure ein Oxykopro-I-esterchlorhämin gewonnen, das eine Oxygruppe an einer Methinbrücke trägt. Das zugrunde liegende Porphyrin ist durch eine dunkelblaue Lösungsfarbe und durch große Lichtempfindlichkeit ausgezeichnet. Bei der Einwirkung von Sauerstoff auf das Oxykopro-I-ester-chlorhämin in Pyridin entstand in der nächsten Stufe ein Farbstoff mit dem charakteristischen Spektrum eines „grünen Hämins“ oder eines Verdohämochromogens. Durch erneute Behandlung mit methanolischer Salzsäure wurde daraus das krystallisierte Kopro-I-ester-verdochlorhämin erhalten, das an Stelle einer Methingruppe eine Ketogruppe als Brücke besitzt. Mittels Alkali und anschließender Behandlung mit methanolischer Salzsäure wurde dieses schließlich über eine braune Zwischen-

³⁴) Ztschr. physiol. Chem. 153, 54 [1925].

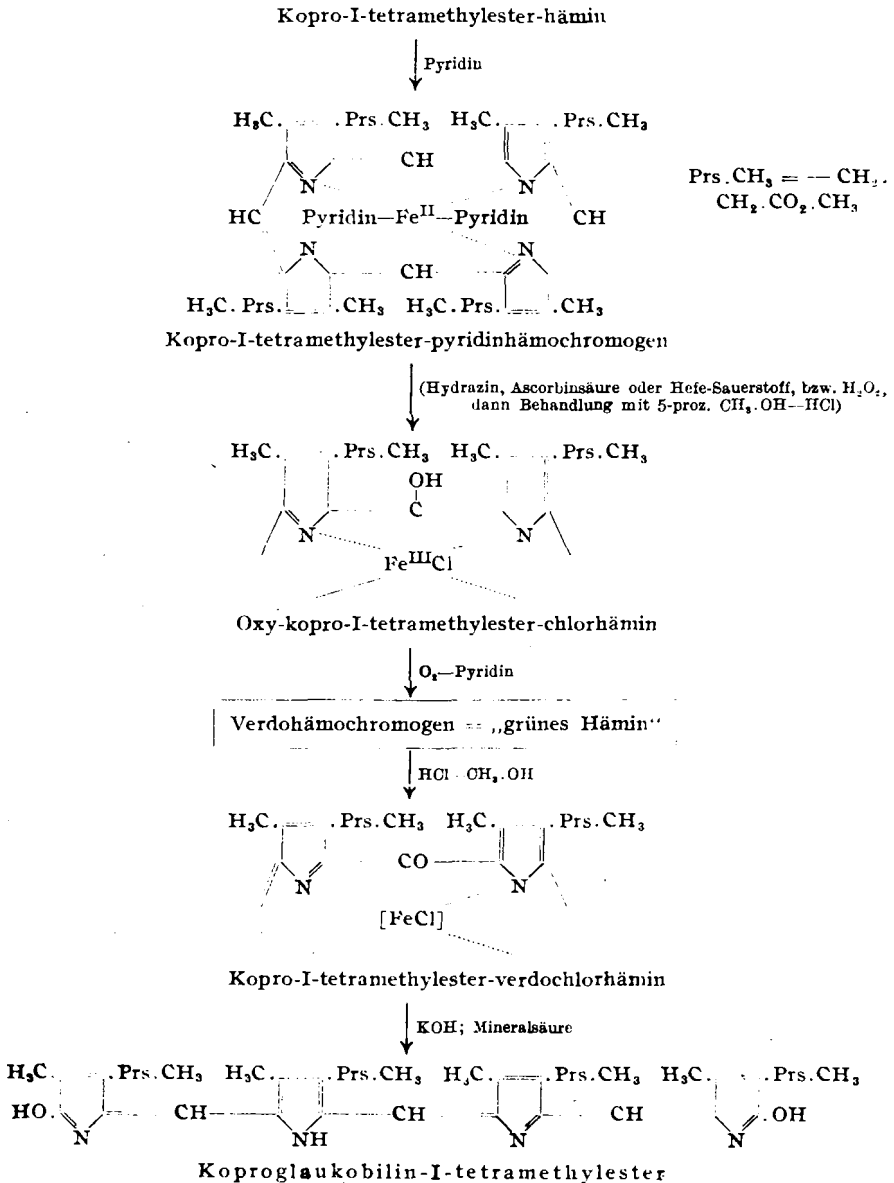
³⁵) B. 63, 1816 [1930].

³⁶) Biochem. Journ. 29, 1322 [1935].

³⁷) H. Fischer u. H. Libowitzky, Ztschr. physiol. Chem. 251, 198 [1938]; 255, 210 [1938]; H. Libowitzky, Ztschr. physiol. Chem. 265, 191 [1940].

phase hinweg in den blauen Kopro-glaukobilin-I-tetramethylester übergeführt und so die Aufspaltung zum Bilirubinoid vollendet. Da es möglich ist, das Kopro-I-ester-verdochlorhäm in mittels Pd-H_2 in Ameisensäure zu Koproporphyrin-I-tetramethylester zu hydrieren⁸⁸⁾, liegt in der Stufe des „grünen Hämins“ noch das intakte Porphyringerüst vor.

Schema 9.



⁸⁸⁾ E. Stier, Ztschr. physiol. Chem. 272, 239 [1942].

Setzen wir nun an die Stelle des Koprohämins das Häm und an die Stelle des Pyridins das Globin, so kommen wir zu den physiologischen Verhältnissen, zum Hämoglobin selbst. Daß bei der Gallenfarbstoff-Bildung die Umwandlung des Häms (oder Hämatins) erfolgt, während dieses noch an Globin gebunden ist, geht aus den Versuchen von R. Duesberg³⁹⁾ hervor, der eine schnelle Umwandlung des im Ascites injizierten Hämoglobins in Gallenfarbstoff im Organismus beobachtete, dagegen keine Steigerung der Bilirubinausbeute bei Hämatininjektion fand.

Analog den im Modellversuch beschriebenen grünen Zwischenprodukten dem „grünen Häm“ oder Verdohämochromogen wird auch im Organismus das Auftreten eines grünen Farbstoffes, des Verdoglobins, festgestellt. Wird dem Organismus vermehrt Hämoglobin angeboten, so tritt, wie M. Kiese⁴⁰⁾ fand, Verdoglobin in der Leber, in der Milz sowie im Blute auf. Im strömenden Blute kann das Verdoglobin aber auch bei Einwirkung verschiedener „Blutgifte“ beobachtet werden, wie Phenylhydrazin, Chlorat, Phenacetin + Schwefel und Sulfanilamiden⁴¹⁾. Schließlich wurde Verdoglobin auch aus krystallisierter Ochsen- und Pferdeleberkatalase sowie aus Schweineserum und Schweine-Erythrozyten dargestellt²⁰⁾⁴²⁾. Durch Spaltung mit Eisessig wurde aus dem Verdoglobin der Katalase das Biliverdin isoliert. Mit dem Verdoglobin, das auch mit dem „Pseudohämoglobin“ Barkans⁴³⁾ identisch ist, haben wir also ein Zwischenprodukt bei dem physiologischen Übergang von Hämoglobin zum Biliverdin vor uns.

Der Abbau des Hämoglobins wurde aber auch *in vitro* durchgeführt. Fußend auf Versuchen von P. Karrer, H. von Euler und H. Hellström⁴⁴⁾ ist von R. Lemberg⁴⁵⁾ und Mitarbeitern die gekoppelte Oxydation von Hämoglobin und Ascorbinsäure näher untersucht worden. Auch hier wurden grüne Produkte, „Verdohämochromogene“ (= Verdoglobine), erhalten. Im Modellversuch mit Pyridin-hämochromogen konnte auch die Oxydation einer Brücken-Methingruppe bewiesen werden. — Weitere Verdoglobine wurden mittels $\text{HCN-H}_2\text{O}_2$ und $\text{H}_2\text{S-O}_2$ aus Hämoglobin gewonnen. Sie unterscheiden sich spektroskopisch und im reaktiven Verhalten. Bei dem mit der letztgenannten Methode erhaltenen Verdoglobin, dem „Sulfhämoglobin“, machen neuere Untersuchungen⁴⁶⁾ die Existenz einer $>\text{C}=\text{S}$ -Brücke zwischen zwei Pyrrolkernen sehr wahrscheinlich.

Nach der Verdoglobinbildung im Organismus dürfte unter Abspaltung des Globins schließlich intermediär das Biliverdin gebildet werden. Es fällt dann im allgemeinen sofort der cellulären Hydrierung zum Bilirubin anheim. Dabei ist interessant, daß auch das Bilirubin die Tendenz zur Bindung an

³⁹⁾ Arch. exper. Pathol. Pharmacol. **174**, 305 [1934].

⁴⁰⁾ M. Kiese u. H. Kaeske, Biochem. Ztschr. **312**, 121 [1942]; M. Kiese, Naturwiss. **30** 587 [1942]; Klin. Wschr. **21**, 565 [1942] (Die Best. von Verdoglobin im Blute).

⁴¹⁾ Lit. bei W. Heubner, Klin. Wschr. **19**, 265, 289 [1940]; M. Kiese u. L. Seipelt, Arch. exper. Pathol. Pharmacol. **200**, 648 [1943].

⁴²⁾ R. Lemberg u. A. Wyndham, Journ. Proc. Roy. Soc. New South Wales **70**, 343 [1937]; R. Lemberg, M. Norrie u. J. W. Legge, Nature [London] **144**, 552 [1939].

⁴³⁾ G. Barkan u. O. Schales, Ztschr. physiol. Chem. **248**, 96 [1937]; **253**, 83 [1938].

⁴⁴⁾ Ark. Kemi, Mineral., Geol. Ser. B. **11**, Nr. 5, 6 [1933].

⁴⁵⁾ Biochem. Journ. **33**, 754 [1939].

⁴⁶⁾ H. A. W. Nijeld, Rec. Trav. chim. Pays-Bas **62**, 293 [1943].

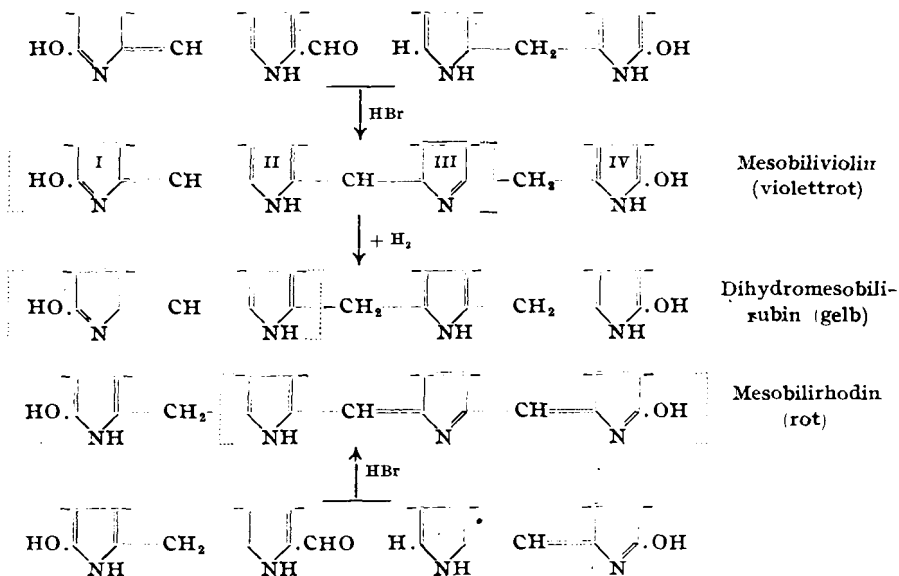
Eiweiß noch nicht verloren hat, denn es findet sich in der Galle teilweise wieder an Eiweiß gebunden, und zwar an Serumalbumin⁴⁷⁾.

Mesobiliviolin, Mesobilirhodin, Dihydromesobilirubin.

Nach den Synthesen des Glaukobilins, Mesobilirubins und Urobilins war es nun interessant festzustellen, wie sich der Farbcharakter des Bilirubinoide und damit die Gruppeneigenschaften ändern, wenn die Anlage der Brücken-Methin- und -Methylengruppen eine unsymmetrische ist. Die Darstellung der Neo- bzw. Isonobilirubinsäure sowie der Formyl-neobilirubinsäure ermöglichte diese Untersuchung⁴⁸⁾.

So führte die Kondensation der gelben Formyl-neoxanthobilirubinsäure mit der farblosen Neo- bzw. Isonobilirubinsäure zu einem rotvioletten Farbstoff, dem Mesobiliviolin. Umgekehrt ergab die Kondensation der farblosen Formyl-neobilirubinsäure mit der gelben Neo- bzw. Isonoxanthobilirubinsäure einen roten Farbstoff, das Mesobilirhodin. Bei beiden Farbstoffen umfaßt der Chromophor^{49a)} nur noch drei Kerne, der vierte ist durch die Methylenbrücke von der Farbgebung ausgeschaltet. Der Unterschied in den Chromophoren liegt nur in der Anordnung der Doppelbindungen bzw. der Pyrrol- und Pyrroleninkerne. Besonders bemerkenswert ist bei

Schema 10.



beiden Bilirubinoide der Unterschied in der Fluoreszenz ihrer Zink-Komplexsalzlösungen. Das Mesobiliviolin-Zn-Komplexsalz fluoresciert intensiv rot, das Mesobilirhodin-Zn-Komplexsalz dagegen nur schwach braungelb. Wie Seite 36 nochmals in anderem Zusammenhang dargestellt wird, hat sich

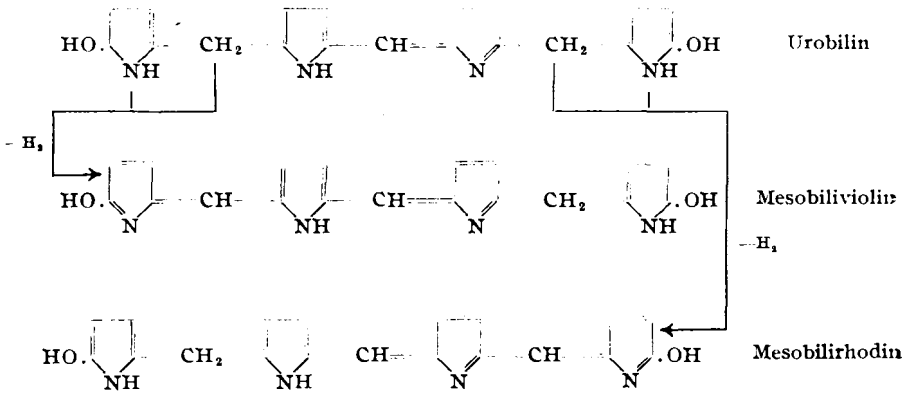
⁴⁷⁾ K. O. Pedersen u. J. Waldenström, *Ztschr. physiol. Chem.* **245**, 153 [1937].

⁴⁸⁾ W. Siedel u. H. Möller, *Ztschr. physiol. Chem.* **264**, 64 [1940].

^{49a)} Im Schema 10 durch Klammern gekennzeichnet.

gerade die Rotfluoreszenz des Mesobilivolin-Typs als eine ausgesprochene Gruppeneigenschaft erwiesen. — Das Gemisch der beiden isomeren Farbstoffe Mesobilivolin und Mesobilirhodin konnte schließlich mit dem violetten Farbstoff identifiziert werden (dem ursprünglichen „Mesobilivolin“), der durch Oxydation von Mesobilirubinogen (Urobilinogen) mittels Ferrichlorid erhalten wird⁴⁹). Es war möglich, dieses analytische Produkt durch chromatographische Adsorptionsanalyse in seine beiden Komponenten Mesobilivolin-IX, α und Mesobilirhodin-IX, α zu zerlegen¹⁷). Die Entstehung der beiden Verbindungen aus dem Urobilinogen erklärt sich zwanglos aus den Dehydrierungsmöglichkeiten des in erster Stufe gebildeten Urobilins. Die Dehydrierung der außenständigen Methylenbrücken und der benachbarten Iminogruppen führen beim Urobilin (vergl. Schema 11) entweder zu dem Produkt mit den benachbarten Pyrrol- und Pyrroleninkernen (Mesobilirhodin) oder zu dem mit der alternierenden Anordnung der Kerne (Mesobilivolin). — Das Mesobilivolin hat auch eine gewisse physiologische Be-

Schema 11.



deutung. Es ist mitunter als Begleiter der Urobilinoide bei deren Gewinnung aus den Faeces aufgetreten („Kopromesobilivolin“⁵⁰). Ohne Zweifel entsteht das Produkt erst bei der Aufarbeitung. Dennoch ist sein Auftreten von Wichtigkeit. Da es leicht aus dem Urobilinogen bzw. Urobilin entsteht, aber nur sehr schwer aus Stercobilinogen bzw. Stercobilin, spricht sein Vorkommen in den Aufarbeitungsprodukten der Faeces immer für das Vorhandensein von Urobilinogen.

Die katalytische Hydrierung der Mesobilivoline führt, wie in Schema 10 gezeigt ist, zur Umwandlung der mittelständigen Methinbrücke zu einer Methylenbrücke und damit zu einer Verkleinerung der chromophoren Gruppe. Das resultierende Produkt, das sogenannte „Dihydromesobilirubin“, ist dementsprechend nur noch ein gelber Farbstoff. Sein Isomeres IX, α ist schon früher aus den Mutterlaugen der Mesobilirubindarstellung isoliert worden⁶¹).

⁴⁹) H. Fischer u. G. Niemann, Ztschr. physiol. Chem. **137**, 293 [1924].

⁵⁰) C. J. Watson, Ztschr. physiol. Chem. **208**, 101 [1932].

⁶¹) H. Fischer u. H. Baumgartner, Ztschr. physiol. Chem. **216**, 260 [1933].

Die auf dem Wege der Synthese gewonnenen Erkenntnisse haben zu einer Einteilung der Bilirubinoide geführt, die sinnfällig aus dem Schema 12 hervorgeht. Je nach der Anzahl der von den Brücken ausgehenden Doppelbindungen werden die Bilirubinoide in vier Gruppen eingeteilt, in Bilane (als Leukoverbindungen), dann in Bili-ene, Bili-diene und Bili-triene. Wenn der Chromophor nur zwei Kerne umfaßt, dann ist das Bilirubinoide gelb (Urobilin, Stercobilin, Dihydromesobilirubin und Mesobilirubin), wenn er drei Kerne umfaßt, rot (Mesobiliviolin und Mesobilirhodin) und wenn die Konjugation durch das ganze Molekül hindurchläuft, blau oder blaugrün (Glaukobilin, Biliverdin).

Während das Glaukobilin rein blau ist, ist das Biliverdin grün. Die beiden β -Vinylgruppen des letzteren treten also noch in Beziehung zum Gesamtsystem der π -Elektronen und üben so eine farbvertiefende Wirkung aus. Beim Glaukobilin wird eine Verschiebung der Absorption nach längeren Wellen und damit Umschlag in Grün durch Salzbildung mit Säuren und durch Bildung von Metallkomplexen erreicht. Eine besonders interessante Rolle spielt dabei das Kupferkomplexsalz des Glaukobilins⁵²⁾. Bei ihm ist die Absorption bereits ins Ultrarot verschoben. Damit verknüpft ist eine Farbaufhellung der Verbindung nach Gelb. Wir haben in diesem Falle ein schönes Beispiel für die Erscheinung der sogenannten „Absorptionsfarbe zweiter Ordnung“⁵³⁾ vor uns.

Mesobilipurpurine, Mesocholetelin.

In die eben genannten Gruppen lassen sich nun auch die Bilirubinoide einordnen, deren Konstitution im Verlauf der Untersuchungen über den Reaktionsmechanismus der schon eingangs genannten Gmelinschen Reaktion klargestellt wurde.

Charakterisiert ist die Gmelinsche Reaktion durch ein Farbenspiel, das bei der Einwirkung von Oxydationsmitteln, insbesondere einem Gemisch von Salpetersäure und Salpetriger Säure auf Lösungen von Bilirubin bzw. Mesobilirubin beobachtet wird. Dabei schlägt die gelbe Farbe des Bilirubinoide über Grün, Blau, Violett, Rot und Orange wieder nach Gelb um. Die Untersuchungen haben gezeigt, daß in der ersten Stufe der Reaktion lediglich die Dehydrierung zum Glaukobilin bzw. Biliverdin eintritt. Im weiteren Verlauf besteht das Wesen der Umsetzung in einer Anlagerung⁵²⁾, und zwar wird bei der Ausführung der Reaktion mit dem „Gmelinschen Reagens“ (HNO_3 — HNO_2) im Beispiel des Glaukobilins ein Anlagerungsprodukt von HNO_2 an dieses isoliert. Bei einer neuartigen Ausführung der Gmelinschen Reaktion mit Brom-Methanol⁵³⁾ wurde entsprechend die Anlagerung zweier Methoxygruppen festgestellt.

Die neuen Produkte, die alle rote Farbstoffe darstellen, werden als Mesobilipurpurine bezeichnet. Unterschieden werden sie durch die Angabe des Maximums der Hauptabsorptionsbande ihrer Zink-Komplexsalze. Auf Grund der allgemeinen Eigenschaften, der Lichtabsorption und insbesondere der Rotfluoreszenz ihrer Zink-Komplexsalz-Lösungen müssen die Mesobilipurpurine (bzw. Bilipurpurine als Abkömmlinge des Bilirubins) den Bili-dienen vom Typ des Mesobiliviolins zugeordnet werden. Der Chromophor

⁵²⁾ W. Siedel u. E. Grams, Ztschr. physiol. Chem. **267**, 37 [1940].

⁵³⁾ J. Piccard, B. **46**, 1843 [1913].

Schema 12

	Bilane: Urobilinogen = Mesobilirubinogen Stercobilinogen	farblos
	Bili-ene: Urobilin Stercobilin	gelb
	Dihydromesobili- rubin	gelb
	Bili-diene: Mesobiliviolin	rotviolett
	Mesobilirhodin	rot
	Bilirubin Mesobilirubin	gelb
	Bili-triene: Glaukobilin Biliverdin	blau grün

Die Klammern kennzeichnen den Chromophor.

darf bei ihnen nur noch drei Pyrrolkerne umfassen, der vierte ist durch die Anlagerungsreaktion, die an der einen der beiden außenstehenden Brücken-Doppelbindungen des Glaukobilins (bzw. Biliverdins) stattgefunden hat, von der Farbgebung ausgeschaltet worden (vergl. Schema 13 und 14). Der Beweis für die Richtigkeit dieser Annahme wird durch die Eigenschaften der synthetischen Tripyrrene⁶⁴⁾ erbracht, insbesondere des Tripyrrens⁶⁵⁾, das im Schema 13 angeführt ist. Es hat die Eigenschaften der Mesobilivoline sowie der Mesobilipurpurine, obwohl der Pyrrolkern IV gänzlich fehlt. Auch die Fluoreszenz des Zink-Komplexsalzes ist vorhanden. Bei der Gmelinschen Reaktion mit HNO_2 — HNO_3 gipfelt die Umsetzung in der Purpurinstufe in der Verseifung der angelagerten —NO-Gruppe und der Dehydratisierung des intermediär entstehenden Glykols. Schließlich wird eine —CO-Brücke ausgebildet⁶⁶⁾. Dabei ändert sich am Charakter des Bilirubinoïds nichts. Nur eine Verschiebung des Maximums der Hauptabsorptionsbande von $619\text{ m}\mu$ nach $622\text{ m}\mu$ findet statt. Was die Anlagerung der Methoxygruppen an das Glaukobilin bei der Gmelinschen Reaktion mittels $\text{Br} - \text{CH}_3 \cdot \text{OH}$ betrifft, wird eine intermediäre Bildung von OCH_3 -Radikalen unter dem Einfluß des Glaukobilin-Systems angenommen. In Übereinstimmung damit steht, daß

⁶⁴⁾ H. Fischer u. H. Reinecke, *Ztschr. physiol. Chem.* **259**, 83 [1939].

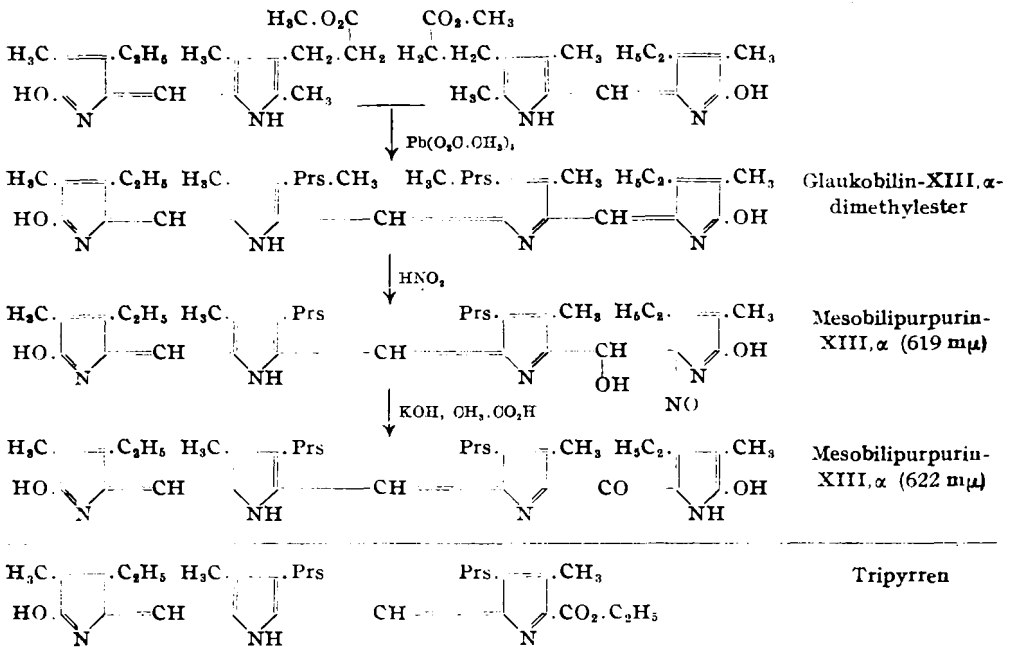
⁶⁵⁾ W. Siedel u. W. Fröwis, *Ztschr. physiol. Chem.* **267**, 37 [1940].

auch bei der Einwirkung von $\text{Co}^{\text{II}}\text{SO}_4$ auf eine methanolische Lösung von Glaukobilin-Zink-Komplexsalz bei Gegenwart von Sauerstoff ebenfalls das Mesobilipurpurin (627 $\mu\mu$) entsteht⁶⁶).

Die Versuche über den Mechanismus der Gmelinschen Reaktion wurden im allgemeinen mit dem symmetrischen Glaukobilin-XIII, α -dimethylester durchgeführt, der, wie in Schema 13 gezeigt, auf einem einfachen Wege zugänglich gemacht worden ist⁶⁶). Er wird durch Oxydation des Xanthobilirubinsäure-methylesters mittels Bleitetraacetat erhalten. Bei dieser Reaktion wird in erster Stufe die α -Methylgruppe der Xanthobilirubinsäure zur Oxymethylgruppe oxydiert, in der zweiten Stufe kondensieren sich zwei Pyromethene unter Abspaltung von Formaldehyd und Wasser zum symmetrischen Mesobilirubin-XIII, α -dimethylester, der schließlich zum entsprechenden Glaukobilin-XIII, α -dimethylester dehydriert wird.

Schema 13.

Xanthobilirubinsäure-methylester.

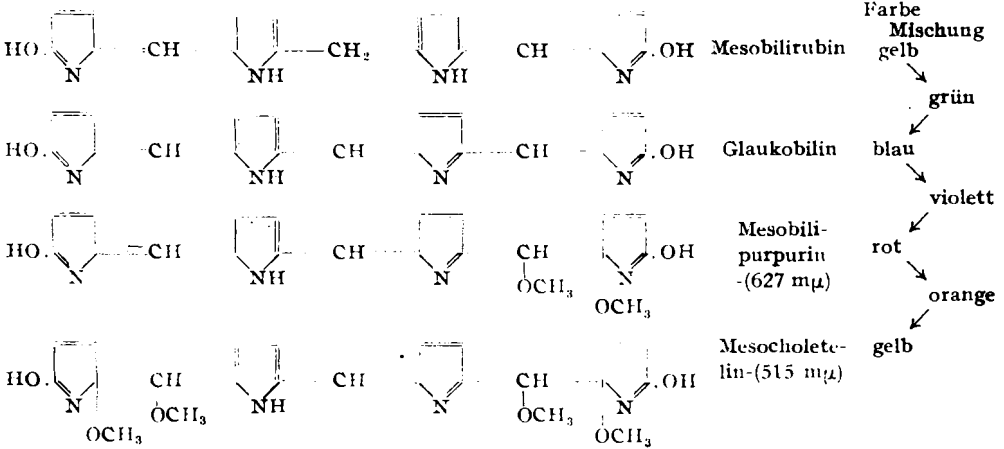


Der weitere Verlauf der Gmelinschen Reaktion und die damit parallele gehende Farbaufhellung besteht in einer Wiederholung der Anlagerungsreaktion an den Chromophor des Mesobilipurpurins (bzw. Bilipurpurins) und Einengung desselben auf den eines Dipyromethens. So entstand bei der Umsetzung von Mesobilipurpurin-XIII, α (627 $\mu\mu$) mit Brom-Methanol unter Addition von zwei weiteren Methoxygruppen das Mesocholetelin-XIII, α

⁶⁶) W. Siedel u. F. Winkler, Dissertat. F. Winkler, München 1942. Die Anlagerung der Methoxygruppen hat eine Parallele bei der Harnsäure. Bei Einwirkung von Cl und Methanol auf Harnsäure beobachteten Biltz u. Heyn, A. 418, 16 [1917], die Anlagerung von zwei Methoxygruppen.

(515 $m\mu$)⁵⁸), dessen Chromophor dem des Urobilins entspricht. Tatsächlich gleicht es auch in seinen Eigenschaften dem Urobilin, vor allem in der Grünfluoreszenz seines Zink-Komplexsalzes. — Auf Grund dieser Ergebnisse gilt für den Mechanismus der Gmelinschen Reaktion in der Ausführung mit Brom-Methanol das Formelschema 14.

Schema 14.



Propentdyopent, Pentdyopent, Mesobilifuscin.

War bisher der Begriff „Abbauprodukt des Blutfarbstoffes“ immer mit der Vorstellung von vierkernigen Verbindungstypen verbunden, so ist in neuerer Zeit durch die Untersuchung der Pentdyopentreaktion und des Mesobilifuscins der Begriff erweitert und auch auf zweikernige Pyrrolderivate ausgedehnt worden.

So ist schon 1870 von B. J. Stokvis⁵⁷) in pathologischen Harnen eine Substanz beobachtet worden, die bei Zusatz von reduzierenden Agenzien (Schwefelammonium, Natriumdithionit) in Alkali eine Rotfärbung bewirken. Von K. Bingold⁵⁸) ist die Reaktion 60 Jahre später unabhängig von den früheren Befunden erneut entdeckt worden. Da der rote Farbstoff eine charakteristische Absorption mit dem Maximum bei 525 $m\mu$ zeigt, ist von K. Bingold der Vorgang als „Pentdyopent-Reaktion“ benannt worden. Nachdem es gelungen war, die Reaktion auch bei katalasefreien, mit Hydroperoxyd behandelten Blutlösungen zu erzeugen, konnte angenommen werden, daß der Reaktion ein Abbauprodukt des Blutfarbstoffes zugrunde liegt. Tatsächlich gab auch das Hämin nach Oxydation in ammoniakalischer Lösung die Reaktion. K. Bingold fand schließlich, daß die Substanz, welche die Pentdyopent-Reaktion bedingt, ein im Organismus vorkommendes natürliches Substrat ist, und vor allem im Harn von Ikterischen in größeren Mengen ausgeschieden wird. So konnte anfänglich das „Pentdyopent“ als ein selbständiges, neuartiges Abbauprodukt des Blutfarbstoffes aufgefaßt werden. Daß es jedoch auch in naher Beziehung zu den Gallenfarbstoffen steht, ging

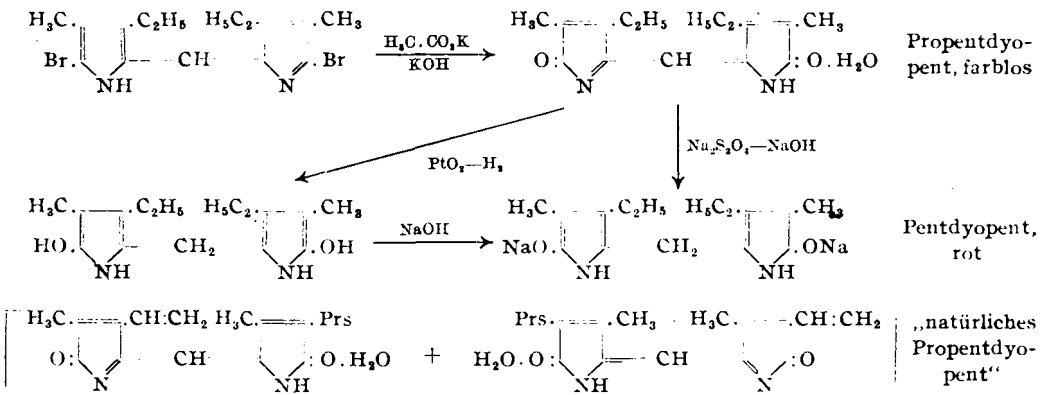
⁵⁷) B. 5, 583 [1872].

⁵⁸) Naturwiss. 26, 656 [1938]; Klin. Wschr. 13, 1451 [1934]; 17, 289 [1938]; 20, 331 [1941].

daraus hervor, daß auch Bilirubin, Mesobilirubin, Urobilin usw.⁵⁹⁾ mit H_2O_2 zu Pentdyopent abgebaut werden können. Strukturchemisch ist das Pentdyopent-Problem durch neuere Untersuchungen von H. Fischer und H. von Dobeneck⁶⁰⁾ weitgehend geklärt worden. Es wurde festgestellt, daß der Pentdyopent-Reaktion eine farblose Substanz zugrunde liegt. Sie wird als Propentdyopent bezeichnet und stellt ein zweikerniges Pyrrol-derivat dar. Aus Gallensteinen wurde es in farblosen Nadeln isoliert.

In Schema 15 werden unter Zugrundelegung von 5,5'-Dibrom-4,4'-dimethyl-3,3'-diäthyl-pyrromethen als Modellsubstanz die Beziehungen zwischen dem Pyrromethen, dem Propentdyopent und dem „Pentdyopent“ dargestellt. Das genannte Pyrromethen liefert also bei Umsetzung mit Kaliumacetat und nachfolgender Behandlung mit Alkali eine Substanz vom Typ des Propentdyopents. Es entspricht in seiner Zusammensetzung einem Dioxo-pyrromethen, dem in einer noch ungeklärten Weise 1 Mol. H_2O angelagert ist. Bei Einwirkung von Zink- oder Kupferacetat geht das Propentdyopent unter Wasserabspaltung in das typische Zink- bzw. Kupfer-Komplexsalz eines Dioxopyrromethens über. Durch Reduktion mit $Na_2S_2O_4$ — $NaOH$ gelangt man vom farblosen Propentdyopent zum roten Pentdyopent. Dieses stellt das Dinatriumsalz des entsprechenden Dioxypyrrromethans dar. Daß dem Pentdyopent tatsächlich diese letztere Struktur zukommt, konnte durch Reduktion des Propentdyopents mit PtO_2 — H_2 bewiesen werden. Es entsteht dabei ein Dioxypyrrromethan, das allein schon mit Alkali die Rotfärbung des Pentdyopents gibt.

Schema 15.



Das natürliche Propentdyopent ist eine Mischung von zwei Isomeren, entsprechend den Formeln im Schema 15. Das künstlich aus Bilirubin sowie aus „Vinyl-neoxanthobilirubinsäure“ gewonnene Propentdyopent erwies sich als identisch mit dem aus Gallensteinen isolierten. — Während man früher glaubte, daß das Propentdyopent ein dem Bilirubin gleichwertiges Blutfarbstoffabbauprodukt darstellt, das in einem besonderen Chemismus neben diesem entsteht, darf man heute annehmen, daß es ein Oxydationsprodukt

⁵⁹⁾ H. Fischer u. A. Müller, Ztschr. physiol. Chem. **246**, 43 [1937].

⁶⁰⁾ Ztschr. physiol. Chem. **263**, 125 [1940]; **269**, 268 [1941]; **270**, 223 [1941]; **275**, 1 [1942].

des Bilirubins ist. So wird es, wenn es im Harn auftritt, wahrscheinlich erst in der Niere aus dem Bilirubin gebildet. Nach K. Bingold⁶¹⁾ ist es allerdings auch möglich, daß Hämoglobin, das in der Niere seinen Katalaseschutz verliert, dort direkt zum Propentdyopent abgebaut wird.

Ein anderer Begleiter des Bilirubins in den Rindergallensteinen z. B. ist das Bilifuscin, ebenfalls ein zweikerniges Produkt. Es fällt bei der Darstellung des Urobilinogens durch Reduktion von Roh-Bilirubin mittels Natriumamalgam an, und zwar in der Form der Mesoverbindung⁶²⁾. Sie stellt ohne Zweifel ebenfalls ein Isomerengemisch wie das native Propentdyopent oder die Neoxanthobilirubinsäuren dar. Wir unterscheiden deshalb Mesobilifuscin I und II (Schema 16). Wie eingehende Untersuchungen gezeigt haben, liegen den Mesobilifuscinen Dioxypyrrromethene zugrunde, die in einer bis jetzt noch nicht geklärten Weise — vielleicht durch Wasserstoff-Bindungen — zu braunen amorphen Farbstoffen assoziiert sind. Die Mesobilifuscine sind aus der Neo- und der Isonoxanthobilirubinsäure durch Oxydation mittels Bleitetraacetat über ein Oxomesobilifuscin (Propentdyopent) als farblosem Zwischenprodukt synthetisch dargestellt worden⁶³⁾.

An Eiweiß gebunden konnte das Mesobilifuscin als „Myobilin“ aus den Faeces von Myopathikern isoliert werden⁶³⁾. Die Frage, ob sein Auftreten mit dem erhöhten Abbau des Muskelhämoglobins verknüpft ist, ist noch offen. Ohne Zweifel stellen die Bilifuscine die Endprodukte des über die Propentdyopente laufenden Bilirubin-Abbaues dar.

Mit der Entdeckung dieser neuen Blutfarbstoff- oder besser Bilirubin-abbauprodukte parallel ging die Auffindung von Gallenfarbstoffen in verschiedenem biologischen Material, wo direkte Beziehungen zum Blutfarbstoff und zur Blutmauserung nicht vorzuliegen scheinen. So wurde ein Farbstoff vom Typ des Biliverdins aus Pieridenflügeln (Kohlweißling)⁶⁴⁾ kristallisiert isoliert. Weiter kommen Farbstoffe vom Biliverdin-Typ auch in der Haut von Stab- und Laubheuschrecken⁶⁵⁾ sowie auf den Gräten bestimmter Seefische⁶⁶⁾ vor.

Besonders auffällig und interessant ist das Auftreten von Gallenfarbstoff-Eiweißkomplexen als Pigmenten in den Rotalgen. Es gelang R. Lemberg⁶⁷⁾, aus diesen Chromoproteiden, den sogenannten Phycobilinen, durch Behandlung mit Alkali ein Glaukobilin zu isolieren. In neuesten Versuchen konnten wir dieses Glaukobilin mit dem Glaukobilin-IX, α röntgenographisch identifizieren⁶⁸⁾ und damit zeigen, daß die Bilirubinoide der Rotalgen sich vom natürlichen Hämatin ableiten und nicht vom Chlorophyll, wie ursprünglich vermutet wurde.

Schließlich wäre noch die Frage nach der Bedeutung der Gallenfarbstoffe für den menschlichen und tierischen Körper zu stellen. Hier sind die Verhältnisse jedoch noch völlig ungeklärt. Selbst die erythropoetische Wirkung, die man dem Bilirubin zuschreibt, ist noch umstritten. Ebenso sind

⁶¹⁾ *Ergebn. d. inn. Med. und Kinderheilkunde* **60**, 1 [1941].

⁶²⁾ W. Siedel u. H. Möller, *Ztschr. physiol. Chem.* **259**, 113 [1939].

⁶³⁾ G. Meldolesi, W. Siedel u. H. Möller, *Ztschr. physiol. Chem.* **259**, 137 [1939].

⁶⁴⁾ H. Wieland u. A. Tartter, *A.* **545**, 197 [1940].

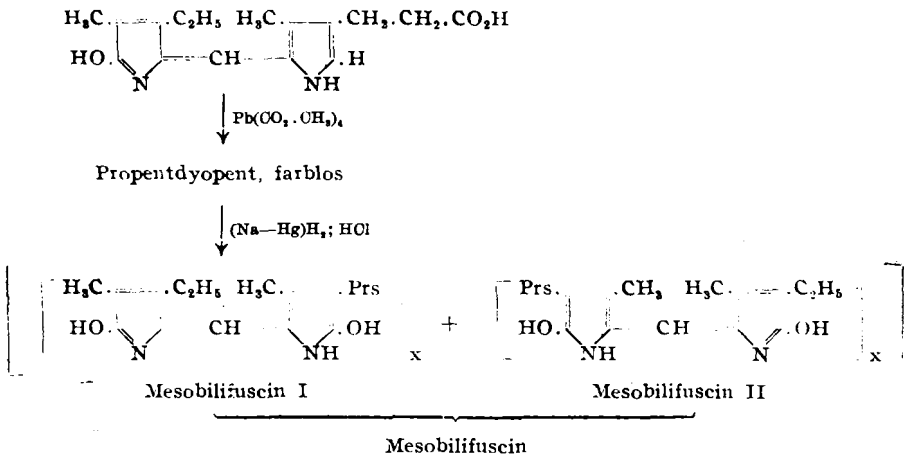
⁶⁵⁾ H. Junge, *Ztschr. physiol. Chem.* **268**, 179 [1941].

⁶⁶⁾ H. Willstaedt, *Enzymologie* [Den Haag] **9**, 260 [1941].

⁶⁷⁾ *A.* **505**, 151 [1933].

⁶⁸⁾ W. Siedel u. K. Melachrinou, unveröffentlicht.

Schema 16.



die quantitativen und zeitlichen Verhältnisse⁶⁹⁾ bei der Blutmauserung noch keineswegs geklärt, vor allem, weil die neu aufgefundenen Abbauprodukte Propentdyopent und Bilifuscin noch nicht mengenmäßig erfaßt sind. — Neueste quantitative Versuche von M. Engel⁷⁰⁾ über die Gallenfarbstoffbildung in vitro haben das erstaunliche Ergebnis gehabt, daß nur 10% des eingesetzten Hämoglobins über Verdoglobin in Biliverdin verwandelt wurden und der größte Teil des Hämoglobins andersartig abgebaut wurde. Endlich wäre auch noch zu erwägen, ob der Organismus etwa imstande ist, Gallenfarbstoffe oder ihre Leukoverbindungen zum Aufbau von Porphyrinen zu verwenden. Man ersieht daraus, daß die Forschung auf diesem biologisch und auch klinisch so wichtigen Gebiet noch vor großen und schönen Aufgaben steht, obgleich schon komplizierte Vorgänge und Zusammenhänge der Chemie und der Physiologie des Blutfarbstoff-Abbaues klargestellt sind.

⁶⁹⁾ Vergl. L. Heilmeyer, Dtsch. Arch. klin. Med. **171**, 123 [1931].

⁷⁰⁾ Ztschr. physiol. Chem. **266**, 135 [1940]; Klin. Wschr. **19**, 1177 [1940].