

**118. O. Piloty und E. Dormann:**  
**Über die sauren Spaltstücke des Hämins.**

[Vorläufige Mitteilung.]

[Aus dem Chem. Labor. der Kgl. Akademie der Wissenschaften zu München.]

(Eingegangen am 4. März 1913.)

Wir haben die sauren Bestandteile der Bruchstücke des Hämins, welche bei der Reduktion dieses Körpers mit Jodwasserstoff-Eisessig entstehen, einer neuerlichen Untersuchung unterzogen und gefunden, daß die Säuren ein Gemisch von ähnlich komplizierter Zusammensetzung darstellen, wie dies O. Piloty und J. Stock<sup>1)</sup> für die Basen vor kurzem nachweisen konnten. Die Trennung der Säuren wird dadurch ungemein erschwert, daß ihre Eigenschaften einander außerordentlich ähnlich sind, daß ihre Pikrate ebenso wie die Pikrate der Basen die Neigung haben, Doppelsalze zu bilden, daß die Säuren außerordentlich empfindlich gegen den Sauerstoff der Luft sind und dadurch in amorphe Farbstoffgemische verwandelt werden und daß sie Gemische bilden, aus denen weder sie selbst noch ihre Pikrate mehr im krystallisierten Zustand isoliert werden können.

Wir haben ihre Trennung versucht durch ähnliche Prinzipien, wie sie bei der Trennung der Basen in oben erwähnter Untersuchung mit Erfolg angewendet wurden, nämlich durch möglichst intensive Störung des in dem Gemisch herrschenden Gleichgewichts. Über die Methode der Trennung werden wir an anderer Stelle ausführlicher berichten.

Hier wollen wir nur vorläufig die an dieser Stelle früher<sup>2)</sup> geäußerten Bedenken berühren und die zu ihrer Beseitigung dienenden positiven Ergebnisse mitteilen. Wir fanden in dem Säuregemisch vier Bestandteile; nämlich die schon früher beschriebene Phonopyrrol-carbonsäure und Xanthopyrrol-carbonsäure und neuerdings auch die Isophonopyrrol-carbonsäure, alle drei Säuren als wohlcharakterisierbare krystallisierte Verbindungen, und endlich eine Säure, die bisher nur im sirupösen Zustand erhalten wurde und von der wir bisher nicht sagen können, ob sie ein selbständiges Individuum darstellt.

Was die Xanthopyrrol-carbonsäure betrifft, die wir zuerst<sup>3)</sup> aus dem mit Alkohol umkrystallisierten Pikrat isolierten, schien es uns<sup>2)</sup> notwendig, dieselbe einer erneuten Untersuchung zu unterziehen, weil einerseits unterdessen von Piloty und Thannhauser<sup>4)</sup> aus dem

<sup>1)</sup> A. 392, 215.

<sup>2)</sup> B. 45, 2592 [1912].

<sup>3)</sup> A. 388, 313.

<sup>4)</sup> A. 390, 191.

Bilirubin die Isophonopyrrol-carbonsäure gewonnen worden war, welche scheinbar dasselbe Oxim wie die Xanthopyrrol-carbonsäure ergab, und weil wir unterdessen <sup>1)</sup> gefunden hatten, daß Methyl- und Äthylalkohol in eigentümlicher Kohlenstoff anreichernder Weise auf die Pikrate einiger dieser Säuren einwirkte. Es war also die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, daß die Xanthopyrrol-carbonsäure  $C_{10}H_{15}NO_2$  eine mit dem Einwirkungsprodukt von Äthylalkohol auf das Pikrat verunreinigte Isophonopyrrol-carbonsäure  $C_9H_{13}NO_2$  sei. Wir konnten nun die Einwirkung der Alkohole auf die Pikrate der Säuren als eine sich unter dem Einfluß freier Pikrinsäure vollziehende Veresterung der Säuren feststellen und von neuem die selbständige Existenz der Xanthopyrrol-carbonsäure bestätigen sowie den Nachweis führen, daß das seinerzeit aus derselben gewonnene Oxim ihr eigentümlich ist.

Ferner konnten wir bestimmt neben der Xanthopyrrol-carbonsäure Isophonopyrrol-carbonsäure isolieren und vergleichend untersuchen. Dieser letztere Befund ist auch physiologisch wichtig, weil er zeigt, daß die einfache Carbonsäure aus Bilirubin schon im Blutfarbstoff, aus welchem sich das Bilirubin bildet, vorgebildet vorhanden ist. Daß H. Fischer und Fr. Krollpfeiffer <sup>2)</sup>, wie sie sagen: »Für die Existenz der Xanthopyrrol-carbonsäure bis jetzt keinerlei Anhaltspunkte gewinnen konnten«, können wir uns nur so erklären, daß die Autoren die Mutterlaugen der Phonopyrrol-carbonsäure nicht genügend untersucht haben.

#### Xanthopyrrol-carbonsäure.

Aus den Mutterlaugen der durch Jodwasserstoff-Eisessig erhaltenen Phonopyrrol-carbonsäure fällten wir durch Pikrinsäure in Ätherpetroläther-Lösung ein Pikratgemisch, das die Begleiter dieser Säure angereichert enthielt. Durch fraktionierte Fällung der daraus gewonnenen Säuren mit Pikrinsäure und fraktionierte Krystallisation der Pikrate aus Essigäther unter jeglicher Vermeidung von Alkohol erhielten wir ein Pikrat vom Schmp. 146—147.5°. Die daraus abermals regenerierten Säuren wurden in absolutem Äther aufgelöst und im Vakuum in der Kälte eingedunstet. Zuerst fiel eine fast farblose Säure aus vom Schmp. 122° — dieselbe erwies sich als Isophonopyrrol-carbonsäure —; die Mutterlauge ergab beim weiteren Eindunsten eine fernere Krystallisation vom Schmp. 110°. Diese letztere wurde noch zweimal aus Wasser umkrystallisiert und zeigte dann den Schmp. 108° (früher fanden wir den Schmp. 105°). Die

<sup>1)</sup> B. 45, 2592 [1912].

<sup>2)</sup> H. 82, 267.

nach dem Trocknen der Säure über Phosphorpentoxyd im Vakuum ausgeführte Analyse ergab, daß Xanthopyrrol-carbonsäure vorlag.

0.1677 g Sbst.: 0.4058 g CO<sub>2</sub>, 0.1191 g H<sub>2</sub>O. — 0.1087 g Sbst.: 7.7 ccm N (17°, 720 mm).

C<sub>10</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>2</sub>. Ber. C 66.29, H 8.28, N 7.73.

Gef. » 66.00, » 7.94, » 7.90.

Das aus der analysierten Säure in ätherischer Lösung dargestellte Pikrat zeigte den Schmp. 143° (früher 142.5°).

0.1515 g Sbst.: 0.2584 g CO<sub>2</sub>, 0.0590 g H<sub>2</sub>O. — 0.1046 g Sbst.: 13 ccm N (16°, 720 mm).

C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>. Ber. C 46.83, H 4.39, N 13.66.

Gef. » 46.52, » 4.35, » 13.91.

Das Oxim wurde aus einer anderen Portion der analysierten Säure mittels salpetriger Säure in schwefelsaurer Lösung dargestellt und schmilzt rob bei 202° nach einmaligem Umkrystallisieren bei 208° (Schmelzpunkt des Oxims aus Isophonopyrrol-carbonsäure 210° Piloty und Thannhauser).

#### Isophonopyrrol-carbonsäure aus Hämין.

Die, wie eben mitgeteilt, aus der ätherischen Lösung zuerst auskrystallisierende Säure vom Schmp. 122° wurde 2-mal mit kaltem Äther ausgewaschen und nach dem Trocknen über Phosphorpentoxyd im Vakuum analysiert.

0.1646 g Sbst.: 0.3906 g CO<sub>2</sub>, 0.1170 g H<sub>2</sub>O. — 0.1043 g Sbst.: 8 ccm N (17°, 715 mm).

C<sub>9</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub>. Ber. C 64.58, H 7.78, N 8.38.

Gef. » 64.72, » 7.95, » 8.49.

Das Pikrat, aus der analysierten Säure dargestellt, schmolz bei 146° nach einmaligem Umkrystallisieren aus Essigäther.

0.1665 g Sbst.: 0.2784 g CO<sub>2</sub>, 0.0630 g H<sub>2</sub>O. — 0.1078 g Sbst.: 14 ccm N (18°, 711 mm).

C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>. Ber. C 45.45, H 4.04, N 14.14.

Gef. » 45.60, » 4.23, » 14.25.

Das Oxim wurde auf die gewöhnliche Weise aus der analysierten Säure dargestellt und in reichlicher Ausbeute erhalten. Schmp. 210°.

0.1107 g Sbst.: 14.1 ccm N (17°, 715 mm).

C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>. Ber. N 14.14. Gef. N 14.11.

#### Phonopyrrol-carbonsäure und ihre Ester.

Wir haben jetzt soviel Phonopyrrol-carbonsäure in Händen, daß wir sie trotz ihrer Begleiter in sehr reinem Zustand erhalten können. Die genaue Bestimmung ihrer Eigenschaften wird dadurch besser

möglich, als es vor der durch uns bewirkten Entdeckung ihrer Begleiter tunlich war. Wir werden das Ergebnis an anderer Stelle mitteilen. Als neu kommt hinzu, daß das Pikrat der Phonopyrrol-carbonsäure, wie wir dies schon früher (l. c.) vermutet haben, beim Kochen einer alkoholischen oder methylalkoholischen Lösung bei Gegenwart freier Pikrinsäure ziemlich rasch und vollständig an der Carboxylgruppe esterifiziert wird.

Methylester. Diesen Ester hat der eine von uns<sup>1)</sup> schon früher, wenn auch mit Schwierigkeit, gewonnen und beschrieben. Neuerdings haben auch H. Fischer und H. Röse<sup>2)</sup> diesen Ester auf anderem Wege dargestellt, freilich ohne zu erwähnen, daß er früher schon von dem einen von uns erhalten worden war; ebensowenig haben diese Autoren unsere Mitteilung in diesen »Berichten« berücksichtigt, welche sich mit der Einwirkung der Alkohole auf die Pikrate der Pyrrolsäure beschäftigte.

5 g Phonopyrrol-carbonsäure-Pikrat wurden mit 5 g Pikrinsäure und 60 ccm Methylalkohol eine halbe Stunde am Rückflußkühler gekocht. Nach dem Erkalten schied sich das Pikrat des Esters in sehr schön ausgebildeten braunen prismatischen Nadeln ab. Es scheint hier auch eine Isomorphieerscheinung eine Rolle zu spielen; denn manchmal erscheinen zuerst gelbe Kryställchen, welche dann plötzlich durch die ganze Masse in braune Nadeln umschlagen. Auf die Substanz paßt vollkommen die Beschreibung, wie wir sie auch früher<sup>3)</sup> schon gegeben haben; nur haben wir die Verbindung jetzt völlig frei vom Pikrat der Säure erhalten und finden deshalb nach einmaligem Umkrystallisieren aus Methylalkohol oder Essigäther den Schmelzpunkt etwas höher, nämlich 122° statt 120°. Ausbeute fast quantitativ.

0.2111 g Sbst.: 0.3661 g CO<sub>2</sub>, 0.0892 g H<sub>2</sub>O. — 0.1514 g Sbst.: 18.5 ccm N (17°, 717 mm).

C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>. Ber. C 46.83, H 4.39, N 13.66.

Gef. » 47.35, » 4.69, » 13.57.

Aus dem Pikrat wurde der freie Ester durch Behandlung des Salzes mit etwas mehr als der berechneten Menge *n*-Natronlauge unter Kühlung in Freiheit gesetzt und durch Ausäthern eine fast farblose Lösung erhalten, welche beim Eindampfen den Ester in langen flachen, strahlig angeordneten farblosen Nadeln hinterließ. Nach dem Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther zeigte der Ester den Schmp. 59° (früher 58°).

0.1619 g Sbst.: 0.3925 g CO<sub>2</sub>, 0.1221 g H<sub>2</sub>O. — 0.1349 g Sbst.: 9.6 ccm N (21°, 721 mm).

<sup>1)</sup> A. 366, 259.

<sup>2)</sup> B. 45, 3275 [1912].

<sup>3)</sup> B. 45, 2592 [1912].

$C_{10}H_{13}NO_2$ . Ber. C 66.29, H 8.28, N 7.73.

Gef. » 66.12, » 8.43, » 7.83.

Der Äthylester der Phonopyrrolcarbonsäure wurde in ganz analoger Weise durch Kochen des Pikrates dieser Säure mit Äthylalkohol bei Gegenwart freier Pikrinsäure dargestellt.

Das Pikrat des Esters ist erheblich leichter löslich in Alkohol und Essigäther als das Salz des Methylesters. Schmp. 93°. Flache prismatische Nadeln von rhombischem Habitus und hellgelber Farbe.

0.2122 g Sbst.: 0.3696 g  $CO_2$ , 0.0895 g  $H_2O$ . — 0.1515 g Sbst.: 18.3 ccm N (18°, 723 mm).

$C_{17}H_{20}N_4O_9$ . Ber. C 48.11, H 4.71, N 13.20.

Gef. » 47.55, » 4.69, » 13.48.

Der freie Äthylester ist sehr leicht löslich in Äther und Essigäther, ziemlich leicht in Petroläther, sehr schwer löslich in Wasser. Schmp. 134°, sechseckige farblose Tafeln.

#### Sirupöse Säure.

Aus den ätherischen Mutterlaugen der Pikrate der Phono-, Isophono- und Xantho-pyrrol-carbonsäure wurde das gelöst bleibende Säuregemisch, nachdem auf keinerlei Weise mehr ein krystallisiertes Pikrat isoliert werden konnte, in der üblichen Weise regeneriert. Die ätherische Lösung hinterließ einen Sirup, der sich sehr schnell dunkelrot färbte. Einen Teil dieses Sirups haben wir mit salpetriger Säure in das Oxim verwandelt. Dasselbe schmilzt nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Wasser scharf bei 212°. Beiderseits zugespitzte spindelförmige Nadeln oder schmale Blättchen.

0.1676 g Sbst.: 0.2983 g  $CO_2$ , 0.0778 g  $H_2O$ . — 0.1043 g Sbst.: 13.4 ccm N (17°, 710 mm).

$C_8H_{10}N_2O_4$ . Ber. C 48.48, H 5.05, N 14.14.

Gef. » 48.54, » 5.19, » 14.13.

Wir halten dieses Oxim für identisch mit dem aus Isophono- und Xantho-pyrrol-carbonsäure gewonnenen Körper und glauben, daß in dem Sirup beide oder eine von beiden Säuren noch enthalten sind.

Einen anderen Teil des Sirups verwandelten wir in eine Azoverbindung und zwar nach der Methode von Marchlewski und Robel<sup>1)</sup> durch Schütteln der ätherischen Lösung mit der berechneten Menge einer salzsauren Lösung von Diazobenzolchlorid. Das salzsaure Salz des Azofarbstoffs fällt als erstarrendes Magma chromsäureroter feiner Nadelchen aus. Schmp. 155°. Mit Diazobenzolsulfosäure konnten wir keine krystallisierte Verbindung gewinnen.

<sup>1)</sup> B. 43, 260 [1910].

0.1560 g Sbst.: 0.3391 g CO<sub>2</sub>, 0.0838 g H<sub>2</sub>O. — 0.1650 g Sbst.: 20 ccm N (18°, 714 mm).

C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Cl. Ber. C 58.63, H 5.86, N 13.68.

C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Cl. » » 59.81, » 6.23, » 13.08.

Gef. » 59.28, » 6.00, » 13.36.

Wir können zurzeit noch keine Angaben darüber machen, ob dieser Farbstoff der Isophono- oder der Xanthopyrrol-carbonsäure oder endlich einer neuen Säure zugehört.

Als die voranstehende Mitteilung über die sauren Spaltstücke des Hämins bereits in Druck gegeben war, fanden wir außer den Pikraten der früher genannten drei krystallisierten Säuren aus Hämin noch eine kleine Menge eines Pikrates einer vierten krystallisierten Säure. Aus den verschiedenen Pikratfraktionen konnten wir eine Salzfraktion sammeln, welche konstant bei 132° schmolz. Bei der Analyse ergab das Pikrat Werte, die auf ein Isomeres der Xanthopyrrol-carbonsäure von der Zusammensetzung C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub> schließen lassen.

0.1347 g Sbst.: 0.2312 g CO<sub>2</sub>, 0.0548 g H<sub>2</sub>O. — 0.1014 g Sbst.: 12.4 ccm N (18°, 725 mm).

C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>. Ber. C 46.83, H 4.39, N 13.66.

Gef. » 46.81, » 4.55, » 13.66.

Das Pikrat ist das am leichtesten in Essigäther lösliche Salz der vier krystallisierten Säuren — etwa doppelt so leicht löslich wie das Salz der Isophonopyrrol-carbonsäure —, auch in Alkohol leicht, in Äther merklich löslich. Aus Essigäther krystallisiert das Salz in charakteristischen linsenförmigen gelben Krystallen.

Die freie Säure schmilzt nach einmaligem Umkrystallisieren aus Wasser ziemlich scharf bei 94°, indem schon bei 80° schwaches Sintern eintritt. Sie krystallisiert aus Petroläther in farblosen, beiderseits zugespitzten Nadeln, welche die Form kleiner Spindeln besitzen. Da durch die Anhäufung der Säuren, welche aus dem Hämin durch Reduktion mit Jodwasserstoff entstehen, ähnliche Nomenklaturprinzipien zweckmäßig werden, wie sie Piloty und Stock<sup>1)</sup> bei den basischen Produkten anwandten, so nennen wir die neue Säure Phonopyrrol-carbonsäure d, indem wir dem Säuregemisch den Namen Phonopyrrol-carbonsäure zu Grunde legen, wie wir dem Basengemisch den Namen Hämopyrrol zu Grunde legen.

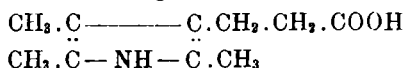
0.1224 g Sbst.: 0.2968 g CO<sub>2</sub>, 0.0912 g H<sub>2</sub>O. — 0.0864 g Sbst.: 6.1 ccm N (20°, 724 mm).

<sup>1)</sup> A. 392, 215.

$C_{10}H_{15}NO_2$ . Ber. C 66.29, H 8.28, N 7.73.

Gef. » 66.13, » 8.33, » 7.83.

Diese Säure ist möglicherweise identisch mit der von H. Fischer und E. Bartholomäus<sup>1)</sup> aus Phonopyrrol-carbonsäure und Natrium-methylat, und von H. Fischer und H. Röse<sup>2)</sup> durch Einwirkung von Natriummethylat auf Bilirubin und Hemibilirubin erhaltenen Säure, für welche aus der Darstellung die Konstitution



hervorgeht. Die Autoren fanden den Schmelzpunkt der Säure gegen 90° und des Pikrats bei 126—128°. Wir konnten keinen direkten Vergleich anstellen, weil uns vorläufig unser Material ausgegangen ist.

Aus unserer freien Säure bildeten wir das Pikrat zurück und es zeigte wiederum nach einmaligem Umkrystallisieren aus Essigäther den Schmp. 132°.

### 119. O. Piloty und J. Stock: Über das Hämopyrrol.

[Vorläufige Mitteilung.]

[Aus dem Chem. Labor. der Kgl. Akademie der Wissensch. zu München.]

(Eingegangen am 8. März 1913.)

Wir haben unsere Untersuchung über das Hämopyrrol noch über das in unseren früheren Mitteilungen<sup>3)</sup> veröffentlichte Maß fortgeführt, weil uns diese Untersuchung zeigte, daß neben den sogenannten basischen Hauptprodukten der Aufspaltung des Hämins mittels Jodwasserstoffs, dem Hämopyrrol a bis e, noch eine Anzahl weniger leicht faßbarer basischer Bruchstücke entsteht. Für die Beurteilung der Konstitution des Hämins sind diese in geringerer Menge auftretenden Spaltstücke nicht minder wichtig als die sogenannten Hauptprodukte. Ferner glauben wir Anhaltspunkte dafür zu haben, daß einzelne dieser in geringerer Menge gefundenen Stücke nur deshalb nicht auch der Menge nach als Hauptprodukte erscheinen, weil ihre Natur ihr Auffinden erschwert.

Außerdem erscheint uns für die vergleichende Untersuchung des Hämins mit anderen Farbstoffen dieser Gruppe eine für das Hämin möglichst exakt und vollständig durchgeführte Methode der Auf-

<sup>1)</sup> H. 83, 67.    <sup>2)</sup> B. 46, 439 [1913].

<sup>3)</sup> A. 366, 237; 377, 314; 392, 215; B. 42, 4693 [1909].