

## 66. K. Kunz und A. J. Kreß: Versuche zur Darstellung eines Atmungs-Modells an einer komplexen Eisenverbindung des Indigblaus.

[Aus d. Institut für Organ. Chemie d. Techn. Hochschule Darmstadt.]

(Eingegangen am 15. Dezember 1926.)

Die biochemische Wirkungsweise der beiden physiologisch wichtigsten Naturfarbstoffe, des Blattgrüns und des Blutfarbstoffs, ist bekanntlich eng mit der Anwesenheit des in ihrem Molekül komplex gebundenen Metalls, des Magnesiums einerseits und des Eisens andererseits, verknüpft. Im Hämoglobin vermittelt das Eisen die Bindung des Sauerstoffs im Oxy-hämoglobin, und alle Erscheinungen, die diese Fähigkeit des Metalls herabsetzen oder aufheben, stören den normalen Verlauf der Atmung. So ist die vergiftende Wirkung des Kohlenoxyds auf eine Blockierung des Eisens zurückzuführen, wodurch die Aufnahme von Sauerstoff unterbunden wird. Die Bindung des Metalls wird beim Chlorophyll und beim Blutfarbstoff gleichartig formuliert, und zwar soll das Eisen im Hämochromogen zunächst die Wasserstoffatome der Iminogruppen zweier Pyrrol-Kerne ersetzen und sich dann weiterhin durch Restvalenzen mit den Stickstoffatomen zweier weiterer Pyrrol-Kerne zum inneren Komplex verbinden. Trotz dieser klaren Vorstellungen ist es seither noch nicht gelungen, mit anderen komplexen organischen Eisenverbindungen in einem durchsichtigen Modellversuch die biochemische Wirkungsweise des Blutfarbstoffs und seiner Derivate nachzuahmen, und diese Tatsache scheint um so auffallender zu sein, als die Zahl derartiger Verbindungen keine kleine ist.

In der letzten Zeit wurde nun ein neuer Gesichtspunkt in die Chlorophyll-Chemie und damit auch in die Probleme des Blutfarbstoffs hineingetragen, der vielleicht zu einer anderen Auffassung über den Zustand des Metalls in den beiden Farbstoffen führen kann. Beim Studium komplexer Metallverbindungen des Indigblaus und seiner Derivate<sup>1)</sup>, bei denen ebenfalls die Stickstoffatome von 4 Pyrrol-Kernen die Bindung des Metalls im Molekül vermitteln, hatte sich eine auffallende Ähnlichkeit dieser Körper mit den komplexen Chlorophyll-Derivaten ergeben. Die betreffenden Verbindungen entstehen durch Einwirkung von Metallen oder Schwermetallacetaten auf indigoide Farbstoffe in höhersiedenden, wasser-freien Lösungsmitteln. Ein Ersatz von Wasserstoffatomen findet dabei nicht statt; es wird angenommen, daß das Metall vielmehr in einer bei organischen Verbindungen seither noch nicht nachgewiesenen Form, und zwar nur durch Restvalenzen, im Molekül gebunden ist. Auch in der Chlorophyll-Reihe konnte eine derartige Auffassung experimentell gestützt werden<sup>2)</sup>.

Was speziell die Einführung des Metalls mit Hilfe von Schwermetallacetaten anbetrifft, so entsteht dabei sowohl beim Indigo als auch bei den Derivaten des Blattgrüns eine etwa entsprechende Menge freie Essigsäure. Dieser Befund scheint zunächst mit der vertretenen Auffassung einer rein komplexen Bindung des Metalls im Widerspruch zu stehen, denn er ließ sich zunächst nur durch einen doppelten Umsatz erklären, indem der Rest des Acetates mit den Wasserstoffatomen zweier Iminogruppen als Essigsäure austritt, während das Metall ihre Stelle einnimmt. In der letzten Zeit wurde nun aber gefunden<sup>3)</sup>, daß Schwermetallacetate auch allein beim Erwärmen in wasser-freien Lösungsmitteln die Neigung zeigen, ihr Metall abzugeben, wobei der Rest

<sup>1)</sup> B. 55, 3688 [1922], 56, 2027 [1923], 58, 1860 [1925].

<sup>2)</sup> B. 58, 1868 [1925]. <sup>3)</sup> Sehrbundt, Dissertat., Darmstadt 1926.

$\text{CH}_3\text{COO}$  — schließlich als Essigsäure erscheint. Erwärmt man z. B. Silberacetat in reinstem, wasser-freiem Pyridin kurz auf  $80^\circ$ , so scheidet sich ein Silberspiegel ab, und bei der Aufarbeitung läßt sich etwa die entsprechende Menge Essigsäure nachweisen. Ob die Reaktion über das Diacetylperoxyd,  $\text{CH}_3\text{COO}_2\text{OOCCH}_3$ , geht, konnte noch nicht einwandfrei nachgewiesen werden, obgleich gerade die Erklärung der bekannten Oxydationswirkung des Silberacetates durch die Annahme einer Zwischenbildung des Superoxyds nicht unwahrscheinlich erscheint. Die Zersetzung von Schwermetallacetaten bei Temperaturen oberhalb  $200^\circ$  in Metall und Essigsäure, neben  $\text{CO}_2$  und C, ist seit langem bekannt und zuletzt von Krönig<sup>4)</sup> untersucht worden.

In Anbetracht der zweifellosen Ähnlichkeit der Metallverbindungen des Indigblaus mit den komplexen Chlorophyll-Derivaten wurde die Frage aufgeworfen, ob nicht gerade in der Annahme einer rein komplexen Bindung des Metalls die Erklärung für seine auffallenden biochemischen Funktionen liegt, und ob es nicht auf Grund der angeführten Analogien gelingt, die Erscheinungen der Assimilation und der Atmung an einfacheren Modellen nachzuahmen. Der natürliche Vorgang der Assimilation ist nach Willstätter vorläufig noch an die lebende Zelle gebunden, dagegen schien eine Prüfung der vertretenen Auffassung an komplexen Eisenverbindungen mehr Erfolg zu versprechen.

Zunächst mußte eine Eisenverbindung dargestellt werden, in der das Metall in der gesuchten rein komplexen Bindungsform vorliegt. Die Einwirkung von Eisenchlorid auf indigoide Farbstoffe und Chlorophyll-Derivate verläuft nach früheren Versuchen derart, daß das Salz als solches addiert wird, und zwar meistens 1 Mol. auf 4 Pyrrol-Kerne. Ein Körper, in dem die Bindung des Eisens eine sehr lockere ist, liegt im Eisencarbonyl,  $\text{Fe}(\text{CO})_5$ , vor.

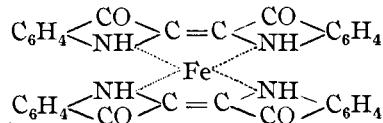
Bei der Einwirkung von Eisencarbonyl<sup>5)</sup> auf Indigo in vollkommen wasser-freiem Pyridin schlägt die blaue Farbe der Lösung allmählich nach grün um; das krystallisiert erhaltene Reaktionsprodukt stellt eine Additionsverbindung von 1 Mol. Eisencarbonyl auf 2 Mol. Indigo (4 Pyrrol-Kerne) dar, die sich in ihren Eigenschaften eng an die bereits früher beschriebenen Additionsverbindungen mit Eisenchlorid, Grignardschem Reagens usw. anschließt. Der Körper wird zwar durch Säuren und heißes Wasser unter Rückbildung von Indigo zersetzt, ist jedoch nicht sauerstoff-empfindlich, da das Eisen noch durch Kohlenoxyd blockiert ist. Wird dagegen die in der ersten Phase der Einwirkung erhaltene grüne Lösung der Additionsverbindung bei Gegenwart von überschüssigem Eisencarbonyl weiter erwärmt, so werden ohne Wasserstoff-Entwicklung genau 5 Mol. Kohlenoxyd abgegeben, und die Farbe geht in ein gelbstichiges Rot über. Die in der Lösung vorliegende Verbindung konnte ebenfalls in krystallisierter Form erhalten werden, sie enthält 1 Atom Eisen auf 2 Mol. Indigo.

Die Bedeutung der Stickstoffatome für die Bindung des Metalls geht daraus hervor, daß der analog gebaute Thio-indigo zwar mit Eisencarbonyl ebenso wie mit Natriumalkoholat eine Additionsverbindung liefert, jedoch weder Eisen noch andere Schwermetalle allein aufzunehmen vermag. Auch die Carbonylgruppen des Indigos können an der Bindung nicht ausschlaggebend beteiligt sein, da auch das sauerstoff-freie Diindolylmethan

<sup>4)</sup> Ztschr. angew. Chem. **37**, 667 [1924].

<sup>5)</sup> Für die Überlassung des Eisencarbonyls sind wir der I.-G. Farbenindustrie Aktiengesellschaft, Werk Ludwigshafen, zu Dank verpflichtet.

analoge Komplexverbindungen<sup>6)</sup> liefert. Die Konstitution der komplexen Eisenverbindung des Indigos ist demnach durch die folgende Formel wiederzugeben, ohne daß dabei weiterhin eine Beteiligung der Sauerstoffatome an der Bindung des Metalls, die Küster auch beim Hämatin annimmt, vollkommen gelehnt werden soll:



Die angenommene Formulierung wird durch die Eigenschaften der Verbindung bestätigt, die einmal mit Säure Indigo zurückliefert und sich weiterhin durch eine außerordentliche Sauerstoff-Empfindlichkeit auszeichnet. Beim Durchleiten von trocknem Sauerstoff schlägt die rote Farbe der Pyridin-Lösung sofort nach grün um; die gasvolumetrische Bestimmung ergab, daß, genau wie beim Hämoglobin, auf 1 Atom Eisen 1 Mol. Sauerstoff absorbiert wird. Gibt man dagegen zur roten, sauerstoff-empfindlichen Lösung etwas wasser-freie Blausäure, so hört die Aufnahme-Fähigkeit für Sauerstoff sofort auf, die Lösung bleibt rot, die aktive Gruppe des Moleküls ist blockiert. Erst in dem Maße, wie bei längerem Durchleiten von Sauerstoff die Blausäure wieder abgegeben wird, färbt sich die Lösung wieder grün. Die Bindung des Sauerstoffs ist zunächst eine lockere: bereits im Vakuum wird das Gas wieder abgegeben, und die rote Farbe kehrt zurück. Auch bei kurzem Stehen der grünen Lösung bei gewöhnlicher Temperatur oder rascher in der Wärme erscheint die rote Farbe wieder, und der Sauerstoff ist zur Oxydation eines Teiles der Trägersubstanz, des Indigos, verwendet worden. Bei neuem Einleiten von Sauerstoff färbt sich die Lösung wieder grün, die rote Farbe kehrt wieder zurück und so fort, bis der gesamte Farbstoff oxydiert ist. Dabei wird eine bedeutende Wärmemenge frei.

Läßt man dagegen die grüne Lösung einige Zeit in der Eiskälte stehen, so tritt eine festere Bindung des bereits aufgenommenen Sauerstoffs ein, der jetzt im Vakuum selbst beim Erwärmen nicht mehr abgegeben wird. Die vorliegende Verbindung konnte in krystallisiertem Zustande erhalten werden, sie enthält ebenfalls 1 Atom Eisen auf 2 Mol. Indigo. Daß das Metall noch Sauerstoff trägt, geht daraus hervor, daß die Verbindung beim Erwärmen in wasser-freien Lösungsmitteln unter Stickstoff-Atmosphäre in Indigo, Isatin und ein farbloses Nebenprodukt zerfällt.

Die Tatsache, daß der zunächst locker gebundene Sauerstoff allmählich in einen festeren Bindungszustand übergeht, erinnert an eine ähnliche Erscheinung beim Blutfarbstoff. Das Oxy-hämoglobin geht bekanntlich unter verschiedenen Bedingungen, z. B. bei längerem Stehen, in das stabilere Methämoglobin über, das zum Sauerstoff-Transport nicht mehr geeignet ist und das Gas selbst bei höherer Temperatur im Vakuum nicht mehr abgibt. Nach neueren Untersuchungen<sup>7)</sup> soll diese Umwandlung derart erfolgen, daß das Oxy-hämoglobin  $Hb:O_2$  die Hälfte des aufgenommenen Sauerstoffs verliert und in  $Hb:O$  übergeht. Es ist leicht denkbar, daß auch die angeführte Indigo-Eisen-Verbindung mit fester gebundenem Sauerstoff

<sup>6)</sup> B. 58, 1860 [1925].

<sup>7)</sup> Quagliarello, Arch. Sciences biol. 5, 193 [1923]; C. 1924, II 664.

ein Zwischenglied zwischen  $\text{Fe}:\text{O}_2$  und Fe darstellt, indem bei tiefen Temperaturen nur die Hälfte des Sauerstoffs zu Oxydationszwecken abgegeben wird. Die angedeutete Vermutung soll noch näher geprüft werden.

Vom Blutfarbstoff und seinen Derivaten unterscheiden sich die beschriebenen Eisenverbindungen des Indigblaus durch eine lockere Bindung des Metalls, das bereits mit verd. Säuren rasch und durch Wasser allmählich herausgenommen wird. Dieser Unterschied ist jedoch kein prinzipieller, denn auch beim Hämoglobin und seinen Derivaten ist die Festigkeit eine verschiedene und wird nach Küster durch wechselnde Restvalenz-Beteiligung der Carboxylgruppen bedingt. Was speziell die Unbeständigkeit gegen Wasser anbetrifft, so findet sich diese in schwächerem Maße auch beim Chlorophyll, denn das Magnesium wird nicht nur sehr leicht durch Säuren, sondern auch langsam durch Hydrolyse herausgenommen<sup>8)</sup>.

Faßt man die Erscheinungen, die mit der Einführung des Eisens in Indigblau mit Hilfe von Eisencarbonyl verbunden sind, nochmals zusammen, so entsteht zunächst eine Additionsverbindung von 1 Mol.  $\text{Fe}(\text{CO})_5$  auf 2 Mol. des Farbstoffs (4 Pyrrol-Kerne); mit einem Überschuß von Eisencarbonyl werden 5 Mol. CO abgegeben, das rein komplex gebundene Eisen vermag Sauerstoff zu binden. Diese Versuche scheinen eine Parallele zu der Willstätterschen Einführungsmethode des Magnesiums in metallfreie Chlorophyll-Derivate mit Hilfe von Grignardschem Reagens darzustellen. Dabei entsteht zunächst eine wasser-empfindliche Additionsverbindung von 1 Mol. Magnesium-halogenalkyl auf 4 Pyrrol-Kerne; mit einem Überschuß des Reagens tritt das Magnesium als solches in das Molekül ein und ist nun befähigt, in der ersten Stufe des Assimulations-Prozesses die Kohlensäure zu binden. Auch in der Indigo-Reihe wurde eine Additionsverbindung mit Grignardschem Reagens erhalten<sup>9)</sup>; ein Überschuß wirkt in diesem Falle jedoch auf die im Indigo vorhandenen Carbonylgruppen ein.

Neben Sauerstoff vermag das Hämoglobin auch andere Gase, wie CO und NO, mehr oder weniger fest in einfachem molekularen Verhältnis zu binden. Versuche, auch bei der komplexen Eisenverbindung des Indigblaus ähnliche Verhältnisse nachzuweisen, haben bis jetzt nur teilweise zu dem gewünschten Ergebnis geführt. Daß das Eisen noch CO zu binden vermag, geht aus der Existenzfähigkeit der beschriebenen Additionsverbindung von Indigo mit Eisencarbonyl hervor. Auffallenderweise ist es bis jetzt noch nicht einwandfrei gelungen, nach der Abgabe der 5 Mol. CO umgekehrt wieder Kohlenoxyd anzulagern. Zur Erklärung dieser Tatsache können folgende Beobachtungen angeführt werden: In der reinen Eisencarbonyl-Verbindung ist das Kohlenoxyd so fest gebunden, daß auch bei langem Erhitzen in Pyridin-Lösung keine Abgabe erfolgt. Bei Anwesenheit von etwas überschüssigem Eisencarbonyl findet jedoch die Gasentbindung in kürzester Zeit statt. Das Eisencarbonyl muß also eine lockende Wirkung auf das Kohlenoxyd ausüben, und geringe Verunreinigungen könnten die Absorption verhindern. Außerdem gibt die komplexe Eisenverbindung mit Pyridin eine Additionsverbindung, die bei der Isolierung zunächst erhalten

<sup>8)</sup> Willstätter-Stoll, Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure, S. 260ff.

<sup>9)</sup> B. 56, 2031 [1923].

wird. Es ist möglich, daß das Kohlenoxyd die blockierende Wirkung des Pyridins nicht überwindet; ein anderes Lösungsmittel wurde leider nicht gefunden. Es steht zu hoffen, daß in einer anderen Versuchsreihe diese Lücke ausgefüllt wird.

Sehr viel energischer wirkt Stickoxyd auf die komplexe Eisenverbindung ein. Nach den beim Einleiten von trocknem NO auftretenden Farberscheinungen zu schließen, scheint zunächst eine blaugrüne Additionsverbindung von 1 Mol. NO auf 1 Mol. Eisen zu entstehen. Mit einem Überschuß von NO werden 5 Mol. absorbiert, während sich gleichzeitig Indigo ausscheidet. Diese Erscheinung wird verständlich, wenn man bedenkt, daß entsprechend seiner lockeren Bindung die freie Valenz des Metalls in der Indigo-Verbindung größer ist als beim Blutfarbstoff. Dementsprechend vermag das Eisen in der beschriebenen Additionsverbindung noch 5 Mol. CO zu tragen, während bei der Addition des stärker ungesättigten NO die Belastung zu groß wird und das Metall herausbricht.

Versuche der Einwirkung von Kohlendioxyd führten in Übereinstimmung mit den Erfahrungen beim Blutfarbstoff zu einem negativen Ergebnis; die Metallverbindung wird nicht verändert. Das Hämoglobin vermag zwar  $\text{CO}_2$  zu binden, die Aufnahme erfolgt jedoch am Eiweißkörper und ist unabhängig von der gleichzeitigen Bindung von Sauerstoff und Kohlenoxyd am Eisen.

Wie oben ausgeführt, wird die Eisenverbindung des Indigblaus durch überschüssigen Sauerstoff ziemlich rasch verändert, ein Vorgang, der im Hinblick auf ähnliche Erscheinungen beim Blutfarbstoff nicht uninteressant ist. Die Einwirkung ist mit einem vollkommenen Umbau des Indigo-Moleküls verbunden, der über verschiedene violette bzw. rote Körper schließlich zu einem farblosen Produkt von saurem Charakter führt. Isatin-Bildung tritt hierbei nur in geringer Menge ein. Die Zwischenprodukte, von denen sich nur das erste durch Reduktionsmittel in Indigo zurückverwandeln läßt, sind bereits in geringer Menge krystallisiert erhalten worden; eine Vorstellung über ihre Konstitution und ihre Zusammenhänge ist vorläufig noch nicht möglich.

Auch die Umwandlung des Blutfarbstoffs im Organismus, die neben verschiedenen Porphyrinen auch zum Gallenfarbstoff führt, scheint teilweise oxydativer Natur zu sein. Aber auch in Pyridin-Lösung erleiden das Hämin und seine eisen-haltigen Derivate bei Gegenwart von Sauerstoff und gewisser katalytisch wirkender Stoffe nach neueren Untersuchungen von H. Fischer<sup>10)</sup> überraschend leicht eine vollkommene Veränderung. Die Umformung verläuft über einen grünen Farbstoff, der sich nicht mehr in das Ausgangsprodukt zurückverwandeln läßt, schließlich zu einem farblosen Produkt. Nach H. Fischer ist das komplex gebundene Eisen als Sauerstoff-Überträger offenbar für die Reaktion verantwortlich zu machen, da eisen-freie Verbindungen die Reaktion nicht zeigen. Wenn auch der konstitutive Zusammenhang zwischen Indigo und Blutfarbstoff nur ein sehr lockerer ist, so liegt doch immerhin eine ähnliche Verknüpfung von Pyrrol-Kernen bei beiden Farbstoffen vor. Die nähere Untersuchung der angedeuteten Umformung des Indigo-Moleküls ist begonnen worden; es ist möglich, daß ihre Ergebnisse vielleicht auch etwas Licht auf die analogen

<sup>10)</sup> Ztschr. physiol. Chem. **153**, 54 [1926].

Erscheinungen beim Blutfarbstoff werfen, und zwar im besonderen, was die Angriffsstelle des Sauerstoffs betrifft. Sollte es gelingen, auch in der Chlorophyll-Reihe eine entsprechende Eisenverbindung darzustellen, die ebenfalls durch Sauerstoff abgebaut wird, so wäre weiterhin die Möglichkeit gegeben, das Konstitutionsproblem des Chlorophylls neu zu prüfen. Bekanntlich steht es bis heute noch nicht fest, und die Frage wurde auch von Willstätter offen gelassen, ob im Blattgrün die 4 Pyrrol-Kerne der Porphyrine bereits vorgebildet sind, oder ob sie erst beim Abbau durch Alkalischmelze entstehen. Die Anwendung des beim Indigo beobachteten, unter denkbar günstigsten Bedingungen mit Sauerstoff bei gewöhnlicher Temperatur verlaufenden Abbaus der komplexen Eisenverbindung könnte hier Aufschluß geben.

Einen weiteren Impuls für die Fortführung der begonnenen Untersuchungen bringen die neueren Warburgschen Arbeiten über die Schwermetall-Katalyse der Atmung. Warburg führt bekanntlich die Aktivierung des Sauerstoffs bei den biologischen Oxydationsvorgängen auf ein eisen-haltiges Atmungs-Ferment und die Vergiftungs-Erscheinungen durch Blausäure auf eine Blockierung des Metalls zurück. Wenn auch die Warburgschen Vorstellungen wohl zu weit gefaßt sind, so kommt doch zweifellos dem Eisen eine wichtige Vermittlerrolle bei biologischen Oxydationen zu. Wenn Warburg auf Grund seiner Versuche zu dem Ergebnis kommt, daß das Eisen nur in einer ganz besonderen, noch unbekannten Bindungsform an Stickstoff als Überträger des Sauerstoffs wirkt, so scheinen auch hier die in der vorliegenden Arbeit vertretenen Auffassungen die Möglichkeit einer weiteren experimentellen Prüfung des Problems zuzulassen. Jedenfalls haben die seitherigen Versuche ergeben, daß dem rein komplex gebundenen Eisen in ganz hervorragendem Maße die Fähigkeit zukommt, den Sauerstoff zu aktivieren und bereits bei gewöhnlicher Temperatur auf das eigene Molekül zu übertragen. Versuche, auch andere Stoffe zu oxydieren, sind gerade begonnen worden; sie scheinen jedoch in diesem Falle nicht sehr aussichtsreich zu sein, da einmal durch die entstehenden Oxydationsprodukte (Säuren und Wasser) das Eisen aus dem Katalysator herausgenommen wird, und andererseits die Trägersubstanz, der Indigo selbst, zu leicht verändert wird. Es steht zu hoffen, daß Versuche in anderen Reihen mit festerer Bindung des Metalls zu besseren Ergebnissen führen.

Die seitherigen Untersuchungen sollen vorläufig nur als Modellversuche im Hinblick auf den Blutfarbstoff angesehen werden, ohne daß aus ihren Ergebnissen endgültige Rückschlüsse über die Bindung des Metalls in diesem Körper gezogen werden können.

### Beschreibung der Versuche.

#### Die Zersetzung des Eisencarbonyls in Pyridin-Lösung.

Das für die Versuche dieser Arbeit benötigte, vollkommen wasser-freie Pyridin wurde erhalten durch Trocknen von gewöhnlichem Pyridin mit Phosphorpentoxid und folgendes mehrmaliges Destillieren über Bariumoxyd unter sorgfältigem Ausschluß der Feuchtigkeit. Ebenso sind alle Gefäße gut zu trocknen und mit Stickstoff zu füllen.

Beim Erwärmen von Eisencarbonyl in wasser-freiem Pyridin findet allmählich eine Zersetzung statt, die von einer CO-Entwicklung begleitet ist. Um den Verlauf der Gasentwicklung quantitativ zu verfolgen, wurde folgende Versuchs-Anordnung verwendet, die auch für die weiteren Versuche

beibehalten wurde: Eine Lösung von 0.3 g Eisencarbonyl in 50 ccm Pyridin wurde in einem Kölbchen mit an der Kugel angeschmolzenem seitlichen Ansatzrohr, dessen Hals in einer Spitzte abgeschmolzen ist, in einem Paraffin-Ölbade auf eine genau eingestellte Temperatur zwischen 70° und 80° erwärmt. Das seitliche Ansatzrohr des Kolbens steht durch eine winklig gebogene Glasröhre, deren eine Hälfte als Luftkühler wirkt, mit einem kleinen, gradierten Azotometer in Verbindung, das mit trocknem, mit CO gesättigtem Xylol gefüllt ist. Das bis zur Einstellung des Temperatur-Gleichgewichts in die Meßröhre übergegangene Stickstoff-Volumen wird abgelassen. Die von nun an in das Azotometer übertretende Gasmenge entspricht dem Volumen des bei der Zersetzung des Eisencarbonys entbundenen CO, das in bestimmten Zeitintervallen abgelesen wurde. Nach mehrstündigem Erwärmen wurde die Spitzte des Gefäßes unter einem übergezogenen Gummischlauch abgebrochen, durch trocknen Stickstoff der gesamte Gasinhalt in die Meßröhre übergeführt und der CO-Gehalt durch Absorption in ammoniakalischer Kupferchlorür-Lösung bestimmt. Der gefundene Wert entsprach dem Volumen des während des Erhitzens in die Meßröhre übergegangen Gases. Wie aus den folgenden, halbstündig aufgenommenen Einzelbeobachtungen hervorgeht, erfolgt die CO-Entbindung gleichmäßig und beträgt unter den angegebenen Verhältnissen im Durchschnitt 3 ccm/1/2 Stde.

Ablesungen: 3, 5.5, 9, 12, 14.5, 18, 21 ccm.

Die Zersetzung des  $\text{Fe}(\text{CO})_5$  in Pyridin-Lösung scheint dieselbe zu sein, wie sie die Verbindung auch allein beim Stehen langsam erfährt, und die zum festen  $\text{Fe}_2(\text{CO})_7$  führt. Jedenfalls wurde aus der Pyridin-Lösung eine orangegelbe Pyridin-Verbindung isoliert, deren Eisen-Gehalt nach dem Trocknen im Vakuum auf die angegebene Zusammensetzung hindeutet. Die beschriebene Erscheinung tritt bei den folgenden Versuchen als Nebenreaktion auf.

#### Einwirkung von Eisencarbonyl auf Indigo.

Eisencarbonyl wird durch Wasser unter Entwicklung von Wasserstoff zersetzt. Erfolgt deshalb die Einwirkung auf Indigo in gewöhnlichem, wasser-haltigem Pyridin, so schlägt die blaue Farbe der Lösung in der Wärme rasch nach gelb um, und beim Abkühlen scheidet sich das Reduktionsprodukt Indigweiß in farblosen langen Nadeln aus. In vollkommen wasser-freiem Pyridin tritt keine Indigweiß-Bildung ein.

Die Isolierung der Additionsverbindung von Eisencarbonyl an Indigo gelingt am besten bei folgender Versuchs-Anordnung: In einem Fraktionierkolben mit aufgesetztem Steigrohr werden 0.5 g trockner Indigo in 60 ccm Pyridin suspendiert und unter allmählichem Zusatz von Eisencarbonyl immer kurz aufgekocht und dann geschüttelt, während ein trockner Stickstoff-Strom durch das seitliche Ansatzrohr eintritt. Nach etwa  $\frac{3}{4}$  Stdn. ist der gesamte Farbstoff gelöst und die Farbe der Lösung in eine smaragdgrüne übergegangen. Das Erhitzen wird sofort unterbrochen und die klare Flüssigkeit im Vakuum bei 30—40° und zwischengeschaltetem Trockenapparat etwa auf die Hälfte eingeengt. Nach kurzem Stehen in der Eiskälte scheidet sich das Reaktionsprodukt in dunkelgrünen, prismatischen Krystallen aus, die durch Umkristallisieren aus Pyridin rein erhalten wurden. Das durch 2-stdg. Trocknen im Vakuum bei 80° erhaltene Produkt enthält noch chemisch gebundenes Pyridin, und zwar stimmen die Eisen-Bestimmungen

ungefähr auf die Formel  $(C_{16}H_{10}O_2N_2)_2$ ,  $Fe(CO)_5$ , 2Py. Nach mehrstündigem Trocknen im Vakuum bei  $120^0$  ist die Verbindung pyridin-frei und gibt nach dem Abrauchen mit Salpetersäure folgenden Wert:

17.405 mg Sbst.: 1.995 mg  $Fe_2O_3$ . —  $(C_{16}H_{10}O_2N_2)_2$ ,  $Fe(CO)_5$ . Ber. Fe 7.76. Gef. Fe 8.00.

Die grüne Lösung der Verbindung in Pyridin scheidet bei Zusatz von Säure oder von Wasser in der Wärme Indigo aus.

Die Abspaltung des CO aus der beschriebenen Additionsverbindung erfolgt nur bei Gegenwart von überschüssigem Eisencarbonyl. Die zur Beobachtung benutzte Versuchs-Anordnung ist dieselbe, wie sie bei der Zersetzung des Eisencarbonyls im blinden Versuch angegeben wurde.

0.1500 g Indigo wurden mit 0.3 g Eisencarbonyl in 50 ccm Pyridin im Paraffin-Ölbade auf  $80^0$  erwärmt und nach Einstellung der Temperatur die sich nach und nach entwickelnde Gasmenge beobachtet. Zunächst bildet sich die Additionsverbindung; die dabei auftretende Gasmenge ist dieselbe wie beim blinden Versuch. Sobald der letzte Indigo in Lösung gegangen ist, schlägt die inzwischen grün gewordene Farbe der Reaktionsflüssigkeit ziemlich rasch nach rot um, und gleichzeitig werden 5 Mol. CO abgegeben. Bei längerem Erhitzen tritt wieder die normale Gasentbindung des blinden Versuches ein.

Die folgende Tabelle gibt die halbstündig abgelesenen CO-Volumina bei 0.150 g angewandtem Indigo wieder:

I. 0, 3.1, 6.5, 9, 12, 47.1, 50.1, 53 ccm.  $35.1 - 3.0 = 32.1$  ccm ( $16^0$ , 765 mm).

II. 0, 2.5, 5.5, 8.4, 11.6, 47.4, 50.3 ccm.  $35.8 - 3.0 = 32.8$  ccm ( $16^0$ , 768 mm).

Ber. 32.0 ccm CO. Gef. 30.6, 31.3 ccm CO ( $0^0$ , 760 mm).

Nach der Überführung des gesamten Gasinhaltes des Reaktionsgefäßes in die Meßröhre wurden bis 99.6 % des entbundenen CO durch Absorption in ammoniakalischer Kupferchlorür-Lösung festgestellt.

Zur Isolierung der Eisenverbindung wurden Versuche mit 3 g Indigo, 2 g Eisencarbonyl und 100 ccm Pyridin in einem Fraktionierkolben angesetzt, dessen seitliches Ansatzrohr durch einen abgequetschten Gummischlauch verschlossen ist, während durch den Stopfen des Halses ein bis auf den Boden reichendes, außen 2-mal rechtwinklig nach unten gebogenes Glasrohr geht, das am äußeren Ende zunächst abgeschmolzen ist. Der gegen Ende der Reaktion auftretende und sich durch ein starkes Aufblähen des Verschluß-Gummis anzeigen starke Druck wird von Zeit zu Zeit abgelassen. Nachdem die Farbe der Lösung über Grün nach rot gegangen ist, erfolgt nach 1-tägigem Stehen in der Kälte die Ausscheidung der Eisenverbindung in schönen, gelbroten Prismen. Zur Isolierung wurde der Krystallbrei durch einen auf das seitliche Ansatzrohr des Kolbens gesetzten Stickstoffdruck durch die eingesetzte Glasröhre in ein verschlossenes Schott'sches Glasfilter übergedrückt und der Filterrückstand mehrmals mit Pyridin gewaschen. Die Waschflüssigkeit wird auf dieselbe Weise aus einem an den Filterapparat angeschlossenen Kölbchen eingeführt. Luft-Zutritt ist während des Versuches peinlichst auszuschließen. Die Verbindung ist in den gebräuchlichen, wasser-freien Lösungsmitteln mit Ausnahme von Pyridin schwer löslich und liefert bereits mit Eisessig Indigo zurück.

Zur Analyse wurde die Substanz im Vakuum bei  $110^0$  getrocknet, bis sie pyridin-frei war.

0.2170 g Sbst.: 0.0302 g  $Fe_2O_3$ . —  $(C_{16}H_{10}O_2N_2)_2$ , Fe. Ber. Fe 9.62. Gef. Fe 9.73.

Bei Anwendung eines zu geringen Überschusses von Eisencarbonyl wurde bei sonst gleichen Bedingungen neben der mit gelbroter Farbe löslichen Eisenverbindung ein sehr schwer löslicher, in grünen Nadeln krystallisierender Körper erhalten, der sich auch bei weiterem Erhitzen nicht mehr verändert. Die Verbindung liefert ebenfalls mit Säuren und mit Wasser in der Hitze Indigo zurück, ist jedoch nicht sauerstoff-empfindlich. Die Vermutung, daß es sich um ein Additionsprodukt des im Verlaufe des Versuchs durch Zersetzung des  $\text{Fe}(\text{CO})_5$  entstandenen  $\text{Fe}_2(\text{CO})_7$  handeln könnte, wurde durch eine Eisen-Bestimmung gestützt.

23.067 mg Sbst.: 4.320 mg  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ . —  $(\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{O}_2\text{N}_2)_2 \cdot \text{Fe}_2(\text{CO})_7$ . Ber. Fe 13.42. Gef. Fe 13.10.

Die Indigo-Eisen-Verbindung zeichnet sich durch eine ganz enorme Sauerstoff-Empfindlichkeit aus: die rote Pyridin-Lösung färbt sich bei Luft-Zutritt momentan grün. Zur Bestimmung der Sauerstoff-Absorption wurde eine bestimmte Menge Indigo mit Eisencarbonyl in der angegebenen Weise in einem verschlossenen Fraktionierkolben umgesetzt, durch dessen Hals das außen zunächst abgeschmolzene Sauerstoff-Zuleitungsrohr reicht. Nach beendigter Einwirkung und kurzem Druckausgleich wurde ein gemessenes Volumen trocknen Sauerstoffs durch die Lösung und weiter durch das seitliche Ansatzrohr des Kolbens in ein zweites Meßgefäß gedrückt. Bei Temperierung des Gefäßes durch kaltes Wasser entspricht die Volumen-Abnahme des Gases der absorbirten Sauerstoff-Menge. Durch einen blinden Versuch wurde festgestellt, daß Eisencarbonyl in Pyridin-Lösung nach gleicher Vorbehandlung in der kurzen Zeit keinen Sauerstoff verbraucht.

Angewandt: 0.401 g Indigo; absorbiert 16.5 ccm O, ber. 17.1 ccm O (0°, 760 mm). — 0.406 g Indigo; absorbiert 17.0 ccm O; ber. 17.3 ccm O (0°, 760 mm).

Der Versuch ergab, daß auf 1 Atom Eisen 1 Mol. Sauerstoff absorbiert wird.

Nach Zusatz von etwas wasser-freier Blausäure zur roten, sauerstoff-empfindlichen Lösung tritt beim Einleiten von Sauerstoff zunächst keine Veränderung ein; bei längerem Durchleiten färbt sich die Flüssigkeit in dem Maße, wie die Blausäure entfernt wird, wieder grün. Erst bei mehr-tägigem Stehen bei Abwesenheit von Sauerstoff nimmt überschüssige Blausäure das Metall allmählich aus der Komplexverbindung heraus, und Indigo scheidet sich in krystallisierter Form aus.

Der aufgenommene Sauerstoff ist, wie schon ausgeführt, zunächst nur locker gebunden und wird bereits im Vakuum wieder abgegeben, wobei die rote Farbe zurückkehrt. Bei längerem Stehen der grünen Lösung in der Eiskälte tritt eine festere Bindung des bereits aufgenommenen Sauerstoffs ein; das Gas wird jetzt im Vakuum selbst bei höherer Temperatur nicht wieder abgegeben. Die in der Lösung vorliegende Verbindung wurde auf folgende Weise krystallisiert erhalten: Durch eine aus 1 g Indigo dargestellte Lösung der Eisenverbindung leitet man in der Eiskälte etwa 2 Min. lang einen Strom trockner Luft und läßt  $1/2$  Stde. unter Stickstoff-Atmosphäre stehen. Darauf wird die Flüssigkeit im Vakuum bei 30° so lange eingeengt, bis die Krystall-Ausscheidung beginnt, die durch kurzes Stehen in Eis vervollständigt wird. Es wurden dabei schöne grüne Prismen erhalten, die nach dem Trocknen im Vakuum bei 110° folgenden Eisenwert lieferten:

12.725 mg Sbst.: 1.625 mg  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ . —  $(\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{O}_2\text{N}_2)_2 \cdot \text{FeO}_2$ . Ber. Fe 9.12. Gef. Fe 8.94.

Die Verbindung ist in wasser-freien Lösungsmitteln in der Hitze relativ leicht löslich, dabei tritt jedoch allmählich auch unter Stickstoff ein Zerfall in Indigo, Isatin und ein farbloses Produkt ein. Beim Durchleiten von

Sauerstoff in der Wärme tritt dagegen eine vollkommen Oxydation des Farbstoffs ein, die ebenfalls nicht einheitlich verläuft. Mit Eisessig und Wasser in der Wärme liefert die Verbindung Indigo zurück.

Bei der Einwirkung von überschüssigem Sauerstoff auf die rote Pyridin-Lösung der Eisenverbindung findet ein vollständiger Umbau des Indigo-Moleküls statt; die dabei auftretenden Erscheinungen wurden bereits in der Einleitung beschrieben. Die entstehenden Verbindungen sind je nach der Dauer der Einwirkung und der Temperatur verschieden, jedoch findet Isatin-Bildung nur in geringer Menge statt. Als Endprodukt wurde dabei ein farbloser Körper vom saurem Charakter erhalten, als Zwischenprodukte wurden 4 gefärbte Verbindungen mit charakteristischen Absorptionsspektren festgestellt und bereits in kleiner Menge in krystallisierter Form isoliert. Je nachdem die Oxydation bei gewöhnlicher oder bei höherer Temperatur vorgenommen wird, erhält man bei kurzer Einwirkung zunächst einen mit blauvioletter bzw. mit kirschroter Farbe löslichen Körper, wobei sich der letztere durch Reduktionsmittel in Indigo zurückverwandeln lässt. Bei längerem Durchleiten von Sauerstoff bilden sich 2 weitere rote Farbstoffe mit 2 bzw. 3 Absorptionsstreifen im Grün, die scheinbar mit Indigo in keinem näheren Zusammenhange mehr stehen. Die nähere Untersuchung des Abbaus ist begonnen worden.

Zur Untersuchung der Einwirkung von Stickoxyd mußte von der isolierten Eisenverbindung ausgegangen werden, da das Gas auf das in der ursprünglichen Reaktionsflüssigkeit vorliegende überschüssige  $\text{Fe}(\text{CO})_5$  bzw. auf gebildetes  $\text{Fe}_2(\text{CO})_7$  einwirkt. Es scheint, daß das NO das CO aus dem Eisencarbonyl verdrängt und sich auch an  $\text{Fe}_2(\text{CO})_7$  anlagert, da beim blinden Versuch NO verbraucht wird. Die krystallisierte Eisenverbindung wurde wegen ihrer Empfindlichkeit in feuchtem Zustande in Pyridin unter Stickstoff gelöst und die angewandte Substanz nach dem Versuch aus der Menge des regenerierten Indigos berechnet. Die Einwirkung von NO erfolgte bei derselben Versuchs-Anordnung, die bei der Sauerstoff-Absorption beschrieben wurde. Beim Durchleiten der ersten Anteile von trocknem NO durch die gelbrote Lösung der Eisenverbindung schlägt die Farbe sofort nach blaugrün um. Mit weiterem NO schüdet sich nach und nach Indigo in krystallisierter Form aus. Das Ende der ersten Stufe der Reaktion läßt sich nicht genau bestimmen; im ganzen werden 5 Mol. NO absorbiert.

I. Regenerierter Indigo: 0.1932 g; gef. 39.3 ccm NO; ber. 41.2 ccm NO (0°, 760 mm).  
II. " " : 0.2150 g; " 44.5 ccm " ; " 46.1 ccm " (0°, 760 mm).

Dagegen konnte, wie in der Einleitung ausgeführt, CO nicht mehr an die Eisenverbindung angelagert werden<sup>11)</sup>.

<sup>11)</sup> Berichtigung. Wie uns Hr. Binz freundlichst mitteilt, entspricht die in der Abhandlung B. 58, 1860 [1925] von uns erwähnte Auffassung über die Theorie der Indigoküpe nicht mehr seinen heutigen Vorstellungen, die vielmehr in dem Ergänzungswerk zu Muspratts Chemie, S. 943, zusammengefaßt sind.