

Studien über den Blutfarbstoff.

V. vorläufige Mitteilung.

Von

H. Goldmann, J. Hetper und L. Marchlewski.¹⁾

(Der Redaktion zugegangen am 11. Mai 1905.)

Hämopyrrol ist bekanntlich nach Nencki und Zaleski²⁾ 3-Methyl-4-propylpyrrol, eine Ansicht, die zuerst auch von Küster³⁾ und seinen Mitarbeitern geteilt, später aber von ihm in Frage gestellt wurde.⁴⁾ Buraczewski und Marchlewski⁵⁾ versuchten das Problem durch synthetische Versuche zu fördern. Sie reduzierten das nach der Michael-Tissotschen Methode leicht darstellbare Methylpropyl-Maleinsäureimid und erhielten eine geringe Menge einer Substanz, die viele Eigenschaften des Hämopyrrols zeigte: unter anderen gab dasselbe bei der freiwilligen Oxydation unter dem Einfluß der Luft einen Farbstoff, der große Ähnlichkeit mit Urobilin besaß. Diese Experimente besaßen aber vorläufig nur einen qualitativen Charakter und waren daher nicht geeignet, das Problem der Konstitution des Hämopyrrols abzuschließen. In Anbetracht dieses Sachverhaltes besitzen wir eigentlich für die Ansicht, daß Hämopyrrol wirklich ein Pyrrolhomolog ist, nur zwei folgende, durchaus nicht gewichtige Stützen: nämlich die empirische Formel und die Tatsache, daß Hämopyrrol einen Fichtenspan rot färbt. Daran reihte sich dann die Entdeckung, daß Hämopyrrol mit Diazoniumverbindungen leicht reagiert, worauf Marchlewski

¹⁾ Mitgeteilt der Akademie der Wissenschaften zu Krakau in der Sitzung vom 9. Mai 1905.

²⁾ Bulletin intern. de l'Acad. des Sc. de Cracovie, 1901, S. 217.

³⁾ Ber., Bd. XXXV, S. 2948 (1902).

⁴⁾ Ber., Bd. XXXVII, S. 2470 (1904).

⁵⁾ Bull. intern. de l'Acad. des Sc. de Cracovie, 1904, S. 397.

mit Goldmann¹⁾ zuerst hingewiesen haben. Seitdem waren wir in der Lage, größere Mengen von Hämopyrrol in Arbeit zu nehmen, und die dabei erhaltenen Resultate sollen jetzt mitgeteilt werden.

Die Entdeckung, daß Pyrrol und einige seiner Homologen mit Diazoniumverbindungen reagieren, verdanken wir Fischer und Hepp.²⁾ Die Genannten fanden, daß Pyrrol in sauren Lösungen Monoazofarbstoffe, in alkalischen hingegen, bei Anwesenheit zweier Moleküle der Diazoniumverbindung, Disazofarbstoffe liefert. Sie überzeugten sich auch, daß das Diazoniumradikal mit gleicher Leichtigkeit α - wie β -Wasserstoffatome des Pyrrols substituieren kann, und es war daher höchst wahrscheinlich, daß Hämopyrrol ebenfalls leicht Azofarbstoffe liefern wird. Diese Vermutung hat sich auch bekanntlich bestätigt, nur zeigte es sich, daß die Reaktion weit komplizierter ist, als vorher angenommen wurde, daß nämlich unter den gewählten Versuchsbedingungen drei verschiedene Körper gebildet werden, von denen bis jetzt jedoch nur der in größeren Mengen und der beständigere quantitativ untersucht werden konnte.

Hämopyrrol und Benzoldiazoniumchlorid.

Hämopyrrol wurde nach der üblichen Nencki-Zaleskischen Methode durch Reduktion von Hämin mit Jodwasserstoffsäure in essigsaurer Lösung bei Anwesenheit von Jodphosphonium dargestellt. Für jedes Experiment wurden 5 g Hämin, 100 g Jodwasserstoffsäure, 100 g Eisessig und ca. 8 g Jodphosphonium angewandt. Nach vollendeter Reduktion wurde der größte Teil der Säuren neutralisiert und das gebildete Hämopyrrol mit Wasserdämpfen im Kohlensäurestrom abdestilliert. Sobald eine Probe des Destillates keine Reaktion mit HgCl_2 mehr gab, wurde das ganze Destillat mit Äther ausgeschüttelt und in dieser Weise das Hämopyrrol in Äther gelöst. Nach Ablassung der wässrigen Schicht wurde die ätherische Lösung sofort mit einer Lösung von Benzoldiazoniumchlorid durchgeschüttelt.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLIII, S. 415 (1905).

²⁾ Ber., Bd. XIX, S. 2251.

Letztere enthielt ein Molekül freier Salzsäure und wurde aus 50 ccm $\frac{1}{5}$ -normalsalzsäurem Anilin auf übliche Art dargestellt. Der Äther nahm dabei sofort eine rotbraune Farbe an, die nach und nach an Intensität zunahm und schließlich violettbraun erschien. Nach dem Abgießen der ätherischen Schicht bildeten sich bald am Boden des Gefäßes gelbliche Nadeln, die aber nach längerem Stehen der Flüssigkeit braunen Nadelchen Platz machten. Letztere wurden abfiltriert und sodann auf folgende Art umkristallisiert. Zunächst löste man sie in siedendem Alkohol und setzte dann etwas mit Chlorwasserstoff gesättigten Äther hinzu und schließlich ca. 2 Volumen Äther im Verhältnis zum Alkohol. Sehr bald schieden sich schöne braune, glänzende Nadelchen eines Chlorhydrates ab. Der Schmelzpunkt derselben im nichtpulverisierten Zustande liegt, wie früher angegeben, bei 241,5, im gepulverten bei 233°. Wie die unten angeführten Analysen beweisen, liegt hier das Chlorhydrat des Hämopyrrol-disazodibenzols vor.

1. a)	0,1224 g Substanz gaben	0,0789 g H ₂ O und	0,2908 g CO ₂
b)	0,1475 » » »	0,0879 » » »	0,3508 » »
2. a)	0,1065 » » »	0,0661 » » »	0,2566 » »
b)	0,1162 » » »	18,6 ccm N bei t = 15°, b = 738 mm	
3.	0,1181 » » »	19,35 » » »	t = 21°, b = 740 »
4. a)	0,1417 » » »	0,0879 g H ₂ O und	0,3414 g CO ₂
b)	0,1300 » » »	21,1 ccm N bei t = 13°, p = 746 mm	
5. a)	0,1083 » » »	17,5 » » »	t = 16°, p = 746 »
b)	0,1101 » » »	0,0723 g H ₂ O und	0,2650 g CO ₂
6. a)	0,1925 » » »	0,0688 » AgCl	
b)	0,1304 » » »	21,6 ccm N bei t = 17°, p = 742 mm	
c)	0,1027 » » »	0,0659 g H ₂ O und	0,2453 g CO ₂

Die Analysen beziehen sich auf sechs verschiedene Darstellungen.

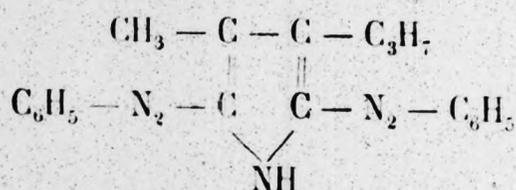
	1.		2.		3.	4.		5.		6.		
	a)	b)	a)	b)		a)	b)	a)	b)	a)	b)	c)
C	64,79	64,86	65,71	—	—	65,70	—	—	65,64	—	—	64,94
H	7,17	6,62	6,89	—	—	6,89	—	—	7,29	—	—	7,22
N	—	—	—	18,20	18,16	—	18,74	18,49	—	—	18,76	—
Cl	—	—	—	—	—	—	—	—	—	8,83	—	—

	Gefunden im Mittel:	Berechnet	
		für $C_{20}H_{22}N_5Cl$	für $C_{14}H_{18}N_5Cl$
C	65.27%	65.25%	63.77%
H	7.01%	6.03%	6.83%
N	18.47%	19.08%	15.94%
Cl	8.83%	9.64%	13.48%
	99.58%	100.00%	100.00%

Wie ersichtlich, stimmen die gefundenen Werte ziemlich gut auf die Formel des Hämopyrrol-disazodibenzols, nicht aber die des Hämopyrrol-monoazobenzols. Der zu hoch ausgefallene Wasserstoffwert ist wahrscheinlich durch eine ungenügende Absorption der Chlordämpfe zu erklären.

Hämopyrrol-disazodibenzol-Hydrochlorid kristallisiert in wohlausgebildeten braunen Rhomboiden, die denen des Hämins ähneln. Sie besitzen schwachen Metallglanz, wie die meisten Azofarbstoffe. In siedendem Alkohol lösen sie sich leicht mit rotvioletter Farbe, die der von Permanganatlösungen sehr ähnelt. In Äther, Benzol und Chloroform lösen sie sich nur sehr schwer. Eisessig löst sie mit Leichtigkeit; die Farbe der entstehenden Lösung ist blauer als der alkoholischen. In konzentrierter Schwefelsäure löst sich der Disazofarbstoff mit blauvioletter Farbe auf, die jedoch alsbald röter wird und den alkoholischen Lösungen gleicht. Kaliumhydrat, zu der alkoholischen Lösung des Körpers zugesetzt, verursacht einen deutlichen Farbenumschlag: die Färbung ist jetzt mehr rot, der der Oxyhämoglobinlösungen analog. Wird die alkoholisch-alkalische Lösung mit Wasser versetzt, so bildet sich ein feiner Niederschlag und wird nun die Suspension mit Äther ausgeschüttelt, so geht der Farbstoff in diesen mit prächtig roter Farbe über. Nach dem Abdestillieren des Äthers hinterbleibt eine glänzende rote Masse, die in allen organischen Lösungsmitteln äußerst leicht löslich ist. Aus verdünntem Alkohol kann man den freien Azofarbstoff kristallisieren. Seine ätherische Lösung mit verdünnter Salzsäure geschüttelt gibt sofort eine kristallinische Abscheidung des Chlorhydrates. Quantitativ konnten wir den freien Farbstoff Mangels an Material wegen noch nicht untersuchen.

Was die Konstitution des freien Azofarbstoffes anbelangt, so kann man dieselbe wie folgt ausdrücken:



wobei man aber immer darauf bedacht sein muß, daß es noch nicht bewiesen ist, daß Hämopyrrol Methyl-propylpyrrol und nicht ein anderes Homolog des Pyrrols ist. Ebensowenig ist es bewiesen, daß beide Akygruppen (wenn wirklich zwei derselben anzunehmen sind) in der β -Stellung vorhanden sind. Die Leichtigkeit, mit der Hämopyrrol einen Disazofarbstoff liefert, ist jedoch sehr bezeichnend, vielleicht steht dieselbe in einem Zusammenhang mit der Konstitution desselben und es wäre sicherlich interessant, bekannte Pyrrolhomologe, mit zwei Akygruppen, auf die Fähigkeit, Disazofarbstoffe in saurer Lösung zu bilden, zu prüfen.

Hämopyrrol-disazodibenzol wird durch Wasserstoff in statu nascendi leicht reduziert; es entsteht eine beständige farblose Lösung des Reduktionsproduktes. Eine nähere Untersuchung derselben konnten wir leider nicht durchführen, die uns zur Verfügung stehende Materialmenge war hierfür viel zu klein.

Die spektroskopischen Eigenschaften dieses neuen Hämopyrrolabkömmlings sind nicht besonders interessant. Der freie Disazofarbstoff, in organischen Solventien gelöst, verursacht im Spektrum zwei Bänder, deren Lage durch folgende Wellenlängen charakterisiert ist:

$$\text{Band 1: } \lambda \ 551 - \lambda - 532$$

$$\text{» 2: } \lambda \ 517 - \lambda - 495$$

Das Hydrochlorid in Alkohol gelöst verursacht nur ein Band, welches nicht gut begrenzt ist und auf der Thalliumlinie zu liegen kommt.

Im Ultraviolett verursacht weder der freie Farbstoff noch seine Salze charakteristische Bänder: nur eine sogenannte ziemlich starke Endabsorption ist zu bemerken, die sich aber auch bei weitgehender Verdünnung in Bänder nicht auflösen

läßt. Die Untersuchung dieser Verhältnisse geschah auf photographischem Wege, bei Anwendung von Iceland-Spatt-Prisma und Quarzlinse.

Von Interesse ist, daß Hämopyrrol-disazodibenzol mit Salzen einiger Metalle salzartige Verbindungen bilden kann, was bis jetzt nur auf spektroskopischem Wege ausfindig gemacht wurde. Setzt man zu der alkoholischen Lösung des Hämopyrrol-disazodibenzols eine Lösung von Zinkacetat in 50% igem Alkohol, so bemerkt man einen Farbenumschlag: die ursprüngliche rotviolette Lösung wird ganz bedeutend blauer und man sieht nun zwei Absorptionsbänder, deren Lage etwa den folgenden Wellenlängen entspricht:

$$1. \lambda - 607 - 577; \quad 2. \lambda - 563 - 538.$$

Analoge Verbindungen wurden bekanntlich auch von den drei bekannten Porphyrinen gebildet. Die Zinkverbindungen haben ganz andere Spektren als die alkalischen Lösungen dieser Substanzen und es erscheint daher der Schluß gerechtfertigt, daß die Konstitution dieser zwei Reihen von Metallverbindungen verschieden ist. Dieser Schluß wird noch durch die Beobachtung erhärtet, daß Dimethylhämatorphin, welches keine freien Hydroxylgruppen mehr enthält, noch imstande ist, wohl charakteristische Verbindungen mit Zink oder Kupfersalzen zu bilden. Diese Verbindungen müssen in diesem Falle dank der Anwesenheit von Imidgruppen zustande kommen, und diese Annahme wird nun durch die oben erwähnte Beobachtung am Hämopyrrol-disazofarbstoff bekräftigt.

Die Kristalle mit dem Schmelzpunkt 233° sind, wie bereits eingangs erwähnt, nicht das einzige Reaktionsprodukt, welches isoliert werden kann; ihrer Bildung geht die Entstehung gelber Kristalle voran, welche sehr wahrscheinlich den Monazofarbstoff vorstellen, welcher mit dem in Äther gelösten Benzoldiazoniumchlorid den Disazofarbstoff liefert. Wir bemerkten aber noch einen dritten, schön kristallinen Körper, der entweder ein Oxydationsprodukt des Hämopyrrol-disazodibenzols ist, oder aber von einem anderen Pyrrolderivat her stammt, der neben dem eigentlichen Hämopyrrol bei der Destillation des Reduktionsgemisches das Hämin mit Wasserdämpfen übergeht. Man

gewinnt ihn aus den Mutterlaugen des Disazofarbstoffs, die eine geringe Menge eines prächtigen, in Nadeln kristallisierenden Körpers absetzen: dieselben erscheinen kupferrot, besitzen starken Metallglanz und lösen sich äußerst schwer mit blauer Farbe in Alkohol, Äther oder Chloroform. Diese Schwerlöslichkeit, aber trotzdem Abscheidung erst in den Mutterlaugen, scheint dafür zu sprechen, daß die erstere oben angeführte Annahme bezüglich der Natur dieses Körpers wahrscheinlich ist.

Hämopyrrol und Toluoldiazoniumchlorid.

Hämopyrrol-disazoditoluol wird in ganz analoger Weise erhalten wie die entsprechende Benzolverbindung. Auch in diesem Falle beobachteten wir die Bildung der vergänglichen gelben Kristalle und die Entstehung geringer Mengen des kupferroten Körpers. Das Hydrochlorid, welches dunkelbraune, glänzende Nadeln vorstellt, schmilzt bei 254° . Seine Lösungen sind etwas blauer als die des Benzolderivates. Durch Alkalizusatz wird der freie, in organischen Solventien leicht lösliche Farbstoff gewonnen. Die Lösung in konzentrierter Schwefelsäure ist anfangs blau, wird aber mit der Zeit rotviolett. Die spektroskopischen Eigenschaften unterscheiden sich wenig von denen des oben besprochenen Benzolderivates.

Analyse:

0.1125 g Substanz gaben 17,8 ccm N bei $t = 20^{\circ}$, $p = 744$ mm	
Gefunden:	Berechnet für $C_{22}H_{26}N_5Cl$:
N = 17,72%	17,69%

Es sei noch erwähnt, daß 15 g Hämin ca. 0,3 g des reinen Farbstoffchlorids liefern.

Die Entdeckung der Azoverbindungen des Hämopyrrols wird die Identifizierung synthetischer Produkte, die als Hämopyrrol angesehen werden, sehr erleichtern. Der eine von uns wird mit J. Buraczewski prüfen, wie sich das von ihnen durch Reduktion des Methyl-propyl-Maleinsäureimids erhaltene Pyrrolhomolog Diazoniumverbindungen gegenüber verhalten wird.

Krakau, im Mai 1905.