

# Studien über die Ursachen der Färbung animalischer Fasern.

## II. Mitteilung.

### Das Farbstofffällungsvermögen der vom Guanidin sich ableitenden Substanzen.

Von

**W. Suida.**

(Der Redaktion zugegangen am 12. August 1910.)

Im Jahre 1906 veröffentlichte ich in dieser Zeitschrift<sup>1)</sup> die Resultate einiger Studien über die Ursachen der Färbung animaler Fasern. Damals teilte ich das Verhalten einer Reihe von Spaltungsprodukten der Eiweißkörper und diesen nahestehenden Substanzen gegen Farbstoffe saurer oder basischer Natur mit und machte ich besonders auf das hervorragende Fällungsvermögen des Guanidins und einiger die Guanidylgruppe enthaltender Verbindungen für saure Farbstoffe aufmerksam.

Gelegentlich der Versammlung deutscher Naturforscher und Ärzte in Salzburg im Jahre 1909 konnte ich mitteilen,<sup>2)</sup> daß eine Vorbehandlung der animalischen Faser mit Phosphorwolframsäure das Anfärben dieser Faser mit sauren Farbstoffen verhindert, daß das Anfärben jedoch sofort wieder in normaler Weise geschehen kann, wenn man die mit Phosphorwolframsäure präparierte Faser mit einer verdünnten Lösung von Ammoniumcarbonat behandelt und dann sorgfältig auswäscht.

Seither gelang es mir neuerlich, Beobachtungsmaterial zu sammeln, welches nicht nur die in der erstgenannten Veröffentlichung gemachten theoretischen Betrachtungen stützt, sondern das auch die Beziehungen der Farbstoffe zur Guanidingruppe beleuchtet.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. L, S. 174.

<sup>2)</sup> Zeitschr. f. angew. Chem., Bd. XXII, S. 2131.

Daß das Guanidin sowie die diesem nahestehenden Substanzen (Dicyandiamid, Melamin) mit Farbsäuren krystallisierte, nach bestimmten Verhältnissen zusammengesetzte Verbindungen liefert, hat schon L. Radlberger<sup>1)</sup> bewiesen. Ebenso ist das Pikrat des Guanidins und sind Pikrate vieler die Gruppe  $= \text{N} - \overset{|}{\text{C}} - \text{N} =$  bzw.  $= \text{N} - \overset{|}{\text{C}} = \text{N} -$  enthaltende Verbindungen schon lange bekannt und analysiert.

Wenn man auch aus diesen Daten schließen mußte, daß hier salzartige Vereinigungen basischer und saurer Substanzen vorlagen, so konnte man doch auch der Ansicht sein, daß hier auch solche rein additionelle Vorgänge, bedingt durch das Vorhandensein mehrerer basischer Gruppen im Guanidin, vor sich gehen, wie dies bei den Glycinverbindungen der Guanidinsalze der Fall ist.<sup>2)</sup>

Zur Entscheidung dieser Frage habe ich mir zuerst reines salzsaures Guanidin hergestellt. Die wässrige Lösung desselben gibt ebenso wie das Guanidincarbonat mit den wässrigen Lösungen der Pikrinsäure oder der reinen chlorfreien Farbsäuren schwerlösliche krystallinische Niederschläge. Der quantitative Verlauf dieser Reaktionen zeigt, daß das von den erhaltenen Niederschlägen abgesaugte noch etwas gefärbte Filtrat das gesamte (bei Pikrinsäure), oder doch nahezu das gesamte Chlor als Salzsäure enthält:

1. 0,599 g Pikrinsäure wurden in Wasser gelöst und hierzu eine Lösung von 0,25 g salzsaurem Guanidin gefügt. Der entstandene, gewaschene Niederschlag wog 0,658 g = 87,38 % der theoretischen Ausbeute. Im Filtrate wurden 0,0914 g Chlor gefunden gegen 0,0915 g Chlor im Guanidinchlorhydrat.

2. 1,20 g reine, chlorfreie Krystallponceausäure wurden mit 0,5 g salzsaurem Guanidin in wässriger Lösung vereinigt. Das Gewicht des etwas gewaschenen Niederschlages betrug 1,158 g = 76,7 % der theoretischen Ausbeute (der Körper ist

<sup>1)</sup> Monatshefte f. Chemie, 1908, 9:32.

<sup>2)</sup> Nencki, Sieber, Journ. f. pr. Chem. [2], Bd. XVII, S. 480. — Baumann, Ber., Bd. VII, S. 1151.

nicht ganz unlöslich, aber die freie Farbsäure ist in Wasser äußerst leicht löslich). Im Filtrat wurden 0,1724 g Chlor gefunden, d. h. 94,2% des im verwendeten salzsauren Guanidin enthaltenen Chlors.

Schon die schwache Pikrinsäure ist also trotz der Bildung eines keineswegs ganz unlöslichen Salzes imstande, die Salzsäure aus ihrer Verbindung mit Guanidin zu verdrängen.

Es schien mir nun das salzsaure Guanidin als ein sehr gutes Reagens auf saure oder basische Farbstoffe zu sein, besonders dann, wenn noch eine freie Säure, wie Essigsäure, zugegen war. Ich stellte mir deshalb eine Reagenzflüssigkeit her aus 5 g salzsaurem Guanidin und 3 g Eisessig in 100 ccm Wasser und untersuchte mit dieser eine große Reihe von sauren und basischen Farbstoffen, welche in wässriger Lösung mit Säuren allein keine Fällungen zu geben imstande sind. Je einen Kubikzentimeter dieser Reagenzlösung fügte ich zu 2—3 ccm der kalten Farbstofflösung und beobachtete nach etwa einer Viertelstunde, ob eine Ausscheidung stattgefunden hatte. Hierbei ergab sich:

I. Daß alle rein basischen, nicht sulfurierten Farbstoffe keine Fällung ergaben. Die untersuchten Farbstoffe waren: Chrysoidin, Neuphosphin G, Brillantgrün, Fuchsin, Krystallviolett, Methylgrün, Neuviktoriablau B, Pyronin G, Rhodamin 3 B, Phosphin N, Baumwollblau R, Echtbaumwollblau B, Neumethylenblau GG, Methylenblau BG, Methylengrün extra gelblich G conc., Toluidinblau O, Neumethylenblau N, Neutralviolett, Neutralrot, Neutralblau, Echtneutralviolett B, Safranin T, Irisviolett, Indazin M und Thioflavin T (25 Farbstoffe).

II. Daß man bei den Farbstoffen, welche Aminosulfosäuren sind, wohl eine Abnahme der Fällbarkeit mit Zunahme der Aminogruppen und der Sulfoxylgruppen häufig wahrnehmen kann, daß indes dieser Schluß nicht immer gerechtfertigt ist und daß hier wohl auch noch andere Momente mit im Spiele zu sein scheinen. Die untersuchten Farbstoffe waren:

Orseilbersatz N extra

Toluylenrot

Säureviolett 6 BN

Chinolingelb

Guineagrün B

Patentblau VN superfin

Echtsäureviolett 10 B  
 Säureviolett 4 B extra  
 Säureviolett 7 B  
 Rotviolett 5 RS

Lichtgrün SF bläulich  
 Lichtgrün SF gelblich  
 Echtgrün  
 Marineblau BW  
 Fuchsin S  
 Pyraminorange 3 G.

Von den vorstehenden 16 Farbstoffen gaben die links befindlichen reichliche Niederschläge, die rechts angeführten jedoch keine Fällungen mit dem Guanidinreagens.

III. Daß nahezu alle untersuchten Oxyazofarbstoffe (mit Ausnahme von Eosamin B und Azofuchsin G) sowie Pikrinsäure und Alizarinrot mehr oder weniger quantitativ gefällt werden. Für den quantitativen Verlauf der Reaktion scheint hier neben der Zahl auch die Stellung der Hydroxyl- und Sulfoxygruppen von Einfluß zu sein. Untersucht wurden folgende 20 Farbstoffe: Pikrinsäure, Echtrot, Ponceau 2 G, Orange GG, Ponceau 2 R, Ponceau 3 R, Krystallponceau, Echtrot B, Coccin 2 B, Echtrot NS, Croceinscharlach O extra, Brillantcrocein 9 B, Chrysoin, Alizarinrot S, Chromotrop 2 R, Chromotrop 2 B, Azocochenille, Eosamin B, Azofuchin G, Dianilblau.

IV. Daß die Oxyfarbstoffe, welche gleichzeitig noch freie oder alkylierte Aminogruppen enthalten, mit Zunahme der Aminogruppen immer schlechter gefällt werden; es erscheint jedoch nicht ausgeschlossen, daß hier auch die Zunahme der Sulfoxygruppen die Fällbarkeit dieser Farbstoffe beeinflusst. Die 11 untersuchten Farbstoffe waren: Phenoflavin, Palatin-schwarz, Lanacylviolett, Cyanol extra, Viktoriaviolett 4 BS, Chromotrop 6 B, Oxaminblau B, Lanacylblau B, Diaminschwarz BH, Chicagoblau 6 B, Diaminreinblau.

V. Daß, während die Carbonsäure-Disulfosäure (Tartrazin) keine Fällung ergibt, die Farbstoffe, welche Hydroxylgruppen und Carboxylgruppen oder diese und Sulfoxygruppen aufweisen, gleichgültig ob sie noch Aminogruppen enthalten oder nicht, Fällungen geben. Sind in den Farbstoffen aber keine Hydroxylgruppen, dagegen Amino- oder alkylierte Aminogruppen neben Carboxylgruppen vorhanden, so tritt keine Fällung ein. Die untersuchten 7 Farbstoffe waren: Tartrazin,

Benzoorange R, Oxaminmarron, Oxaminrot, Carbazolgelb, Rhodamin S, Rhodamin G, Chromgrün.

Wenn das Guanidinchlorhydrat somit auch kein untrügliches Erkennungsmittel für alle Farbstoffe genannt werden kann, so dürfte es doch in vielen Fällen ein brauchbares Hilfsmittel bei der Identifizierung von Farbstoffen sein.

Jedenfalls läßt sich aber aus diesen Versuchen entnehmen, welche wichtige Rolle bei der Fixation von sauren Farbstoffen durch basische Substanzen einerseits den Phenolhydroxylgruppen und andererseits den aromatischen Aminogruppen zukommt. Die Carboxyl- und die Sulfoxygruppen, insbesondere die letzteren spielen viel bescheidenere, untergeordnetere Rollen. Faßt man diese Tatsache ins Auge, so gelangt man abermals zur Erkenntnis der besonderen Wichtigkeit der Verbindungen der Phenole mit den Aminen. Soweit hier Farbstoffe mitspielen, sind diese Verhältnisse schon in einer Arbeit von F. Glassner und W. Suida<sup>1)</sup> berührt worden. In neuester Zeit hat J. Dollinger<sup>2)</sup> eine Reihe von nahezu unlöslichen Phenol-Amin-Verbindungen untersucht und beschrieben und auch ihr Verhalten gegen Farbstofflösungen geprüft. Diese Arbeit wird von dem Genannten nun auf die Farbstoffverbindungen ausgedehnt. Einzelne solche Verbindungen sind schon seinerzeit von Rötheli<sup>3)</sup> hergestellt und beschrieben worden.

In Erkenntnis der Wichtigkeit der Guanidylgruppe für die Fixation der sauren Farbstoffe durch die animalischen Fasern war ferner zu untersuchen, ob die Verhinderung der Farbsäureverbindung auf der Faser durch Vorbehandlung mit Phosphorwolframsäure sich auch beim Guanidin behufs Verhinderung der Bildung der Farbsäureverbindung verwenden lasse.

Das Verhalten von Guanidinsalzen gegen Phosphorwolframsäure scheint nicht bekannt zu sein; ich habe trotz eifrigem Suchens in der Literatur darüber nichts finden können. Fügt man zu irgend einem in Wasser löslichen Guanidinsalz Phos-

<sup>1)</sup> Ann. Chem., Bd. CCCLXI, S. 353.

<sup>2)</sup> Sitzungsber. d. kaiserl. Akademie d. Wissensch., Bd. CXIX, Abt. IIb. April 1910.

<sup>3)</sup> Inauguraldissertation. Zürich 1898.

phorwolframsäure, so fällt sofort ein dicker, sich rasch absetzender weißer Niederschlag aus, der auch beim Kochen der Flüssigkeit unter Zusatz von mehr Wasser nicht in Lösung geht. Dieses Phosphorwolframat löst sich jedoch sofort auf Zusatz von Ammoniak oder Ammoncarbonat auf. Kocht man den Niederschlag mit Farbsäuren, welche sonst lösliche Guanidinsalze prompt fällen, so tritt keine Veränderung ein: Beim Abkühlen setzt sich der weiße Niederschlag am Boden des Gefäßes ab und über demselben steht die unveränderte Farbsäurelösung. Fügt man aber ein wenig Ammoniak oder Ammoncarbonatlösung hinzu, so tritt momentan Veränderung ein, der Niederschlag wird gefärbt und gewinnt ein krystallinisches Äußere. Es läßt sich also der seinerzeit beschriebene,<sup>1)</sup> mit der Faser ausgeführte Versuch mit ganz gleichem Erfolge im Reagenzglas mit Guanidin ausführen. Da die Phosphorwolframsäure ein vorzügliches Fällungsmittel für die basischen Spaltungsprodukte der Eiweißkörper darstellt, diese Spaltungsprodukte aber zum Teil auch die auch im Guanidin enthaltene Gruppe N—C—N enthalten, so ist wohl kaum mehr zu zweifeln, daß diese Spaltungsprodukte resp. die in ihnen enthaltene N—C—N-Gruppe es sind, welche die Farbsäuren auch in den Eiweißkörpern binden. Da ferner die Arbeiten L. Radlbergers<sup>2)</sup> ergeben haben, daß die Verbindungen des Guanidins mit Farbsäuren nach stöchiometrischen Verhältnissen zustande kommen, so ist auch zu schließen, daß auch mit der Faser beim Färben mit Farbsäuren chemische Verbindungen, d. h. Verbindungen nach stöchiometrischen Verhältnissen entstehen.

Es war nun von großem Interesse, möglichst viele Substanzen, welche zu den Eiweißkörpern oder ihren Spaltungsprodukten in Beziehungen stehen und die physiologisch-chemisch wichtig sind, in den Kreis der Untersuchung zu ziehen und insbesondere deren Verhalten gegen Farbstoffe zu prüfen. Bei der Durchführung dieser Versuche zeigte sich folgendes:

a) Alle untersuchten offenen oder zyklischen Substanzen, welche die Gruppe = N — CO — N = oder — N = C(OH) — N =

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. angew. Chemie, Bd. XXII, S. 2131.

<sup>2)</sup> l. c.

enthalten, d. h. an dem zwischen den zwei Stickstoffatomen stehenden Kohlenstoffatom Sauerstoff oder eine Hydroxylgruppe enthalten, sind nicht imstande, mit Farbsäuren<sup>1)</sup> schwer- oder unlösliche Verbindungen einzugehen. Diese Substanzen zeigen auch, wie bekannt, meist sauren Charakter, weshalb manche unter ihnen mit basischen Farbstoffen schwer lösliche Verbindungen bilden (z. B. Barbitursäure, Harnsäure, Cyanursäure, Ammelid, Ammelin). Geprüft wurden hier folgende Substanzen:

Harnstoff, Biuret, Cyanursäure, Ammelid, Ammelin, Parabansäure, Barbitursäure, Alloxan, Harnsäure, Theobromin, Caffein, Phenylharnstoff,  $\alpha$ -Phenylhydantoin, Glycinanhydrid, Phenylglycinanhydrid. Die Prüfung wurde in derselben Weise vorgenommen, wie dies seinerzeit<sup>2)</sup> beschrieben worden war.

b) Alle Guanidinderivate mit offener Kette, welche nicht durch saure Gruppen substituiert sind, wie Guanidin, Amidoguanidin, Cyanguanidin (Dicyandiamid), Guanylharnstoff (Dicyandiamidin), Biguanid, Arginin geben in wässriger Lösung mit Farbsäuren schwerlösliche, teils krystallinische, meist fast unlösliche Verbindungen. Nitroguanidin, Guanylessigsäure (Glykocyamin) und Kreatin geben unter gleichen Umständen keine schwerlöslichen Farbsäureverbindungen.

c) Alle untersuchten zyklischen Verbindungen, welche die Guanylgruppe enthalten, oder zwischen zwei Stickstoffatomen ein Kohlenstoffatom besitzen, an welches kein Sauerstoffatom gebunden erscheint, geben in wässriger Lösung mit Farbsäuren schwer- oder unlösliche, teils krystallinische Verbindungen. Die untersuchten Substanzen waren folgende: Kreatinin<sup>3)</sup>, Glykocyamidin, Melanin, Acetoguanamin, Malonylguanidin, Histidin, Guanin und Pilocarpin. Es ist hier gleichgültig, ob man die freien Basen oder deren lösliche Salze zu den Versuchen verwendet.

Betrachtet man das Guanidin als ein Aminofornamidin, so kann man alle unter b) und c) genannten Substanzen als

<sup>1)</sup> Als Farbsäuren wurden meist Pikrinsäure, Orange-II-Säure, Krystallponceau-Säure, Orange-GG-Säure, Congo-Säure usw. verwendet.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. L. S. 174.

<sup>3)</sup> Vgl. H. Huppert, Analyse des Harns, S. 255.

Amidine auffassen. Ob die Eigenschaft, Farbsäuren in schwer- oder unlösliche Verbindungen abzuführen, eine allgemeine Eigenschaft der Amidine ist, sollen weitere Untersuchungen erweisen. Unmöglich erscheint dies nicht, denn schon E. Bamberger<sup>1)</sup> und auch W. Dieckmann<sup>2)</sup> haben die schwere Löslichkeit von Diguanid-, Formamidin-, Acetamidin- und Benzenylamidin-pikrat hervorgehoben, obzwar die Bildung solcher Pikrate nicht immer mit der Entstehung anderer schwer- oder unlöslicher Farbsäureverbindungen Hand in Hand geht.

Recht weitgehend parallel mit der Bildung von schwer- oder unlöslichen Farbsäureverbindungen ist aber die Fällbarkeit bzw. Nichtfällbarkeit der untersuchten Substanzen durch Phosphorwolframsäure. Durch die Lösung dieser Säure werden gefällt die verdünnten wässrigen Lösungen von:

Guanidin, Amidoguanidin, Kreatinin, Arginin, Histidin, Methylbenzimidazol, Diguanid, Guanin, Acetoguanamin, Melamin, Guanylharnstoff, Glykocyamidin, Pilocarpin.

Ferner werden auch durch Phosphorwolframsäure gefällt die verdünnten wässrigen Lösungen von Kreatin, Glykocyamin, Ammelin, Theobromin, Caffein und Piperazin (welche keine schwerlöslichen Farbsäureverbindungen liefern); nicht gefällt wird Dicyandiamid (welches mit Farbsäuren relativ schwerlösliche Verbindungen gibt).

Durch Phosphorwolframsäure werden nicht gefällt die auch nicht durch Farbsäuren fällbaren Lösungen von Harnstoff, Biuret, Nitroguanidin, Cyanursäure, Ammelid, Parabansäure, Barbitursäure, Harnsäure, Phenylharnstoff,  $\alpha$ -Phenylhydantoin, Glycylglycin, Glycinanhydrid.

Hervorzuheben ist in dieser Hinsicht das Verhalten von Melamin, Ammelin, Ammelid und Cyanursäure; die ersten zwei Substanzen werden durch Phosphorwolframsäure gefällt, die letzteren zwei nicht. Ebenso interessant ist das Verhalten der untersuchten Purinkörper:

Harnsäure (2-6-8-Trioxypurin)	gibt keine Fällung:
Theobremine (ein 2-6-Dioxypurin)	» eine »

<sup>1)</sup> Ber. Bd. XXV, S. 545.

<sup>2)</sup> Ber. Bd. XXV, S. 546.

Caffein (ebenfalls ein 2-6-Dioxyypurin) gibt eine Fällung  
 Guanin (ein 6-Oxyypurin)

Ist somit die Imidazolgruppe sauerstofffrei, so entsteht eine Fällung mit Phosphorwolframsäure. In gleicher Art ist wohl auch das negative Verhalten des Malonylguanidins durch die Bindung der beiden CO-Gruppen an den beiden Stickstoffatomen zu erklären.

Eine vollständige Ausnahme bildet indes das Dicyandiamid und der Guanylharnstoff (Dicyandiamidin): die Lösung des ersteren Körpers wird durch Phosphorwolframsäure nicht, die Lösung des letzteren Körpers dagegen vollständig gefällt, obzwar beide Substanzen mit Farbsäuren schwerlösliche Verbindungen geben. Wird die wässrige Lösung von Dicyandiamid mit Phosphorwolframsäure versetzt, dann wenig Salzsäure zugefügt und das Gemenge nun erwärmt, so entsteht allmählich ein immer stärker werdender Niederschlag, offenbar in dem Maße, als Dicyandiamidin entsteht. Es ist demnach die Phosphorwolframsäure ein vorzügliches Erkennungsmittel dafür, ob Dicyandiamid oder Guanylharnstoff (Dicyandiamidin) vorliegt.

Bezüglich der Durchführung der angeführten Versuche ist zu bemerken, daß es ganz einerlei ist, ob man hierzu die freien Basen oder deren neutrale Salze verwendet.

Von den zahlreichen in die Untersuchung gezogenen Körpern waren einige in genügend reinem Zustande im Handel zu bekommen; viele dieser Substanzen mußten aber erst eigens für die Zwecke dieser Arbeit nach verschiedenen Methoden darzustellen versucht bzw. gewonnen werden. Herr Hofrat Professor Dr. E. Ludwig überließ mir Kreatin und Kreatinin-Chlorzink, wofür ich auch hier meinen besten Dank ausspreche.

Zur Gewinnung ganz reinen Biguanids erweist sich die Methode von Herth<sup>1)</sup> aus Dicyandiamid und ammoniakalischer Kupferlösung als die sicherste; Malonylguanidin wurde nach Michael<sup>2)</sup> und Acetoguanamin nach v. Nenckis<sup>3)</sup> Vorschrift gewonnen.

<sup>1)</sup> Monatsh. f. Chemie. I. S. 88.

<sup>2)</sup> Journ. f. pr. Chemie. II. Bd. 49, S. 35.

<sup>3)</sup> Ber. Bd. VII. S. 1584.

Das zuerst von H. Leuchs und W. Manasse<sup>1)</sup> hergestellte N-Glycyl-N-phenylglycinanhydrid gewann ich neben etwas unlöslichem Diphenyldiazipiperazin<sup>2)</sup> durch Erhitzen eines Gemenges von Phenylglycin und Glykokoll (im Verhältnisse gleicher Moleküle) auf 140 bis 150° im Ölbade bis zum Aufhören des Schäumens. Die umkrystallisierte Substanz sinterte im Röhrchen bei 226° und schmolz bei 243° (Leuchs und Manasse fanden 245°) unter Braunfärbung. Die Analyse ergab:

Berechnet für $C_{10}H_{10}N_2O_2$ :		gefunden:
C	63,16%	62,80%
H	5,26 „	— <sup>3)</sup>
N	14,74 „	14,64 „

Herr L. Radlberger hat die nähere Untersuchung einiger hier genannter Verbindungen von Farbsäuren mit Basen begonnen und berichtet anschließend über seine bisher gewonnenen Resultate.

<sup>1)</sup> Ber. Bd. XL, S. 3241.

<sup>2)</sup> Schmelzpunkt 263°.

<sup>3)</sup> Die Wasserstoffbestimmung ging verloren.