

# Zur Kenntnis des Phylloerythrins. (Bilipurpurins.)

Von  
Hans Fischer.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität München.)

(Der Redaktion zugegangen am 17. November 1915.)

Löbisch und Fischler<sup>1)</sup> gewannen aus Rindergalle in sehr geringer Ausbeute einen schön krystallisierenden Farbstoff Bilipurpurin und ermittelten seine Zusammensetzung zu  $C_{32}H_{34}O_5N_4$ . Wie schon aus dem gewählten Namen Bilipurpurin hervorgeht, hielten die Autoren ihren Farbstoff für einen Gallenfarbstoff, wofür ja auch die Zusammensetzung zu sprechen schien.

Marchlewski<sup>2)</sup> gelang es schon früher, aus Faeces von Kühen einen schön krystallisierenden Farbstoff zu isolieren, dem er den Namen Phylloerythrin gab, und der in seinen Eigenschaften dem Bilipurpurin von Löbisch und Fischler außerordentlich ähnlich war. Durch direkten Vergleich der beiden Präparate konnte Marchlewski die Identität beider feststellen. Marchlewski hielt seinen Farbstoff für ein Chlorophyllderivat und bewies diese Annahme dadurch, daß er die Galle eines Gallen fistel schafes auf ihre Zusammensetzung je nach der Fütterung des Tieres untersuchte. Es stellte sich nun heraus, daß die Galle frei von Phylloerythrin war, wenn das Schaf chlorophyllfrei ernährt wurde, daß aber der Farbstoff nach Grünfütterung alsbald in der Galle erschien. Durch diesen Versuch war bewiesen, daß Bilipurpurin ein Chlorophyllderivat sein mußte.

Durch das liebenswürdige Entgegenkommen von Herrn Prof. Windaus, dem ich auch an dieser Stelle herzlichst danken möchte, war ich nun in der Lage, das Originalpräparat

<sup>1)</sup> Monatshefte f. Chemie, 1903, 159.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschr., Bd. 43 und 45.

von Löbisch und Fischler zu untersuchen. Der schön kristallisierte Körper stimmt in allen Eigenschaften mit den von den Autoren angegebenen überein; nur kann man unmöglich den Farbstoff als leichtlöslich in Chloroform bezeichnen. Indessen gibt Marchlewski für das Phylloerythrin an, daß das Umkrystallisieren aus siedendem Chloroform geschieht, und das Lösen zweckmäßig im Soxhletschen Extraktionsapparat geschieht. Die Angabe der oben erwähnten Forscher wird daher wahrscheinlich auf einer Verwechslung beruhen. Bei der Mikroanalyse nach Pregl ergab sich nun folgendes Resultat.

5,285 mg Substanz gaben 0,461 ccm N bei 19° und 718 mg Hg.  
 5,290 mg Substanz gaben 0,453 ccm N bei 18° und 718 mg Hg. 5,388 mg  
 Substanz gaben 0,463 ccm N bei 19° und 718 mm Hg.

4,107 mg Substanz gaben 10,26 mg Kohlensäure und 2,19 mg Wasser.  
 4,491 mg Substanz gaben 11,175 mg Kohlensäure und 2,42 mg Wasser.

$C_{34}H_{36}N_4O_6$ .	Mgw. 596,33.	Ber.:	C 68,42	H 6,09	N 9,40			
$C_{33}H_{36}N_4O_6$ .	» 584,33.	« :	C 67,77	H 6,21	N 9,59			
		Gef.:	68,13	5,97	9,63	9,49	9,49	
		» :	67,86	6,03.				

Hiernach ist die von Löbisch und Fischler angegebene Zusammensetzung ausgeschlossen und die mit 34 C-Atomen die wahrscheinlichste.

Die an zweiter Stelle angegebenen Zahlen stimmen überein mit denen des Mesobilirubinogens,<sup>1)</sup> eines Reduktionsproduktes des Bilirubins. Da der Gallenfarbstoff und seine Derivate zur Komplexsalzbildung mit Schwermetallen nicht befähigt sind, habe ich das Bilipurpurin hierauf untersucht und ein schön kristallisierendes Kupfersalz isolieren können, eine Bestätigung dafür, daß kein Gallenfarbstoff — sondern ein Chlorophyllderivat vorliegt. Da das Bilipurpurin in allen gebräuchlichen Lösungsmitteln, auch in Eisessig, nahezu unlöslich ist, mußte ich als Lösungsmittel leider Pyridin anwenden. Zu der Pyridinlösung wurde eine Lösung von essigsaurem Kupfer in Eisessig heiß zugegeben und alsbald erfolgte Krystallisation in konzentrisch vereinigten nadelförmigen Prismen. Durch Umkrystallisieren aus Pyridineisessig erhält man eine absolut

<sup>1)</sup> H. Fischer, Zeitschr. f. Biol., Bd. 65, S. 164.

einheitliche Krystallisation. Zur Analyse wurde bei 100° im Vakuum zur Gewichtskonstanz getrocknet. Eine Gewichtsabnahme erfolgte nicht.

5,547 mg Substanz gaben 0,479 ccm N bei 16° und 720 mm Hg.  
 4,366 mg Substanz gaben 0,379 ccm N bei 19° und 719 mm Hg. 5,286 mg Substanz gaben 0,636 mg CuO. 4,833 mg Substanz gaben 0,583 mg CuO. 11,785 mg CO<sub>2</sub> und 2,38 mg Wasser. 4,307 mg Substanz gaben 0,525 mg CuO, 10,515 mg CO<sub>2</sub> und 2,09 mg Wasser.

C<sub>36,5</sub>H<sub>34,5</sub>N<sub>4,5</sub>CuO<sub>8,5</sub>. Mgw. 655,38. Ber.: C 66,83 H 5,31 N 9,62 Cu 9,70  
 Gef.: 66,50 5,51 9,66 9,61  
           66,58 5,43 9,60 9,74

Aus diesem Analysenresultat, besonders auch den hohen Stickstoffwerten geht hervor, daß ein halbes Molekül Krystallpyridin eingetreten ist und wenn man dies abzieht, so ergibt sich die Formel (C<sub>34</sub>H<sub>32</sub>N<sub>4</sub>CuO<sub>3,5</sub>)<sub>2</sub> und es sind also, nur nach der empirischen Formel betrachtet, drei Moleküle Wasser ausgetreten und <sup>1</sup>/<sub>2</sub> Sauerstoffatom hinzugekommen. Besonders bemerkenswert ist die Herabminderung im Sauerstoff und dies Resultat bestätigt durchaus die Ansicht Marchlewskis, daß das Bilipurpurin ein Chlorophyllderivat ist. Wie der Sauerstoffaustritt zustande kommt, ist schwer zu sagen, da das Bilipurpurin schon selbst keine freie Carbonsäure mehr ist, da es in Alkali sich nicht löst. Ein Ester ist es auch nicht, denn die Methoxylbestimmung verlief negativ. Leider hat das mir zur Verfügung stehende Material zur weiteren Untersuchung nicht ausgereicht.

Ich habe deshalb versucht, aus Kot von Pflanzenfressern weiteres Material zu gewinnen, aber die Ausbeute ist, wie schon Marchlewski angibt, minimal. Indessen gelang es, aus Schafkot das Phylloerythrin zu isolieren und in das krystallisierte Kupfersalz überzuführen, das im spektroskopischen Befund mit dem oben beschriebenen Präparat übereinstimmt. (In Pyridinlösung untersucht, Konzentration 1 zu 1000, Schichtdicke 1 mm, zwei Streifen, I 605—587, II 565—545. I intensiver wie II). Die Ausbeute war auch hier so gering, daß ich die weitere Arbeit aufgegeben habe.

Bei dieser Gelegenheit fahndete ich auch auf die gelben Begleiter des Chlorophylls und zwar hauptsächlich auf Xanthophyll. Das Verfahren

war folgendes: Schafkot wurde mit Alkohol verrührt auf Faltenfiltern abfiltriert (Absaugen ist unmöglich) und mehrmals mit Äther ausgedeckt. Diese Operationen dauern einen ganzen Tag. Das intensiv grün gefärbte Filtrat, das die «Phasenprobe»<sup>1)</sup> in charakteristischer Weise zeigt, wurde drei Stunden lang mit alkoholischem Kali stehen gelassen. Nach dieser Zeit wurde mit Wasser entmischt, der Äther noch einige Male mit Wasser ausgewaschen und dann im Vakuum auf ein geringes Volumen gebracht. Die Krystallisation wurde abgesaugt, mit Schwefelkohlenstoff dreimal gewaschen, dann aus Methylalkohol umkrystallisiert. Aus diesem Lösungsmittel krystallisiert ein gelber Farbstoff in prächtig glänzenden eingekerbten Plättchen. F. P. 192—193°. Zur Analyse wurde nochmals in Chloroform gelöst und mit Petroläther gefällt. Der Schmelzpunkt blieb unverändert. Hiernach kann kein unverändertes Xanthophyll vorliegen, falls nicht der Körper trotz seiner schönen Krystallisation doch noch Verunreinigungen enthält. Zur Analyse wurde bei 100° im Vakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet.

4,202 mg Substanz gaben 12,545 mg Kohlensäure und 3,57 mg Wasser. 2,540 mg gaben 7,60 mg Kohlensäure und 2,22 mg Wasser.

(C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub> .)	Mgw. 354,27.	Ber.: C 81,30	H 9,67
		Gef.: 81,42	9,51
		81,60	9,78.

Da die Formel des Xanthophylls C<sub>40</sub>H<sub>56</sub>O<sub>2</sub> ist und für meinen Körper hiermit keine Übereinstimmung statthat, so halte ich es für das wahrscheinlichste, daß noch irgend eine schwer entfernbare Verunreinigung in dem gelben Farbstoff des Kots enthalten ist, der im übrigen in seinen Löslichkeitsbedingungen und dem spektroskopischen Verhalten dem Xanthophyll völlig gleicht.

Auch kann natürlich bei der langsamen Verarbeitung eine sekundäre Veränderung eingetreten sein.

Die hier angeführten Mikrokohlenwasserstoffbestimmungen verdanke ich Herrn Dr. H. Lieb in Graz.

<sup>1)</sup> H. Molisch, Ber. d. D. Bot. Ges., S. 1416; Willstätter u. Stoll, Untersuchungen über Chlorophyll, S. 144.