

Zeitschrift für angewandte Chemie

44. Jahrgang, S. 93—108

Inhaltsverzeichnis: Siehe Anzeigenteil S. 71

31. Januar 1931, Nr. 5

Zur Kenntnis der Chlorophyllbildung.

Von Prof. Dr. KURT NOACK und Dr. WILHELM KIESSLING,
Botanisches Institut der Universität Halle-Wittenberg.

(Eingeg. 31. Dezember 1930.)

In früheren, auch in dieser Zeitschrift¹⁾ mitgeteilten Untersuchungen hat der eine von uns gezeigt, daß die Giftwirkung fluoreszierender Farbstoffe bei Belichtung — Tappelers photodynamische Wirkung — auf Photooxydation zurückzuführen ist, und daß beim Chlorophyll, das bekanntlich rot fluoresciert, photooxidative Eigenschaften nicht nur unmittelbar nachzuweisen sind, sondern auch während seines natürlichen Verbundenseins mit der Struktur der lebenden Zelle physiologisch herausgelöst und zur Erklärung biologischer Erscheinungen, wie z. B. der Rauchgasschäden, verwandt werden können. Zur Rotfluoreszenz des Chlorophylls ist nach Willstätter molekulardisperser Zustand des Farbstoffs Bedingung; dieser ist nach den Untersuchungen des einen von uns²⁾ im lebenden Blatt dadurch gegeben, daß der Farbstoff an das Chloroplasteneiweiß in monomolekularer Schicht adsorbiert ist.

Wenn damit wohl eine Unterlage für die weitere Erforschung der Kohlensäureassimilation gegeben ist, so besteht außerdem auch die Möglichkeit, die Frage der Chlorophyllbildung unter dem Gesichtspunkt einer Photooxydation anzugehen, denn die meisten Pflanzen ergrünen nur bei Belichtung und führen bei Aufzucht im Dunkeln in geringer Menge einen, wie wir fanden, auch im lebenden Blatt rot fluoreszierenden, grünen Farbstoff, der, zuerst von Pringsheim (1874) gesehen, von Monteverde (1894) Protochlorophyll genannt und in Form seiner Rohextrakte von diesem und von Lubimenko etwas näher charakterisiert wurde. Schon kurze, schwache Belichtung genügt, um den Farbstoff völlig zum Verschwinden zu bringen, womit das erste Auftreten des Chlorophylls gemäß den spektrographischen Befunden Grellachs (1904) verbunden ist.

Die spektralen Eigenschaften des *Protochlorophylls* lassen den Schluß zu, daß der Farbstoff dem Chlorophyll schon sehr nahe steht, weshalb wir die chemische und physiologische Bearbeitung des Farbstoffes gemäß den von Willstätter für die Chlorophyllchemie festgelegten Tatsachen in Angriff nahmen³⁾.

Die in verdunkelt aufgezogenen Pflanzen vorhandene Protochlorophyllmenge ist so gering, daß der Farbstoff hieraus nur mit größtem Materialaufwand hätte isoliert werden können. Brauchbar erwiesen sich dagegen die herauspräparierten inneren Hämle der Kürbissamen, die nach Monteverde und Lubimenko ihre grüne Farbe eigenartigerweise dem Protochlorophyll verdanken. Entsprechend den Angaben der Genannten wurde völlige spektrale Übereinstimmung zwischen Farbstoffextrakten aus Dunkelblättern und Kürbissamenhäuten festgestellt; ebenso besteht Übereinstimmung in der Basizität und allen anderen greifbaren chemischen Eigenschaften.

Die Reindarstellung des genuinen Protochlorophylls wurde nach den von Willstätter für die Chlorophyll-

isolierung mitgeteilten Methoden angestrebt, ist jedoch infolge der fettigen Begleitstoffe und des Mangels an Kristallisationsfähigkeit des Farbstoffs nicht gelungen. Gerade der letzte Punkt spricht jedoch dafür, daß im Protochlorophyll auch schon Phytol enthalten ist, das auch beim Chlorophyll die Kristallisationsfähigkeit herabsetzt. Dagegen gelang es, mittels qualitativer Reaktionen am Protochlorophyll und an der Hand kristallisierender Protochlorophyllderivate die nahe, chemisch durchsichtige Verwandtschaft mit dem Chlorophyll zu erweisen.

Wie das Chlorophyll enthält auch das Protochlorophyll Magnesium, das mit Säure abspaltbar ist und mit Tetraoxanthrachinon nach Hahn nachgewiesen werden kann. Mit der Magnesiumabspaltung ist ein Farbumschlag nach Rot und eine starke Änderung der spektralen Eigenschaften verbunden, die zunächst in umgekehrtem Sinn als Kriterium für die Wiedereinführung des Magnesiums mittels der Grignard-Reaktion diente; Behandlung des magnesiumfreien Farbstoffs mit Methylmagnesiumjodid ergab wiederum grünen Farbstoff, der spektral und auch in seiner Basizität mit Protochlorophyll völlig identisch war.

Somit liegen hier die Verhältnisse wie beim Chlorophyll, das bei Säurebehandlung unter Magnesiumabspaltung in Phäophytin übergeht. Es steht in dieser Hinsicht also nichts im Weg, die alte Bezeichnung *Protoclorophyll* beizubehalten, und für die magnesiumfreie Verbindung den Namen *Protophäophytin* einzuführen. Hierfür sprechen noch klarer die später zu beschreibenden Konstitutionsverhältnisse.

Die Spektren der beiden Farbstoffe in Chloroform-Pyridin sind folgende (Abb. 1 und 2):

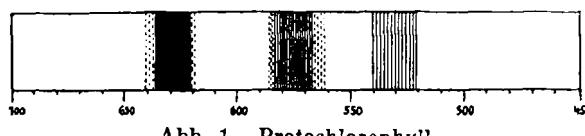


Abb. 1. Protochlorophyll.

I. 641...637—621...619; II. 586--583—567...562;
III. 540--521. — Reihenfolge der Intensität: I, II, III.

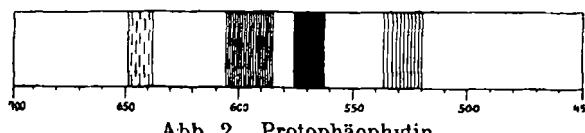


Abb. 2. Protophæophytin.

I. 648—638; II. 606—586; III. 576—563; IV. 537—520.
Reihenfolge der Intensität: III, II, IV, I.

Die prachtvoll rote Farbe des Protophæophytins wie auch dessen ausgezeichnete spektrale Eigenschaften führten zur Vermutung, daß ein Porphyrin vorliegt, und daß mindestens der Farbstofftypus als solcher schon bekannt ist. Es konnte nun auch eine enge Beziehung zum *Phylloerythrin* Marchlewskis bzw. zu dem damit identischen Bilipurpurin von Löbisch und Fischer hergestellt werden, einem Farbstoff, den Marchlewski als eine der „schönsten Substanzen

¹⁾ K. Noack, diese Ztschr. 39, 302 [1926]; 42, 123 [1929].

²⁾ K. Noack, Biochem. Ztschr. 183, 135 [1927].

³⁾ K. Noack u. W. Kießling, Ztschr. physiol. Chem. 182, 13 [1929]; 193, 97 [1930].

der organischen Chemie“ bezeichnet, und der aus tierischer Galle wie auch aus Fäces nach Grünfütterung in prächtig blauvioletten Kristallen gewonnen werden kann. Seine physiologische Beziehung zum Chlorophyll ist dadurch erhärtet, daß Marchlewski (1905) an einem Gallenfistelschaf die Abhängigkeit der Phylloerythrinbildung von der Ernährung mit Grünfutter unmittelbar nachwies.

Die nach einem eigenen neuen Verfahren vorgenommene Reindarstellung des Farbstoffs aus im ganzen etwa 900 l Rindergalle ergab, daß dieser in der genuinen Galle wohl als photodynamisch unwirksame, nicht fluorescierende Leukobase vorliegt und sich gemäß dem Chlorophyllgehalt der Nahrung im Winter in geringerer Menge (0,01 g pro 5 l) als im Sommer (0,15 g pro 5 l) gewinnen läßt.

Spektral steht das Phylloerythrin dem Protoporphyrin sehr nahe; der einzige Unterschied ist der, daß die Absorptionsbanden des Phylloerythrins gegenüber denen des Protoporphyrins um 50–70 Å nach Violett verschoben sind.

Mittels p-Jod-dimethylanilinmagnesium ließ sich auch ins Phylloerythrin Magnesium einführen; der entstandene grüne Farbstoff glich dem Protochlorophyll spektral in derselben Weise wie Phylloerythrin dem Protoporphyrin, d. h. die Banden des Grignard-Produkts waren gegenüber denen des Protochlorophylls um 50–70 Å nach Violett verschoben.

Nunmehr waren für Protoporphyrin und Phylloerythrin gemeinsam die Beziehungen zum Chlorophyll herzustellen. Gemäß der eingangs erwähnten Voraussetzung besteht die Möglichkeit einer photooxydativen Entstehung des Chlorophylls aus Protochlorophyll. Um an den bekannten Konstitutionsverhältnissen des Chlorophylls einen Anhaltspunkt zu haben, wurde umgekehrt versucht, durch vorsichtige Reduktion von Chlorophyll bzw. Phäophytin und seinen Derivaten zu Körpern der Protoporphyrin- bzw. Phylloerythringruppe zu gelangen.

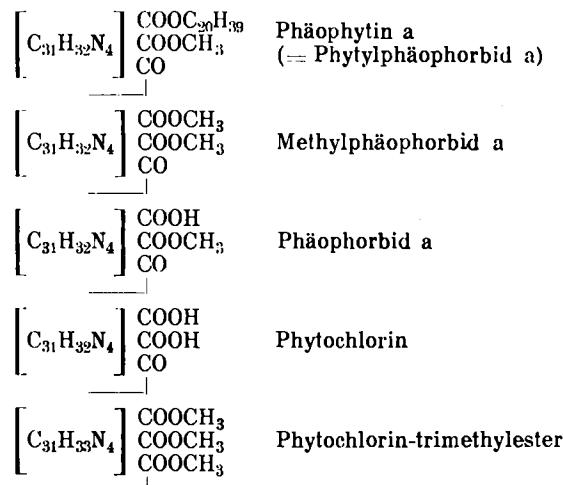
Für die Protoporphyringruppe wurde dieser Anschluß durch Reduktion des Chlorophylls in saurer Lösung mit Eisen erreicht, während Reduktion mit Jodwasserstoff-Eisessig zu einem Körper mit dem Phylloerythrin-Spektrum führte. Die zweite Reduktionsweise ist kurz vor unserer diesbezüglichen Veröffentlichung von H. Fischer⁴⁾ aus Anlaß einer vorläufigen Mitteilung des einen von uns über die Reduktion mit Eisen in saurer Lösung⁵⁾ ebenfalls angegeben worden. Für die vorliegenden Zwecke war die Reduktion mit Jodwasserstoff-Eisessig, die wir unabhängig von H. Fischer fanden, nicht brauchbar, da sie nicht schonend genug zur Aufhellung der Konstitutionsverhältnisse verläuft, wofür sich Reduktion mit Eisen in 80%iger Ameisensäure am besten bewährte.

Zur Bearbeitung der Konstitutionsfragen lagen also drei Ausgangssubstanzen vor: *Protoporphyrin*, *künstlich reduziertes Chlorophyll* und *Phylloerythrin*. Da anzunehmen war, daß sämtliche drei Körper in ihrer Grundstruktur dem Chlorophyll entsprechen, lief die Untersuchung darauf hinaus, die im Chlorophyll vorhandenen Carboxylgruppen auch in der Reduktionsstufe nachzuweisen und diese selbst näher zu definieren. Das Chlorophyll stellt nach Willstätter bekanntlich eine Tricarbonsäure dar derart, daß zwei Carboxylgruppen mit Phytole bzw. Methylalkohol verestert sind, während sich die dritte in anhydrisierter Form, als Lactam oder, wie H. Fischer vermutet, als

Lacton im Molekül befindet. Die beiden in der Pflanze regelmäßig vorhandenen Chlorophyllmodifikationen a und b unterscheiden sich nach Willstätter in der bei der b-Modifikation um 1 höheren Sauerstoffzahl. Anhaltspunkte dafür, daß auch das Protochlorophyll in zwei derartigen Modifikationen vorliegt, wurden keine gefunden.

Die Dreizahl der Carboxylgruppen im Chlorophyll führte Willstätter in der a-Reihe zu folgenden Derivaten: Methylphäophorbid, erhalten durch Umesterung des Phäophytins a z. B. mit methylalkoholischer Salzsäure (2 Methylestergruppen und 1 Lactamgruppe), Phäophorbid (1 freie Carboxylgruppe, 1 Methylester- und 1 Lactamgruppe), Phytochlorin (2 freie Carboxylgruppen und 1 Lactamgruppe) samt dem zugehörigen Phytochlorintrimethylester (3 Methylestergruppen).

Die genannten Verbindungen werden für den vorliegenden Zweck am besten wie folgt formuliert, wobei zu bemerken ist, daß über die Struktur des Pyrrolring-Systems noch nicht völlige Klarheit herrscht:



Es gelang nun, diese Reihe grundsätzlich beim Protochlorophyll zu wiederholen derart, daß die aus dem Rohprotoporphyrin der Kürbissamenhüte und die aus reduziertem Chlorophyll erhaltenen Derivate völlig identisch waren. Ebenso konnte aus Phylloerythrin diese Reihe erhalten werden, die jedoch, wie aus dem folgenden hervorgeht, als Isomere der erstgenannten anzusprechen ist.

Als Bezugssubstanz diente Methylphäophorbid a, dessen von Willstätter mitgeteilte Formel C₃₆H₃₈N₄O₅ von H. Fischer⁶⁾ in C₃₅H₃₈N₄O₆ (oder C₃₆) abgeändert wurde, also, was hier das wesentliche ist, in eine Verbindung mit einem weiteren Sauerstoffatom. Auch Conant und Hyde⁷⁾ halten das Vorhandensein von einem weiteren sechsten Sauerstoffatom für wahrscheinlich, das gemäß dem oben Gesagten nicht in Carboxylform vorliegen kann.

Experimenteller Teil.

1. Protochlorophyllreihe.

a) Untersuchung des Rohprotoporphyrins. Beim Kochen von Rohprotoporphyrin mit 30%iger methylalkoholischer Salzsäure wurde ein Trimethylester in leuchtend blauvioletten Prismen erhalten, dessen Analysenwerte auf die Formel C₃₆H₄₂N₄O₆ (oder C₃₇) mit 3OCH₃ stimmten (Schmp. 234–235°). Der Körper kann daher vom Methylphäophorbid a abgeleitet werden in dem Sinn, daß bei ihm die anhydrierte Carboxylgruppe des Methylphäophorbids aufgespalten und verestert und das seiner strukturellen Bindung nach noch

⁴⁾ LIEBIGS Ann. 474, 62 [1929].

⁵⁾ Journ. Amer. chem. Soc. 51, 3368 [1929].

⁶⁾ Sitzungsber. Bayr. Akad. Wiss. 1929, 77.

⁷⁾ K. Noack, Naturwiss. 17, 104 [1929].

unklare Sauerstoffatom nicht vorhanden ist. Sonach ist der Körper als *Protophytochlorin trimethyl ester* zu bezeichnen, der eine desoxydierte Stufe des Phytochlorintrinemylesters darstellt.

Wichtig ist, daß die Aufspaltung der dritten Carboxylgruppe eine starke Änderung des spektralen Verhaltens im Vergleich zur Ausgangssubstanz, dem Protophöphytin, zur Folge hat, die sich vor allem in der Intensitätsreihenfolge der Absorptionsbanden äußert. Spektrum des Triesters in Chloroform-Pyridin:



Abb. 3. Protophytochlorin bzw. der zugehörige Trimethylester.
I. 637—630; II. 593—576; III. 558—549; IV. 525—507.
Reihenfolge der Intensität: IV, III, II, I.

Dieser Spektraltyp, der auch bei den Blutporphyrinen auftritt, und der weiter oben mitgeteilte, zu dem das Protophöphytin gehört (Reihenfolge der Intensität III, II, IV, I), war bei allen weiterhin zu beschreibenden Körpern, und zwar auch in der Phylloerythrinreihe, gegeben.

Zur Darstellung des *Protophöphorbids*, d. h. der dem Phäophorbid entsprechenden desoxydierten Stufe, standen zwei Wege zur Verfügung: Vorsichtige Verseifung des Rohprotophöphytins oder Verseifung des obigen Triesters. Der erste Weg führt nicht zum Ziel, da die zur Verseifung nötige Alkalimenge infolge der Gegenwart fetriger Begleitstoffe so hoch gewählt werden mußte, daß die entstandene freie Säure, d. h. das Protophöphorbid der Anhydrisierung anheimfiel, wie überhaupt die starke Neigung zur Anhydrisierung bei sämtlichen freien Carbonsäuren der Protophöphytin- und der Phylloerythrinreihe zu beachten ist. Dagegen konnte der Triester durch schwaches Alkali in Protophöphorbid überführt werden, d. h. eine freie Carbonsäure mit einer Methoxylgruppe von der Formel $C_{34}H_{38}N_4O_8$ (oder C_{35}) mit $1 OCH_3$. Der Körper ist in sekundärem Natriumphosphat löslich, jedoch so leicht anhydrisierbar, daß er zur Reindarstellung nur umgefällt werden kann. Spektral ist er mit dem Tri-Ester identisch. Wenn somit eine der Methoxylgruppen des Triesters der Verseifung in der hier angewandten Form widerstanden hat, so dürfte diese Gruppe mit der im Chlorophyll vorhandenen Methoxylgruppe identisch sein, da auch diese schwieriger als die Phytolestergruppe verseifbar ist.

b) Reduktion des Chlorophylls. Methylphäophorbid a ergab bei der Reduktion mit Eisen und 80%iger Ameisensäure in der Kälte und in der Wärme fast quantitativ *Methylprotophöphorbid* in wetzsteinartigen, blauvioletten Prismen ($C_{34}H_{38}N_4O_5$ oder C_{35} mit $2 OCH_3$). Spektral steht der Körper zwischen Protophöphytin und Phylloerythrin und gehört demnach zur Gruppe mit der Intensitätsreihenfolge III, II, IV, I. Interessant ist, daß Methylphäophorbid b bei der hier angewandten Reduktion nur braunen Farbstoff ergab.

Bei der Reduktion von Chlorophyll a war es auch bei schonender Behandlung in der Kälte (0° bis -5°) nicht möglich, die Phytolgruppe intakt zu erhalten. Je nach der Reaktionstemperatur entstanden verschiedene Gemische, in der Wärme hauptsächlich ein alkalilöslicher Körper, der spektral mit Methylprotophöphorbid identisch war, jedoch schon beim Überführen in Äther aus alkalischer Lösung anhydrisiert wurde. In kleinen Mengen entstand ein alkaliunlösliches Reduktionsprodukt, das spektral mit Protophöphytin völlig übereinstimmte und demnach vielleicht noch Phytol enthielt. Auch hier

führte die Reduktion der sauerstoffreicherem b-Modifikation nicht zu Protochlorophyll-derivaten.

Von Bedeutung war es nun, daß sowohl das Methylprotophöphorbid als auch das Reduktionsgemisch aus Chlorophyll in einen *Trimethyl ester* umgewandelt werden konnte, der sich mit dem aus dem Protophöphytin der Kürbissamenhäute erhaltenen Protophöchlorintrinemylester völlig identisch erwies. Dieser Verbindung kommt daher zentrale Bedeutung zu. Die strukturelle Übereinstimmung der Triester verschiedener Herkunft wurde u. a. dadurch erhärtet, daß sie vorsichtig verseift und rückverestert wurden. Der Arbeitsgang war im ganzen folgender:

1. Phäophytin $\xrightarrow{Fe/H}$ Reduktionsgemisch \xrightarrow{KOH} Protophöphorbid $\xrightarrow{\text{Diazomethan}}$ Triester
2. Protophöphytin (aus Kürbissamen) $\xrightarrow{HCl/CH_3OH}$ Triester
3. Methylprotophöphorbid $\xrightarrow{HCl/CH_3OH}$ Triester
4. Methylprotophöphorbid \xrightarrow{KOH} Protophöphorbid $\xrightarrow{\text{Diazomethan}}$ Triester
5. Protophöphytin $\xrightarrow{HCl/CH_3OH}$ Triester \xrightarrow{KOH} Protophöphorbid $\xrightarrow{\text{Diazomethan}}$ Triester
6. Methylprotophöphorbid $\xrightarrow{HCl/CH_3OH}$ Triester \xrightarrow{KOH} Protophöphorbid $\xrightarrow{\text{Diazomethan}}$ Triester.

Die Endprodukte erwiesen sich in allen Eigenschaften als identisch: die C-Werte lagen zwischen 69,03 und 69,71% (ber. für $C_{36}H_{42}N_4O_8$: 68,96%, für C_{37} : 69,33%). Die Schmelzpunkte lagen zwischen 233° und 236° ; Mischschmelzpunkte zeigten keine oder nur geringfügige Depression.

2. Phylloerythrinreihe.

Obwohl das Phylloerythrin dank seiner guten Kristallisierungsfähigkeit unschwer als Reinpräparat erhalten werden kann, ist es in seiner Struktur nur wenig bekannt. Seine Elementarzusammensetzung war lange unsicher, bis Marchlewski^{a)} 1929 die Formel $C_{33}H_{34}N_4O_3$ aufstellte, die auch H. Fischer^{b)} auf Grund eigener Analysen annahm. Analysen, die mit eigenen Präparaten des schwer verbrennbares Körpers angestellt wurden, ergaben dieselben Werte, lassen jedoch mit einer etwas tieferen C-Zahl die auch aus einem später zu erörternden Grunde gegebene Möglichkeit von vier Sauerstoffatomen zu. Schon 1915 stellte H. Fischer fest, daß das Phylloerythrin trotz seines Sauerstoffgehaltes weder ein Ester noch eine freie Säure sein kann.

Die eigene Untersuchung wurde daher von der Erwägung geleitet, daß ein intramolekulares Säureanhydrid, etwa der Formel $C_{33}H_{30}N_4O_3$, vorliegt. In der Tat gelang es, durch vorsichtigste alkalische Hydrolyse, nämlich durch vier- bis sechsständige Einwirkung von $0,25 \text{ cm}^3$ 10%iger wässriger Kalilauge auf eine Aufschämmung von Phylloerythrin in 50 cm^3 Isopropylalkohol im Schüttelthermostaten bei 25° , das Phylloerythrin mit 15% Ausbeute in eine *freie Carbonsäure* aufzuspalten, die in sekundärem Natriumphosphat löslich ist. Hiermit war dieselbe starke spektrale Änderung wie bei der Darstellung des Protophytochlorin-trinemylesters aus Protophöphytin verbunden, indem Absorptionsbanden mit der Intensitätsreihenfolge IV, III, II, I auftraten, und das Spektrum grundsätzlich dem des Protophytochlorintriesters glich, jedoch nach Violett verschoben war, wie dies ja auch hinsichtlich des andern Spektraltyps beim Phylloerythrin gegenüber dem Protophöphytin der Fall ist. Spektrum in Chloroform-Pyridin:

^{a)} Bull. Int. Acad. Polon. Sciences Lettres, Ser. A, 1929, 599.
^{b)} LIEBIGS Ann. 480, 197 [1929].

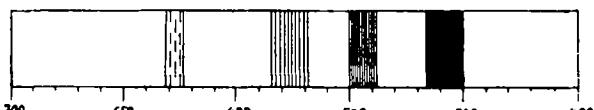


Abb. 4. Phylloerythrin-tricarboxylic acid bzw. the corresponding trimethyl ester.

I. 632—624; II. 585—569; III. 550—538; IV. 517—500.
Reihenfolge der Intensität: IV, III, II, I.

Da diese Carbonsäure sauerstoffempfindlich und hygroskopisch ist und außerdem starke Neigung zum Anhydrisieren zeigt, sind die Analysenwerte nicht ganz zuverlässig, sprechen aber bezüglich des C-Wertes für die Formel $C_{33}H_{34}N_4O_5(C_{34})$. Wahrscheinlich liegt also eine Tricarboxylic acid vor, bei der eine Carboxylgruppe anhydriert ist.

Auf alle Fälle sind entsprechend dem Chlorophyll und dem Protoporphyrin drei Carboxylgruppen vorhanden; denn die Behandlung mit Diazomethan ergab einen *Triester*, der spektroskopisch mit der freien Säure identisch war ($C_{36}H_{42}N_4O_6$ oder C_{37} mit $3OCH_3$). Dieser stimmt also in der Elementarzusammensetzung mit dem Protoporphyrin-trimethyl ester überein, hat jedoch einen Schmelzpunkt bei $232-233^\circ$ und zeigt gegenüber dem letztgenannten Ester dieselbe Bandenverschiebung, die zwischen Protoporphyrin und Phylloerythrin besteht. Sein Schmelzpunkt liegt also etwas tiefer als beim Triester des Protoporphyrins, mit dem er offenbar isomer ist.

Somit kann das Phylloerythrin als eine Tricarboxylic acid angesprochen werden, deren sämtliche Carboxylgruppen anhydriert sind, wodurch auch in dieser Reihe der Anschluß an das Chlorophyll hergestellt ist und sich das Phylloerythrin ebenfalls als eine Desoxydationsstufe des Chlorophylls kundgibt.

Vom Phylloerythrin konnte außerdem eine Nebenreihe erhalten werden, die sich nur durch Abspaltung einer Carboxylgruppe erklären läßt; unmittelbare Veresterung des Phylloerythrins mit methylalkoholischer Salzsäure ergab je nach Stärke der Einwirkung ein Gemisch eines Diesters mit einem Monoester oder reinen Monoestern mit den spektralen Eigenschaften des Phylloerythrins ($C_{33}H_{36}N_4O_3$ oder C_{34} mit $1OCH_3$), der offenbar aus dem Diester durch Abspaltung einer veresterten Carboxylgruppe hervorgeht. Diesen Ester hat auch H. Fischer erhalten und berechnet ihn auf 33 bis 31 C-Atome mit 3 Mol. Sauerstoff. Verseifung dieses Esters ergab merkwürdigerweise wieder eine Tricarboxylic acid unter Erhaltung des Methoxyls von der Formel $C_{33}H_{38}N_4O_6(C_{34})$ mit $1OCH_3$. Die Entstehung einer neuen Carboxylgruppe dürfte mit der oben erwähnten Abspaltung einer Carboxylgruppe bei der Monoesterbildung zusammenhängen. Der aus dieser freien Säure erhaltenen Trimethyl ester ($C_{35}H_{42}N_4O_6$ oder C_{36} mit $3OCH_3$), der wie übrigens auch die freie Säure spektral mit dem normalen Triester identisch ist, schmilzt bei 205° , also um etwa 25° tiefer als der normale Triester, worin neben den Analysenwerten ein Beweis für die Abspaltung eines C-Atoms bei der unmittelbaren Veresterung des Phylloerythrins zum Monoester gesehen werden kann.

Von sonstigen Befunden sei noch erwähnt, daß sowohl in der Protoporphyrin- als auch in der Phylloerythrinreihe durch Rückanhydrierung der methoxylhaltigen aufgespaltenen Carbonsäuren alkaliunlösliche Monoester erhalten wurden, die spektral dem Phylloerythrin sehr nahe standen, oder mit ihm identisch waren und 5 Sauerstoffatome enthielten; diese müssen sich auf die Estergruppe und eine Säureanhydridgruppe verteilen. Hieraus kann für das Phylloerythrin, bei dem, wie erwähnt, sämtliche drei Carboxylgruppen in anhydriertester

Form vorliegen, die Gegenwart von vier Sauerstoffatomen abgeleitet werden, die sich auf eine Säureanhydridgruppe und eine Lactam-(Lacton-)gruppe verteilen, wobei die Lactamgruppe mit der im Chlorophyll vorhandenen identisch sein könnte.

Biologische Folgerungen.

Es ist somit erwiesen, daß sich vom Protochlorophyll aus die von Willstätter für das Chlorophyll aufgestellte Reihe vom Phäophytin bis zum Phytochlorin wiederholen läßt, und daß die Protochlorophyllreihe sich vornehmlich durch den Mangel eines Sauerstoffatoms vom Chlorophyll unterscheidet, offenbar desjenigen, dessen strukturelle Bindung im Chlorophyllmolekül noch unklar ist. Das gleiche läßt sich in Form isomerer Körper vom Phylloerythrin aus erzielen.

Hieraus ergibt sich für die biologischen Beziehungen folgendes: Die lichtabhängige Chlorophyllbildung stellt eine Photooxydation des Protochlorophylls dar, wobei unter Anlagerung eines Sauerstoffatoms offenbar zunächst Chlorophyll a entsteht, das vermutlich seinerseits den Ausgangspunkt für die sauerstoffreichere b-Modifikation abgibt. Diese Vorgänge werden sich wohl auf die eingangs besprochene photooxydative Wirkung fluoreszierender Farbstoffe zurückführen lassen. Wenn früher behauptet wurde, daß das Protochlorophyll nur ein Zersetzungprodukt einer noch unbekannten eigentlichen Chlorophyllvorstufe sei, so sind dem die einfachen, hier aufgedeckten chemischen Beziehungen zwischen den beiden Farbstoffen entgegenzuhalten, wie auch bemerkt sei, daß es im hiesigen Institut Herrn Schönagel gelang, ein Spektrogramm des Protochlorophylls im lebenden Blatt zu erhalten. Außerdem konnte er bei intermittierender Verdunkelung zuvor im Dunkeln aufgezogener Maiskulturen dauernde Protochlorophyllneubildung während der Dunkelperioden nachweisen. Das eigenartige Verhalten der Kürbissamenhüte hängt von der Lichtundurchlässigkeit der starken Fruchtwand und dem frühen Absterben der Hüte ab. Beim Öffnen unreifer Früchte im Licht wurde im Gegensatz zum Öffnen im Dunkeln außer Protochlorophyll auch Chlorophyll gefunden, wofern die Samenhüte noch lebend waren. Auch bei Blättern erwies sich die Chlorophyllbildung aus Protochlorophyll trotz seiner Einfachheit als vitaler Vorgang. Jedoch sei bemerkt, daß Protochlorophyll-Rohlösungen in Aceton oder Alkohol nach Belichtung das Rotabsorptionsband des Chlorophylls aufweisen, was näher untersucht werden soll.

Umgekehrt stellt die Phylloerythrinbildung im Tierkörper eine Desoxydation des Chlorophylls dar, verbunden mit Magnesiumabspaltung, Verseifung und Anhydrierung. Ob der wesentliche Teil dieses Vorgangs, die Desoxydation, in der Leber oder mit Hilfe der Bakterienflora im Darm vor sich geht, ist Sache weiterer Untersuchung. Da das Spektrum des Phylloerythrins in seiner aufgespaltenen Form dem der Blutporphyrine, z. B. dem Protoporphyrin, sehr nahe kommt, ist der Gedanke nicht von der Hand zu weisen, daß das Phylloerythrin eine physiologische Brücke zwischen Blatt- und Blutfarbstoff darstellt, eine Vermutung, die schon Marchlewski¹⁰⁾ streift und die den Untersuchungen H. Fischers über die Ätioporphyrine des Blatt- und Blutfarbstoffs nicht widerspricht.

Die Untersuchung wurde durch weitgehende Unterstützung seitens der *Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft* ermöglicht, der auch hier aufs beste gedankt sei.

[A. 182.]

¹⁰⁾ Chemie der Chlorophylle und ihre Beziehung zur Chemie des Blutfarbstoffs, Braunschweig 1909, S. 173.