

## Über Hämin und Beziehungen zwischen Hämin und Chlorophyll\*).

Von HANS FISCHER, München.

(Eingeg. 4. Juni 1931.)

Der Blutfarbstoff Hämoglobin ist eine zusammengesetzte Verbindung, die mit verschiedenen Methoden in ihre Bestandteile, Farbstoff und Eiweißkörper, zerlegt werden kann. Teichmann hat diese Spaltung zuerst im mikroskopischen Präparat beobachtet durch Einwirkung von Eisessig-Kochsalz auf Blut; Schalejeff, Nencki, Piloty, Willstätter und andere haben die Methode im großen Maßstab übertragen, so daß die Teichmannschen Kristalle kiloweise zur Verfügung stehen. Der schwedische Forscher Mörner hat gleichfalls eine Spaltungsmethode mit Hilfe von Alkohol-Schwefelsäure ausgearbeitet, wobei Ester des Hämins entstehen.

Hämin besitzt die Formel  $C_{34}H_{32}O_4N_4FeCl$ . Unzählige Variationen dieser Atomanordnung sind möglich. Durch die Methoden des analytischen Abbaus von Nencki, Küster, Piloty, Willstätter, H. Fischer und ihren Schülern wurden die Pyrrolnatur des Hämins bewiesen und weitgehende Einblicke in die Konstitution gewonnen. Wenn Hämin seines Eisens beraubt wird, entstehen Porphyrine, Körper, die sensibilisierende Wirkung besitzen, wie Haumann gezeigt hat.

Diese Porphyrine sind in der Natur weit verbreitet, und als Arbeitshypothese konnte man von vornherein die Annahme einer Verwandtschaft mit den Porphyrinen des Blutfarbstoffs annehmen, und es war vorauszusehen, daß ihre Konstitutionsermittlung Anhaltspunkte auch für die Konstitution des Hämins selbst geben würde, geradeso wie die Abbauresultate des auf biologischem Wege aus Blutfarbstoff entstehenden Bilirubins Anregungen für die Konstitutionsermittlung des Blutfarbstoffs selbst gegeben hatten. Das war der Grund, weshalb ich die Untersuchung der natürlichen Porphyrine systematisch anging, ebenso den biologischen Abbau des Blutfarbstoffs selbst.

Bei der Porphyrie, einer Lichtkrankheit, scheidet der Mensch große Mengen von Porphyrinen aus. Man hat früher angenommen, daß es sich um Hämatoporphyrin handelt; diese Anschauung konnte widerlegt werden. Mindestens zwei Porphyrine kommen zur Ausscheidung, Uro- und Koproporphyrin, die beide im Harn vorkommen — eines der beiden, wahrscheinlich Koproporphyrin, wurde bereits von Hammarsten bei einer Sulfonalvergiftung beobachtet —, Koproporphyrin der Hauptmenge nach allerdings im Kot. Nicht immer ist dasselbe Koproporphyrin im Harn vorhanden. Hijmans van den Bergh hat ein isomeres Koproporphyrin beobachtet, allerdings bis jetzt nur bei einem Porphyriefall. Interessanterweise kommt das Uroporphyrin auch in den Schwungfedern afrikanischer Vögel vor, den Turakusarten, in denen es als komplexes Kupfersalz enthalten ist.

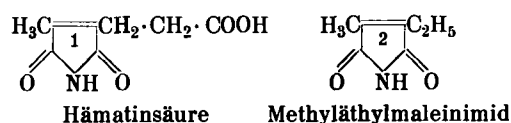
Nahe verwandt dem Uroporphyrin ist das Conchoporphyrin, das in Muschelschalen wahrscheinlich als Kalksalz enthalten ist.

Koproporphyrin ist besonders weit verbreitet; im normalen Harn sind Spuren vorhanden, auch in der Hefe.

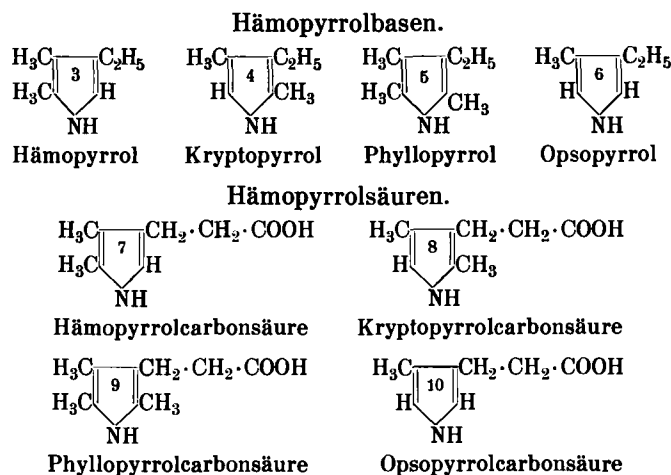
Die Hefe kann man durch unzureichende Fortzüchtung zu beträchtlicher Koproporphyrinerzeugung zwingen. Die Hefe wird also in den Zustand versetzt, der mit der menschlichen Porphyrie vergleichbar ist.

Auch in den Tupfen auf den Eierschalen der im Freien brütenden Vögel ist ein Porphyrin (Ooporphyrin) enthalten. Durch Fäulnis des Blutfarbstoffs wird ein mit diesem Porphyrin identisches Porphyrin erzeugt, Kammers Porphyrin, bei protrahierter Fäulnis Deutroporphyrin.

Wenn ich mich nunmehr der Besprechung der Konstitutionsermittlung des Hämins selbst zuwende, so kann ich naturgemäß über diese durch Jahrzehnte sich hindurchziehenden Untersuchungen hier nur sehr kurz berichten und nur die wichtigsten Ergebnisse schildern. Grundlegend war die Feststellung W. Küsters über das oxydative Entstehen der Hämatinsäure (1), die bei der Decarboxylierung Methyläthylmaleinimid gab (2):



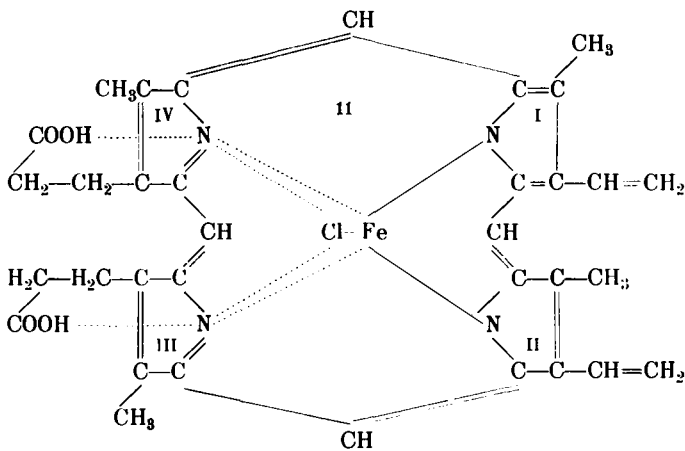
Die reduktive Spaltung des Hämins gab folgende Pyrrol-derivate basischer und saurer Natur:



Die sauren Bestandteile liefern bei der Oxydation Küsters Hämatinsäure, die basischen Methyläthylmaleinimid. Hierdurch war ihre Konstitution in den Grundzügen festgelegt; der exakte Beweis ist durch Synthesen geliefert, auf die wir nicht näher eingehen wollen. Die Synthesen machten diese Spaltprodukte in beliebiger Menge zugänglich. Die Ausbeute an Basen und Säuren aus Hämin ist so groß, daß auf vier Pyrrolkerne im Molekül geschlossen werden muß, womit auch die Molekulargewichtsbestimmung übereinstimmt.

Schon im Jahre 1912 hat W. Küster für das Hämin eine Konstitutionsformel aufgestellt, die im wesentlichen ein richtiges Bild des Hämins gibt. Wir bringen die Formel, so wie sie heute durch die Synthese bewiesen ist, und folgen auch bei der Übersicht der analytischen Resultate nicht der geschichtlichen, sondern der logischen Entwicklung.

\*) Nobelvortrag, gehalten in Stockholm am 11. Dezember 1930. Ergänzungen im Text sind nicht vorgenommen. Die Chlorophyllchemie ist also noch entsprechend dem Stande Ende 1930 dargestellt.



Vier Pyrrolkerne (bzw. genauer: 1 Pyrrol-, 1 Maleinimid- und 2 Pyrroleninringe) sind vereinigt durch vier Methingruppen. Die fortlaufende Folge von einfachen und doppelten Bindungen bedingt die Farbe. Die Gruppe  $\text{FeCl}$  ist, zwei  $\text{NH}$ -Gruppen substituierend, ins Molekül komplex eingetreten.

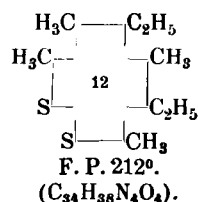
Durch reduktive Spaltung an den Methingruppen bildet sich jeweilig ein Methylrest und eine freie Methin-  
gruppe



und so kommt das Gemisch der Pyrrole 3—10 zustande.

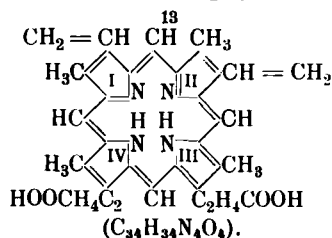
Bei der oxydativen Spaltung werden die Methingruppen herausoxydiert, und man erhält Hämatinsäure in einer Ausbeute, die zwei Pyrrolkernen (III und IV) entspricht. Der Basenanteil (I und II) erfährt offenbar totale Zerstörung, was sich erklärt durch die Vinylgruppen, an denen die Oxydation einsetzt.

Unterwirft man Hämin nach N e n c k i der gelinden Reduktion mit Jodwasserstoff, so erhält man Mesoporphyrin (12). Zur Vereinfachung der umfangreichen Formelschreibweise (siehe oben) lassen wir die vier Methingruppen und die untere Hälfte der vier Pyrrolkerne weg, deuten nur die obere Hälfte des Pyrrolkerns durch eine eckige Klammer an mit den beigefügten  $\beta$ -Substituenten; den Propionsäurerest  $\text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COOH}$  kürzen wir durch den lateinischen Buchstaben „S“ ab.

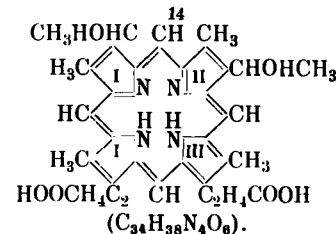


Reduziert man Hämin katalytisch, bekommt man Mesohämin, und in beiden Fällen werden die ungesättigten Seitenketten, die Vinylgruppen, in Äthylreste übergeführt, denn nunmehr entsteht bei der Oxydation Methyläthylmaleinimid, das wir vorher vermißt haben, und zwar entstehen zwei Moleküle Methyläthylmaleinimid (2) und zwei Moleküle Hämatinsäure (1).

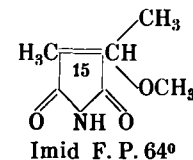
Beraubt man Hämin seines komplex gebundenen Eisens, am besten mit Ameisensäure-Eisen, entsteht Proto- bzw. K ä m m e r e r s Porphyrin:



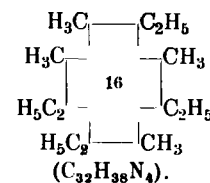
Hierbei wird lediglich das komplex gebundene Eisen entfernt, denn rückwärts läßt sich wiederum dieses Porphyrin in Hämin überführen. Verwendet man zur Eisenabspaltung nach N e n c k i Eisessig-Bromwasserstoff, so lagert sich zunächst, wie W i l l s t ä t t e r fand, Bromwasserstoff an die ungesättigten Seitenketten des Hämins, und später erfolgt Hydrolyse, es entsteht Hämatoporphyrin:



indem an die beiden Vinylgruppen (an Kern I und II) des Protoporphyrins zwei Moleküle Wasser angelagert sind, so daß Oxäthylreste entstanden sind. Hämatoporphyrin gibt bei der Oxydation wiederum nur Hämatinsäure, weil der basische Anteil von den Oxäthylresten aus eine Zerstörung erfährt. Stabilisiert man aber diese Oxäthylreste durch Verätherung, wie dies K ü s t e r beim Tetramethylhämatoporphyrin erreicht hat, so erhält man bei der Oxydation neben zwei Mol Hämatinsäure zwei Mol des Imids folgender Konstitution:



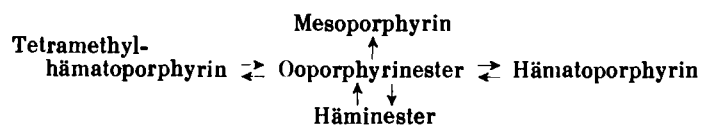
Decarboxyliert man Mesoporphyrin, so erhält man unter Abspaltung von Kohlendioxyd das sauerstofffreie Ätioporphyrin:



Chlorophyll läßt sich letzten Endes zu zwei Ätioporphyrinen abbauen, Pyrroporphyrin ( $\text{C}_{30}\text{H}_{34}\text{N}_4$ ) und Phylloätioporphyrin ( $\text{C}_{31}\text{H}_{36}\text{N}_4$ ), die nicht aus Blutfarbstoff erhältlich sind, die beide jedoch sekundäre Umwandlungsprodukte des Chlorophylls darstellen.

#### Über die Konstitution der natürlichen Porphyrine.

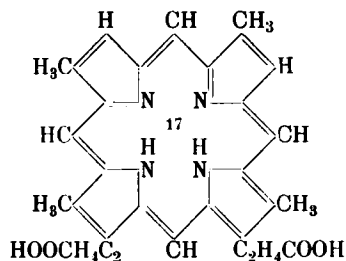
Ooporphyrin ist identisch mit Protoporphyrin bzw. K ä m m e r e r s Porphyrin. Führt man in Ooporphyrin Eisen komplex ein, erhält man Hämin. Reduziert man Ooporphyrinester mit Jodwasserstoff, kommt man zu Mesoporphyrin, ebenso läßt sich der genannte Ester in Tetramethylhämatoporphyrin und Hämatoporphyrin überführen. Folgende Skizze gibt eine Übersicht über diese Umsetzungen, die teils reversibel sind:



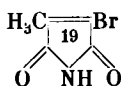
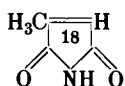
Ooporphyrin ist also Hämin, seines Eisens beraubt.

Durch diese Umsetzungen des Ooporphyrins aus Eierschalen war die Partialsynthese des Hämins durchgeführt und ein weitgehender Einblick in die Konstitution eröffnet. Diese Feststellungen waren die Grundlage für die später durchgeführte Häminsynthese.

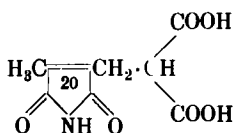
Bei kurz dauernder Hämoglobinfäulnis wird lediglich das komplex gebundene Eisen hydrolytisch neben Globin abgespalten, es entsteht Kämmerers Porphyrin, das sich wieder rückwärts in Hämin überführen läßt. Bei der protrahierten Fäulnis des Hämoglobins durch Monate hindurch bei sodaalkalischer Reaktion werden die ungesättigten Seitenketten des Hämins abgespalten, und es entsteht Deuterohämin. Es bleibt also das komplex gebundene Eisen im wesentlichen erhalten. Aus Deuterohämin wird dann durch Eisenabspaltung das eisenfreie Deuteroporphyrin erhalten:



Bewiesen ist dies durch Isolierung von Citraconimid (18) bei der Oxydation neben Hämatinsäure, ferner durch Bromierung, die Dibromdeuteroporphyrin gibt, und durch Oxydation des Dibromdeuteroporphyrins, welches neben Hämatinsäure Bromcitraconimid (19) entstehen läßt:

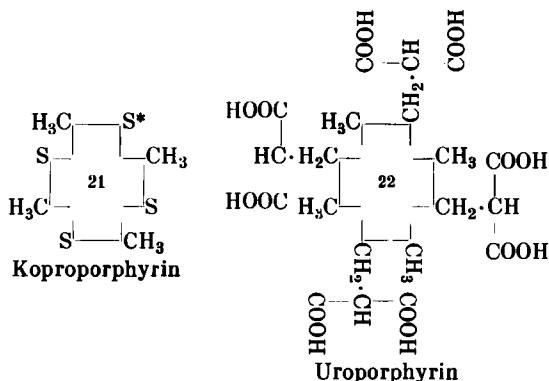


Uroporphyrin gibt bei der Oxydation carboxylierte Hämatinsäure (20), Koproporphyrin Hämatinsäure (1).



Koproporphyrin gibt bei der Reduktion ausschließlich Hämopyrrolcarbonsäure (7).

Die Basenfraction fehlt. Demgemäß entspricht am wahrscheinlichsten Koproporphyrin einem Mesoporphyrin, in dem statt der beiden Äthylreste Propionsäurereste enthalten sind, während das Uroporphyrin dann die entsprechende „Malonsäure“ darstellen sollte. Folgende Formeln tragen diesen Verhältnissen Rechnung:

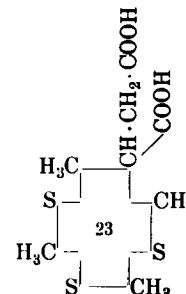


\*) S = CH<sub>2</sub> · CH<sub>2</sub> · COOH.

Im Einklang damit steht die Decarboxylierung der beiden Farbstoffe, welche zu Ätioporphyrin führt; hieraus läßt sich auf das Vorhandensein von vier Methyl- und vier Äthylgruppen im Ätioporphyrin schließen. Die Decarboxylierungsreaktion bei den natürlichen Porphyrinen erfolgte in besonders glatter Reaktion; hier wurde zum erstenmal ein in charakteristischen Schmetterlings-

Kristallformen erscheinendes Ätioporphyrin erhalten, das für die Feststellung der Beziehungen zwischen den später zu beschreibenden synthetischen Ätioporphyrinen und den analytischen maßgebend war.

In Perlmutteraschen wurde Conchoporphyrin aufgefunden, ein monocarboxyliertes Koproporphyrin, das einen Pentamethylester gibt. Ihm kommt wahrscheinlich folgende Konstitutionsformel zu:

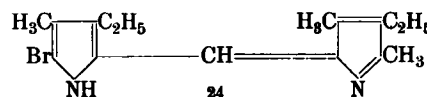


In dieser Formel ist ein Bernsteinsäurerest als Seitenkette enthalten. Auf Grund neuerer synthetischer Ergebnisse sind auch im Uroporphyrin wahrscheinlich zwei Bernsteinsäurereste enthalten, da eine synthetisch erhaltene Porphin-okta-Carbonsäure sich mit Uroporphyrin als nicht identisch erwies.

#### Synthetische Ergebnisse.

Über die Konstitution des Hämins und des Ätioporphyrins wurden verschiedenartige Ansichten geäußert. Außer der Küsterschen Anschauung standen vor allen Dingen die Konstitution eines Tetrapyrroläthylens, wie sie von Willstätter<sup>1)</sup> vertreten wurde, sowie die Möglichkeit der Kombination der beiden Formeln miteinander zur Diskussion. Die synthetischen Methoden mußten auf diesem Gebiet systematisch angewandt werden; dem stand jedoch die relativ geringe Entwicklung der Pyrrolchemie entgegen, war doch von den reduktiven Spaltprodukten des Blutfarbstoffes und Gallenfarbstoffes nur die Synthese des Kryptopyrrols durchgeführt, und auch hier waren die Ausbeuten so gering, daß an den systematischen Aufbau von Pyrrolfarbstoffen nicht zu denken war. Es gelang jedoch, der Reihe nach sämtliche Spaltprodukte des Blutfarbstoffes zu synthetisieren, und die Methoden wurden so ausgearbeitet, daß heute diese Pyrrole in beliebiger Menge für synthetische Zwecke zur Verfügung stehen.

Die Einwirkung von Brom auf Kryptopyrrol führt u. a. zu einem prachtvoll gebromten Methen, dem nachstehende Konstitutionsformel zukommt:

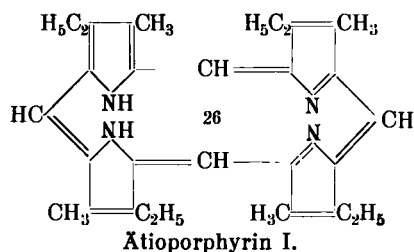
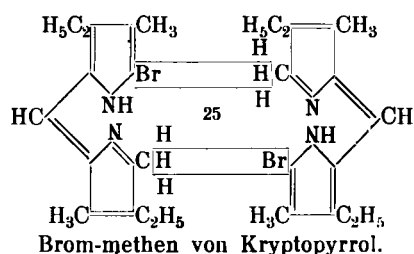


Die Formel in diesem Sinne ist durch Synthese eindeutig bewiesen, und trisubstituierte Pyrrole werden ziemlich allgemein durch Einwirkung von Brom in Methene dieses Typs<sup>2)</sup> übergeführt.

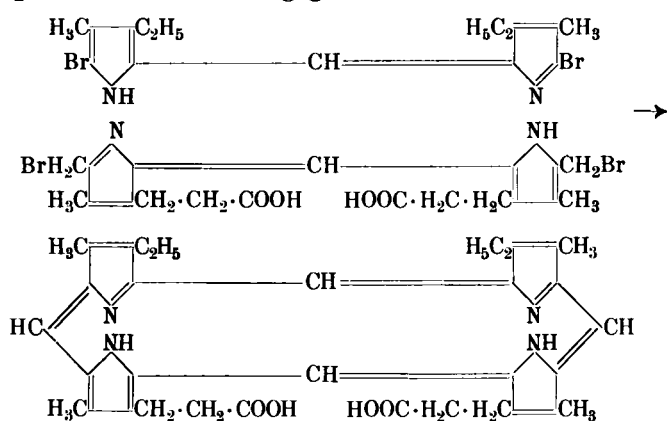
Obiges Methen gab bei der Behandlung mit Säuren, besonders ergiebig beim Kochen mit Ameisensäure, Ätioporphyrin. Die Reaktion kommt durch Vereinigung zweier Moleküle des Methens, Abspaltung von Bromwasserstoff und Dehydrierung im Sinne folgender Formel zustande:

<sup>1)</sup> Vgl. den Nobel-Vortrag Willstätters am 3. 6. 20, S. 9: Les prix Nobel en 1914—1918, Stockholm.

<sup>2)</sup> Häufig tritt auch noch in der α-Methylgruppe Brom ein, insbesondere bei höherer Temperatur. Diese Methene sind durch besonders leichten Übergang in Porphyrine ausgezeichnet.

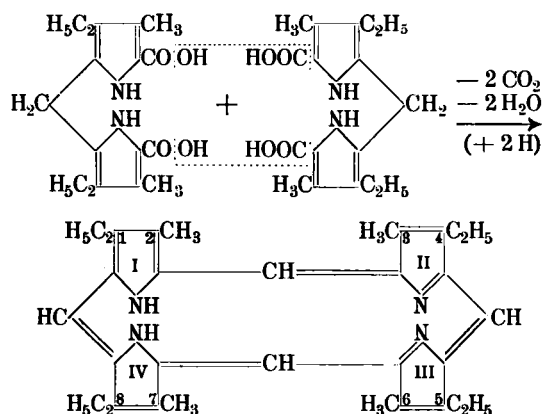


Präparativ besonders wichtig ist die Synthese aus zweifach kerngebromten Dipyrrylmethenen und methylobromierten Dipyrrylmethenen, eine Synthese, die durch folgendes Schema wiedergegeben wird:



und die auch für die Konstitutionsauffassung des Ätioporphyrins und der Porphyrine ganz allgemein im Sinn der alten Küsterschen Formel spricht.

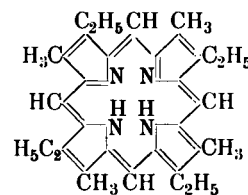
Die Porphyrinsynthese aus einfach kerngebromten Methenen durch Kondensation zweier Moleküle läßt sich auch auf verschiedenartige Methene übertragen, wobei ferner in einem der beiden Methene statt Kernbrom eine freie  $\alpha$ -Methingruppe sein kann. Diese Synthese hat sich besonders für Porphinmonopropionsäuren bewährt. In guter Ausbeute vollzieht sich auch die Porphyrinsynthese aus Methandicarbonsäuren zweckmäßig durch Erwärmen mit Ameisensäure, wobei sich bei 40° unter lebhafter Kohlensäureabspaltung zunächst die Leukoverbindung bildet, die dann in Porphyrin übergeht:



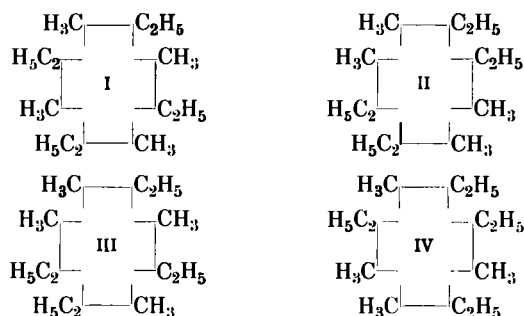
Die Blutfarbstoff-Spaltprodukte Opsopyrrol 6 und Opsopyrrolcarbonsäure 10, die zwei freie Methingruppen besitzen, reagierten unter der Einwirkung von Ameisen-

säure und Formaldehyd — auch Chlormethyläther ist sehr geeignet — zu Porphyrinen, und es folgt auch aus dieser Synthese wieder das Vorhandensein von 4 Methingruppen in den Porphyrinen und damit auch im Hämin.

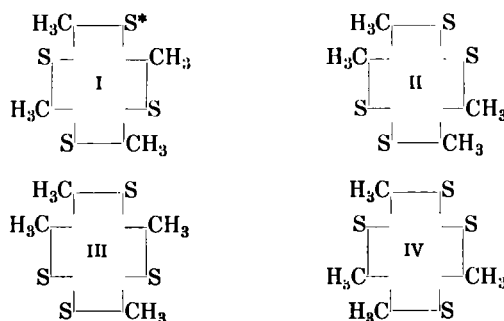
So ist durch Synthesen die Richtigkeit der Küsterschen Formulierung bewiesen; vier Methingruppen sind es, die vier Pyrrolkerne verknüpfen, und Ätioporphyrin wird durch folgende Formel wiedergegeben:



Wenn man in dieser Formel die Methyl- und die Äthylreste sich durch Wasserstoff ersetzt denkt, so kommt man zum Porphin, das allen Porphyrinen zugrunde liegt. Wenn man in dieses System vier Methyl- und vier Äthylreste einsetzt, entsteht wieder umgekehrt „Ätioporphyrin“, aber es ist ersichtlich, daß man das Einsetzen der vier Methyl- und vier Äthylreste in vierfacher Weise vornehmen kann, mit anderen Worten, daß vier verschiedene Isomere je nach der relativen Stellung der Methyl- und der Äthylreste möglich sind, und zwar die folgenden:



Diese vier Ätioporphyrine sind immer nach verschiedenen Methoden synthetisiert und haben sich als verschieden erwiesen. Bei der Mischkristallisation von I mit II ergab sich die typische Schmetterlings-Kristallform des Ätio-uroporphyrins (vgl. S. 619), womit zum erstenmal ein mit „natürlichem Ätioporphyrin“ übereinstimmendes Präparat erhalten war. Aber die Identifikation der Ätioporphyrine ist schwierig, weil sie nur hohe Schmelzpunkte besitzen. Einfacher liegen die Verhältnisse bei den Koproporphyrinen. Ersetzt man in den Ätioporphyrinen die Äthylreste durch Propionsäurereste, so entstehen theoretisch vier Tetramethyl-tetrapropionsäureporphyrine, die die vier theoretisch möglichen Koproporphyrine wiedergeben:



\*) S = CH<sub>2</sub> · CH<sub>2</sub> · COOH.

In der Tat gelang die Synthese aller vier Koproporphyrine, die spektroskopisch identisch sind; während nun aber die vier Ätioporphyrine gegen 400° auf dem Block schmelzen, sind die Ester der Koproporphyrine durch

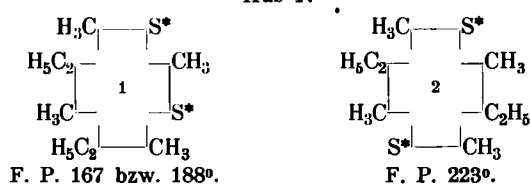
scharfe Schmelzpunkte charakterisiert, und infolgedessen kann hier die Verschiedenheit bzw. Identität leicht erkannt werden. Koproporphyrin I erwies sich als identisch mit dem Koproporphyrin der Porphyrinfälle, mit dem Koproporphyrin aus Hefe und dem Koproporphyrin aus Uro- und Conchoporphyrin. Hierdurch ist die Formel Nr. 21 auf S. 619 bewiesen.

Dagegen war das Koproporphyrin von Hijmans van den Bergh (S. 617) identisch mit Koproporphyrin III (s. oben).

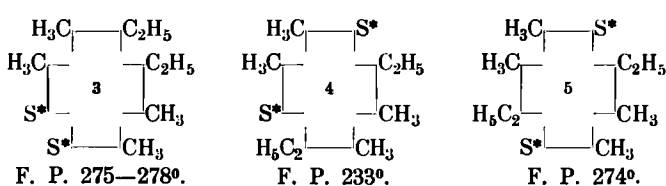
Es ist also ein Dualismus der Porphyrine, der zuerst auf Grund des Studiums der Porphyrine, besonders der der Hefe, durch biologische Beweisführung erkannt war, exakt nachgewiesen. Die Natur arbeitet nach zwei verschiedenen Reaktionsschemen. Es ist wichtig, in jedem Fall von Porphyrine die Identifikation des Koproporphyrins (und natürlich auch gegebenenfalls Uroporphyrins) durch Isolierung als Ester und durch Schmelzpunkt vorzunehmen. Ob das Koproporphyrin des normalen Harns III oder I ist, ist unentschieden. II und IV sind sehr unwahrscheinlich.

Die wichtigste Frage war nun die Feststellung der Reihenfolge der Substituenten beim Hämin. Da das Hämin 2 ungesättigte Seitenketten enthält, war hier die Aufklärung besonders schwierig, und wir wandten uns deshalb der Synthese der Mesoporphyrine zu, weil hier die Verhältnisse wesentlich einfacher lagen, insbesondere auch, weil Mesoporphyrin ein sehr stabiler Körper ist. Auf Grund der analytischen Untersuchung war Mesoporphyrin ein Tetramethyl-diäthyl-dipropion-säureporphin, und die Synthese derartiger Porphyrine stieß auf keine Schwierigkeiten; wohl aber waren theoretisch zahlreiche Isomere möglich, die sich von den 4 Ätioporphyrinen ableiten dadurch, daß an Stelle zweier Äthylreste Propionsäurereste (S) eingesetzt sind. Es ist leicht ersichtlich, daß bei I zwei Variationen möglich sind, bei II drei, bei III sechs und bei IV vier, im ganzen also fünfzehn Isomere, die im folgenden wiedergegeben sind:

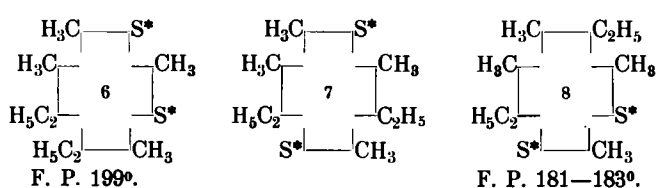
Aus I:



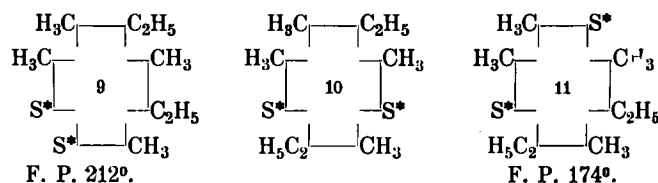
Aus II:



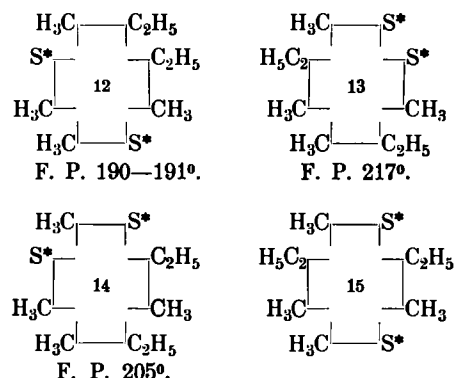
Aus III:



\*) S = CH<sub>2</sub> · CH<sub>2</sub> · COOH.



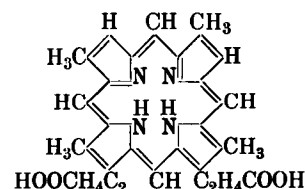
Aus IV:



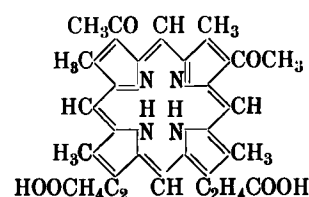
\*) S = CH<sub>2</sub> · CH<sub>2</sub> · COOH.

Von diesen 15 Mesoporphyrinen wurden 12 synthetisiert. Ihre Dimethylester-Schmelzpunkte sind in den Formeln angegeben. Mesoporphyrin 9 (s. oben) erwies sich als identisch mit Mesoporphyrin aus Hämin. Da Mesoporphyrin 9 sich von Ätioporphyrin III (s. oben) ableitet, entspricht der Blutfarbstoff im Bau dem Ätioporphyrin III. Damit war die Art der Anordnung der Seitenketten im Hämin bewiesen, und die systematische Synthese konnte in Angriff genommen werden.

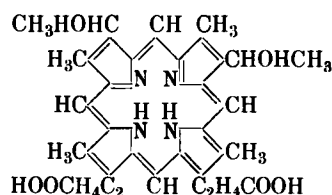
Die Häminsynthese selbst wurde dann auf folgendem Wege durchgeführt. Oben haben wir bei protrahierter Fäulnis von Hämoglobin das Deuterohämin bzw. Deuteroporphyrin erwähnt, dem die ungesättigten Seitenketten des Hämins beim Übergang in Mesoporphyrin in Äthylreste übergehen, so haben wir die Formel des Deuteroporphyrins vor uns, wenn wir im Mesoporphyrin 9 die beiden Äthylreste durch Wasserstoff ersetzen. Dem Deuteroporphyrin kommt also folgende Formel zu:



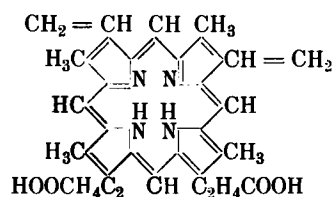
Die Synthese dieses Körpers wurde durchgeführt und seine Identität mit Deuteroporphyrin bewiesen. In sein Eisensalz, Deuterohämin, gelang dann die Einführung von zwei Acetylresten zu Diacetyl-deuterohämin bzw. Diacetyl-deuteroporphyrin:



das bei der partiellen Reduktion Hämatoporphyrin gab, dem hiernach folgende Formulierung zukommt:



Durch Wasserabspaltung wurden dem Hämatoporphyrin zwei Moleküle Wasser entzogen; es entstand dann Protoporphyrin, das durch Eiseneinführung in Hämin übergeführt wurde:



Dieses Hämin erwies sich auch nach der kristallographischen Untersuchung von Herrn Professor Steinmetz als restlos identisch mit Hämin.

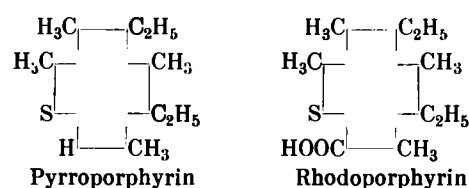
Der Konstitutionsbeweis wurde noch weiter vervollständigt durch Synthese des Tetramethylhämatoporphyrins, das bei der Oxydation das Imid 15 (vgl. S. 618) ergab vom Schmelzpunkt 64°.

Nachdem die Konstitution des Hämins aufgeklärt und es als Abkömmling des Ätioporphyrins III erkannt war, war von großem Interesse die Feststellung der Anordnung der Substituenten im Chlorophyll, ob hier Beziehungen zu Ätioporphyrin I wie bei der Mehrzahl der natürlichen Porphyrine oder zu Ätioporphyrin III vorhanden seien, oder ob etwa eine ganz andere Stammsubstanz in Frage käme. Auf die grundlegenden Untersuchungen von Willstätter<sup>3)</sup> kann ich hier nur hinweisen und greife von den wichtigen Ergebnissen Willstätters nur die heraus, die zur Lösung obiger Fragestellungen beitrugen bzw. die Voraussetzung waren. Beim energischen Abbau des Chlorophylls mit Alkali entstehen Phyllo-, Pyrro- und Rhodoporphyrin, aus denen Willstätter durch Brenzreaktion ein Ätioporphyrin erhielt, das er als identisch mit dem Ätioporphyrin aus Blutfarbstoff ansah. Wir nahmen die Untersuchung von neuem auf und konnten aus Rhodo- und Pyrroporphyrin ein gemeinschaftliches Ätioporphyrin isolieren, das um einen Äthylrest ärmer war als das Ätioporphyrin aus Mesoporphyrin. Phylloporphyrin gab ein hiervon spektroskopisch verschiedenes Ätioporphyrin, das ebenfalls eine freie Methingruppe trägt, und das durch Alkoholatabbau unter Verlust eines C-Atoms in Pyrro-Ätioporphyrin überführbar ist. Die Konstitution dieses sowie der drei genannten Porphyrine konnte dann auf synthetischem Wege nahezu restlos aufgeklärt werden.

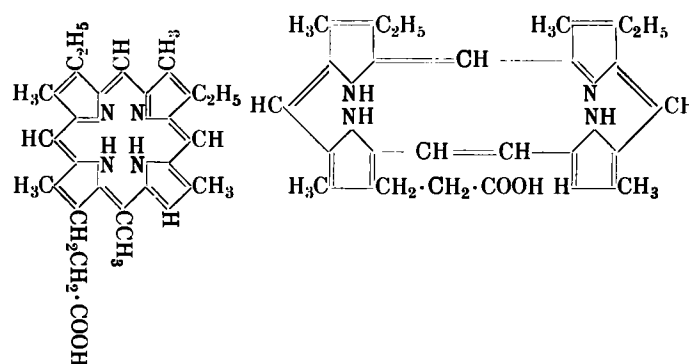
Pyrroporphyrin ist ein Tetramethyl-diäthyl-monopropionsäureporphin. In nahen Beziehungen zu ihm steht Rhodoporphyrin, denn bei ihm befindet sich an der freien Methingruppe des Pyrroporphyrins eine Carboxylgruppe. Die Isomerenfrage war bei diesen Porphyrinen besonders kompliziert, da von jedem der Porphyrine im ganzen 24 existieren.

Das Prinzip der Konstitutionsaufklärung war folgendes: An Tetramethyl-tri-äthyl-monopropionsäureporphinen existieren acht Isomere, alle acht wurden synthetisiert. Nimmt man aus diesen Triäthylporphinen einen Äthylrest heraus, so hat man den Pyrroporphyrin-Typ vor sich, von dem 24 Isomere demgemäß existieren, da

jeweilig aus den 8 isomeren Triäthylporphinen je eine Äthylgruppe herausgenommen werden kann. Wir führten nun in das natürliche Pyrroporphyrin wieder auf indirektem Wege den Äthylrest ein und erhielten die 1,3,5,8-Tetramethyl-2,4,6-triäthylporphin-7-propionsäure, die sich vom Ätioporphyrin III ableitet. Damit war die Abstammung des Pyrroporphyrins vom Ätioporphyrin III bewiesen, noch nicht aber die Stelle der freien Methingruppe, die in 2-, 4- oder 6-Stellung vorhanden sein konnte. Die 6-Stellung wurde bewiesen durch die Synthese des 1,3,5,8-Tetramethyl-2,4-diäthyl-7-propionsäure-6-carbonsäureporphins, das also die Carboxylgruppe in 6 trägt und sich als identisch erwies mit dem natürlichen Rhodoporphyrin. Gleichzeitig wurde die Synthese des 1,3,5,8-Tetramethyl-2,4-diäthyl-7-propionsäureporphins bewerkstelligt, das sich als identisch mit dem „natürlichen Pyrroporphyrin“ herausstellte. Hierdurch war die 6-Stellung für die charakteristischen Gruppen der wichtigsten Chlorophyllporphyrine bewiesen und gleichzeitig die des Phylloporphyrins, denn Phylloporphyrin läßt sich ja mit Hilfe von Alkoholat in Pyrroporphyrin überführen. Pyrro- und Rhodoporphyrin entsprechen also folgenden Konstitutionsformeln:



Phylloporphyrin wird durch eines der beiden folgenden Bilder wiedergegeben:



wie auf synthetischem Wege bewiesen wurde, wobei die Stellung der von den Blutfarbstoff-Porphyrinen abweichenden Bindungsart noch nicht eindeutig feststeht.

Bewiesen ist jedoch die relative Stellung der Substituenten des Rhodo-, Pyrro- und Phylloporphyrins, die mit denen des Blutfarbstoffs prinzipiell übereinstimmend ist, ein Beweis, der neuerdings noch erhärtet wurde durch Überführung von Chlorophyll-Pyrroporphyrin in Mesoporphyrin IX.

Die hier erwähnten Chlorophyllporphyrine sind nun beim energischen Abbau mit Alkoholat isoliert, und es war weiter die Frage zu lösen, ob der Porphinkern wirklich dem Chlorophyll zugrunde liegt.

Der milde Abbau der Chlorophyllderivate mit Jodwasserstoff, Ameisensäure und anderen Reagenzien führte zu zahlreichen Porphyrinen, auf die nicht näher eingegangen werden soll.

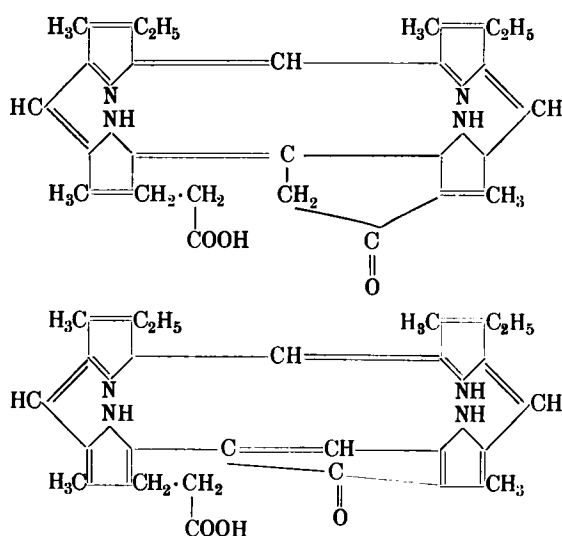
Berücksichtigt man dann noch weiter, daß das von Löbisch und Fischler sowie Marchlewski isolierte Phylloerythrin auf Grund seiner spektroskopischen

<sup>3)</sup> Vgl. seinen Nobelvortrag und das Chlorophyll-Buch: Willstätter u. Stoll, Verlag W. Springer, Berlin 1913.

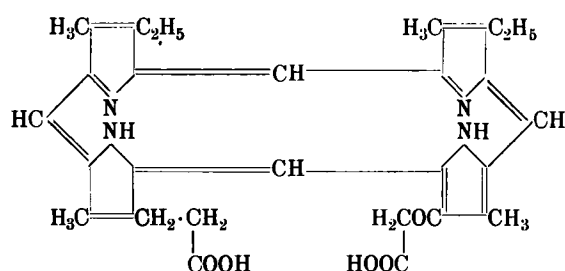
Erscheinungen als ein Porphyrin angesprochen werden muß und dieses neuerdings auf rein chemischem Wege durch Einwirkung von Eisessig-Bromwasserstoff bei 45° aus Phäoporphyrin  $a_6$  und  $a_5$  erhalten wurde, unterliegt es wohl keinem Zweifel mehr, daß zwar der Porphinkern selbst nicht dem Chlorophyll zugrunde liegt, aber doch ein diesem sehr nahestehendes System. Bemerkenswerterweise erhält man auch auf synthetischem Wege relativ leicht mit Chlorophyll-Chlorinen und -Rhodinen spektroskopisch übereinstimmende Körper.

Anhydrierung der Porphinpropionsäuren führt zu Rhodinen, die Reduktion der Porphyrine mit Alkoholaten, insbesondere der Eisensalze, zu Chlorinen, ebenso die Oxydation der Porphyrine mit Schwefelsäure und Wasserstoffsuperoxyd. Aber auch durch bloßes Erhitzen der Porphyrine in indifferenten Lösungsmitteln kann das Chlorinspektrum erzeugt werden, und die Belichtung des Koproporphyrins führt zu Chlorin.

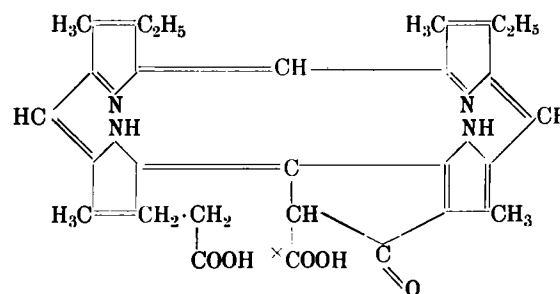
Phylloerythrin entsteht auf biologischem Wege im Magen-Darmkanal der Wiederkäuer aus Chlorophyll. Hier vollziehen sich vor allem Gärungsprozesse, und als Arbeitshypothese mindestens kann man annehmen, daß im Bau prinzipiell Phylloerythrin dem Chlorophyll noch nahestehen wird. Die Konstitution des Phylloerythrins konnte in neuerer Zeit mit einiger Wahrscheinlichkeit aufgeklärt werden, wobei wie beim Phylloporphyrin wieder die Bindungsart zweier Pyrrolkerne noch nicht eindeutig feststeht. Demgemäß stehen die zwei folgenden Formeln für Phylloerythrin zur Diskussion:



Hiernach sind die Beziehungen des Chlorophylls zum Blutfarbstoff näher, als man bis jetzt angenommen hat, wenn, was das wahrscheinlichste ist, die zuerst angegebene Formel für Phylloerythrin die richtige ist, denn dann steht das Phylloerythrin in relativ nahen Beziehungen zu Mesoporphyrin. Stellt man sich in diesem Oxydation in  $\beta$ -Stellung vor an einem Propionsäurerest, wie sie von Knoop und anderen für den oxydativen Abbau der Fettsäuren nachgewiesen wurde, kommt man zu einer Porphin-keto-propionsäure folgender Formulierung:



Nimmt man dann dehydrierende Vereinigung der reaktionsfähigen Methylengruppe in der Ketoseitenkette mit einer  $\alpha$ -ständigen Methingruppe an, so hat man folgende Formulierung:



vor sich, deren nahe Beziehungen zum Phylloerythrin klar liegen und deren mit einem Kreuz  $\times$  bezeichnete Carboxylgruppe die Labilität besitzen muß, wie sie eine Carboxylgruppe im Chlorophyll selbst und ihm nahestehende Derivate kennzeichnet. Bei der energischen Alkali-Einwirkung wird die Carboxylgruppe dann abgespalten und das intermediär auftretende Phylloerythrin wird dann durch hydrolytisch bzw. reduktiv oxydative Sprengung der  $\text{CH}_2\text{-CO}$ -Bindung in Phyllo- und Rhodoporphyrin übergeführt, wie das ja experimentell feststeht. Die Beweise für obige Zusammenhänge müssen noch erbracht werden<sup>4)</sup>, wie überhaupt das Chlorophyll-Molekül noch viele Rätsel in sich birgt, deren Lösung bei der Labilität des Moleküls noch manche Schwierigkeiten bieten wird, wobei besonders die spektroskopische Verschiedenheit der dem Chlorophyll am nächsten stehenden Derivate und der Porphyrine hervorgehoben werden muß. Diese Schwierigkeit ist aber zum größten Teil durch analytisch-synthetische Versuche überwunden. Milde Reduktion führt zu Porphyrinen, und die Natur selbst bewirkt im Organismus der Wiederkäuer durch Phylloerythrinbildung Porphyrinbildung. Der Konstitutionsunterschied zwischen den Porphyrinen und dem Chlorophyll kann also nicht sehr beträchtlich sein, und dies beweist auch die synthetische Bildung von Chlorinen. Chlorine sind auf reduktivem Wege aus Porphyrinen zugänglich, aber auch auf oxydativem; ja sogar beim bloßen Erhitzen der Porphyrine im indifferenten Lösungsmittel tritt Chlorinspektrum auf, auch bei Belichtung von Porphyrinen. Für Porphyrinsynthesen verfügen wir über zahlreiche Methoden. Es müssen daher auch die dem Chlorophyll nahestehenden auf synthetischem Wege zugänglich sein. Die Rückverwandlung der analytisch erhaltenen Chlorophyllporphyrine in Chlorine und deren biologisches Verhalten muß weiter bearbeitet werden, aber noch zahlreiche Untersuchungen werden zur Konstitutionsaufklärung des Chlorophylls notwendig sein.

Nachdem die Reihenfolge der Substituenten im Chlorophyll bekannt ist, ist der Weg für die systematische synthetische Forschung prinzipiell frei, und nachdem Porphyrine bereits in der Pflanze auftreten, kann man wohl eine gemeinsame entwicklungsgeschichtliche Abstammung der beiden für das Leben der Tiere und Pflanzen notwendigen Farbstoffe annehmen, eine Hypothese, die wohl wert wäre der experimentellen Bearbeitung. [A. 84.]

<sup>4)</sup> Protochlorophyll gibt nach Noack (vgl. diese Ztschr. 44, 93 [1931]) bei Behandlung mit Methylalkohol-Chlorwasserstoff Rhodoporphyrin- $\gamma$ -essigsäure-trimethylester, enthält also offensichtlich bereits den isocyclischen carboxylierten Ring. Dies stünde in guter Übereinstimmung mit obiger Theorie der Ableitung des Chlorophylls vom Mesoporphyrin.