

# ANGEWANDTE CHEMIE

HERAUSGEGEBEN VON DER GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER

68. Jahrgang · Nr. 6 · Seite 193–228 · 21. März 1956

FORTSETZUNG DER ZEITSCHRIFT »DIE CHEMIE«

## Neuere Entwicklungen in der Chemie der Porphin-Farbstoffe

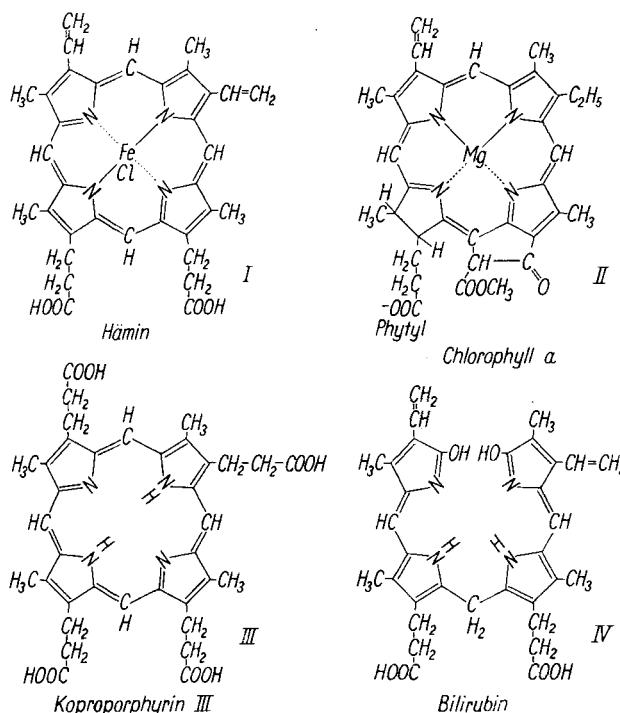
Von Professor Dr.-Ing. K. ZEILE\*)

Wissenschaftliche Abteilung C. H. Boehringer Sohn, Chemische Fabrik, Ingelheim am Rhein

Es werden behandelt: Das Porphin-Gerüst als Tautomerie- und Resonanzsystem. Die Konstitution der Wirkgruppe des Sauerstoff-übertragenden Ferments der Atmung: Optische Messungen und Abbaureaktionen zeigen u. a. als charakteristische Substituenten des Porphin-Gerüstes eine Formyl-Gruppe, eine Vinyl-Gruppe (oder homologe) und einen noch unbekannten Sauerstoff-haltigen größeren Kohlenstoffrest an. Uroporphyrin: Alle 4 isomeren Uroporphyrine sind in letzter Zeit synthetisiert worden, ebenso Porphobilinogen, der natürliche Uroporphyrin-Baustein. Die Isolierung von Fermentsystemen, die bei den einzelnen Phasen der biologischen Synthese des Uroporphyrins und seiner Abwandlung wirksam sind, lässt weitere Einblicke in die Biosynthese des Hämats erwarten. Die Beziehungen des Bauprinzips der Farbkomponente von Vitamin B<sub>12</sub> zu dem des Uroporphyrins werden erörtert.

### Einleitung

Hans Fischer hat der Chemie der Porphin-Farbstoffe über zwei Jahrzehnte seinen persönlichen Stempel aufgeprägt. In der Erkenntnis der lebenswichtigen Bedeutung von Blut- und Blattfarbstoff, außerdem angeregt durch die Arbeiten Nenckis, Pilotys, Küsters und vor allem die umfassend angelegten Untersuchungen Willstätters und nicht zuletzt ermuntert durch seinen Lehrer in der Medizin und Mentor Friedrich von Müller, der sich für die Zusammenhänge zwischen Blut- und Gallenfarbstoff interessierte, hat sich Hans Fischer der Chemie dieser Farbstoffe gewidmet und dieses Arbeitsgebiet nie wieder verlassen.



Bei aller Vielfalt der Wirkungen lässt sich eine große Linie im biologischen Aufgabenbereich der Porphin-Farbstoffe herauslesen, nämlich die Beteiligung an der katalytischen Steuerung der beiden für die organische Welt so wichtigen Reaktionsabläufe: Speicherung der Energie des Sonnenlichts durch Assimilation der Kohlensäure zu organischen Verbindungen, und die Nutzbarmachung der darin enthaltenen Energie durch die Zellatmung.

Hans Fischer, durch Herkunft und Schule der organischen Chemie verschränkt, hat seine Untersuchungen durchweg auf die chemisch klar umschriebenen niedermolekularen Farbkomponenten abgestellt. Diese bewusste Begrenzung auf die Farbstoff-Molekeln war sinnvoll im Hinblick auf den Umfang der Aufgaben. Trotzdem war der Arbeitstag des Forschers zu kurz, als er vor 10 Jahren ein so jähes Ende fand.

Das gemeinsame Bauprinzip von Häm, Koproporphyrin, Chlorophyll a und Bilirubin ist unverkennbar. Als Porphin bezeichnet man nach Hans Fischer das innere Farbstoffgerüst; unter der älteren Bezeichnung „Porphyrine“ werden substituierte Porphine verstanden. Streng genommen gehört das Ringsystem des Chlorophylls nicht zum Porphin-Typ, da es einen partiell hydrierten Ring trägt, doch kann man im weiteren Sinn auch hier von einem Porphin-Abkömmling sprechen. Beim Bilirubin allerdings ist der Ring geöffnet; die Gallen-Farbstoffe zählen deshalb auch nicht mehr zu den Porphin-Farbstoffen.

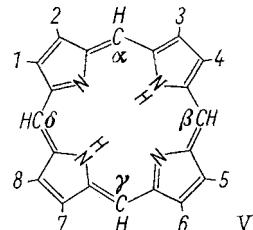
Die Forschungsergebnisse, die Hans Fischer bei der Bearbeitung der Farbstoffe mit den Methoden der klassischen organischen Chemie erhalten hat, wurden das Kernstück der gesamten Porphin-Chemie. Die Auffindung neuer Hämoproteide führte zwangsläufig zur Ausweitung und Differenzierung der Problemstellungen. Neben Konstitutions-Problemen wurden Funktions-Probleme wichtig. Die Abgrenzung der chemischen Einheiten wird jetzt im makromolekularen Bereich gesucht; es interessieren Größe und Bau der Protein-Komponenten und die Art der Verknüpfung mit der Farbstoff-Molekeln. Funktionsprobleme betreffen Reaktionskinetik, den intimeren Reaktionsmechanismus im Bereich

\*) Nach einem Vortrag auf der Gedenkfeier für R. Willstätter und Hans Fischer im Deutschen Museum in München am 16. September 1955.

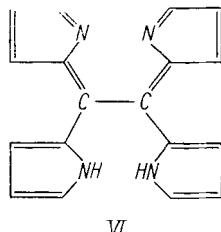
der Chromoproteid-Molekeln und das Zusammenspiel mit anderen Fermentkomponenten. Das Problem der Biosynthese in Blut- und Blattfarbstoffen ist rasch in den Vordergrund gerückt und einer Lösung nahegebracht worden. Einige Probleme des engeren Bereichs der Strukturchemie der eigentlichen Porphin-Farbstoffe seien im folgenden kurz skizziert.

### Das Porphin-System

Die ringförmige Verknüpfung von vier Pyrrol-Kernen über Methin-Brücken in  $\alpha$ -Stellung ist uns heute ein durchaus geläufiges Symbol (V):

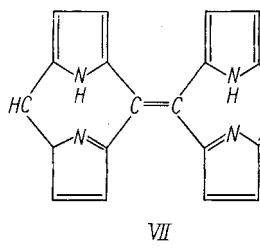


Das war es keineswegs in der Frühzeit der Porphin-Chemie, obwohl es bereits 1912 in glücklicher Intuition von W. Küster<sup>1)</sup> vorgeschlagen worden war. Es ist nicht ohne Reiz, die damalige Diskussion zu verfolgen: Willstätter<sup>2)</sup> kam mit den seinerzeit gültigen Vorstellungen ganz verständlicherweise zu einer Ablehnung mit der Begründung: „Das Unwahrscheinliche dieser Formel liegt namentlich in der Annahme eines aus vier Stickstoffatomen und 12 Kohlenstoffatomen bestehenden 16-gliedrigen Ringgebildes“, und weiter: „Eine Verbindung von Pyrrol zu Pyrrol mit Methylen- oder Methin-Gruppen gemäß der Formel von Küster ist nicht annehmbar, weil sie einen ungewöhnlich komplizierten Ring ergibt“. Willstätter selbst schlug die in Formel VI wiedergegebene Konstitution vor.



VI

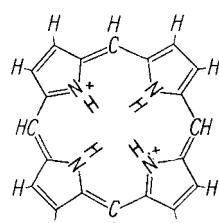
Fischer enthielt sich solange einer Stellungnahme, als ihm die experimentellen Begründungen nicht zureichend erschienen. Zusammen mit den Küsterschen Ergebnissen der Oxydation sah er dann in der Äthylat-Spaltung des Hämats, die analog der Spaltung von Dipyrromethanen verläuft<sup>3)</sup>, einen Beweis für die  $\alpha$ -ständige Verknüpfung der Pyrrol-Kerne. Später diskutierte er auf Grund von Beobachtungen über den Gallenfarbstoff-Abbau zu Dipyrromethan-Derivaten und unter Berücksichtigung der Abkunft des Gallenfarbstoffs vom Blutfarbstoff eine Formel, die Elemente der Küsterschen und Willstätterschen Formel enthält (VII)<sup>4)</sup>.



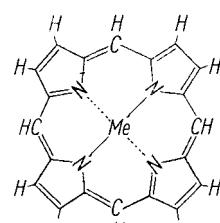
VII

Verknüpfung der Pyrrol-Kerne. Später diskutierte er auf Grund von Beobachtungen über den Gallenfarbstoff-Abbau zu Dipyrromethan-Derivaten und unter Berücksichtigung der Abkunft des Gallenfarbstoffs vom Blutfarbstoff eine Formel, die Elemente der Küsterschen und Willstätterschen Formel enthält (VII)<sup>4)</sup>.

Letzten Endes brachten die umfassenden synthetischen Arbeiten Hans Fischers die Entscheidung im Sinne der Küsterschen Formulierung. Als Problem ist zunächst die Formulierung der Doppelbindungen und die Bindung der beiden zentralen Wasserstoffatome geblieben. Es kann sich im übrigen nur um ein Resonanz-System mit aromatischem



VIII



IX

<sup>1)</sup> W. Küster, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 82, 469 [1912].

<sup>2)</sup> R. Willstätter u. M. Fischer, ebenda 87, 423 [1913].

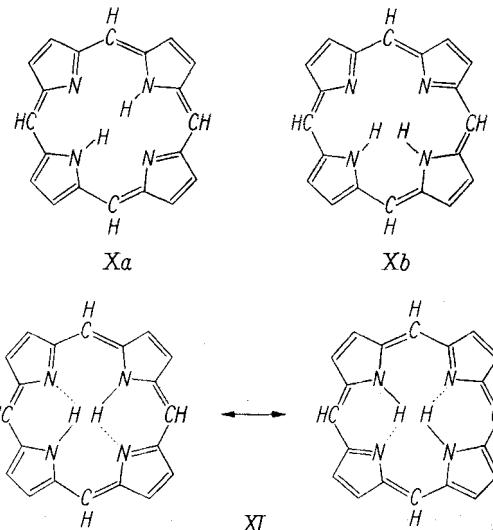
<sup>3)</sup> H. Fischer u. E. Bartholomäus, ebenda 84, 262 [1913].

<sup>4)</sup> H. Fischer u. H. Röse, ebenda 89, 267 [1914].

Charakter handeln. Eine derartige Formulierung ist bei den Salzen mit dem Porphin-System als Kation oder Anion bzw. bei den Komplex-Salzen durchaus möglich.

Hier führt allein die Verschiebung von Elektronen, bzw. von Ladungen, ohne Lösung von Atombindungen, zu einem zentro-symmetrischen System.

Bei der freien Porphin-Base bestehen jedoch theoretisch zwei Möglichkeiten: Eine Formulierung mit fixierten Wasserstoff-Atomen (X) oder eine nicht fixierte Anordnung, z. B. mit Wasserstoff-Brücken (XI).



Hans Fischer hat bei den Porphin-Abkömmlingen die Formulierung Xa bevorzugt. Maßgebend waren dabei gewisse Gesetzmäßigkeiten der Absorptions-Spektren<sup>5)</sup>.

Ein Porphin-Derivat mit gesättigten Substituenten, zum Beispiel Ätioporphyrin mit 8 Alkyl-Resten, zeigt als freie Base in einem neutralen organischen Lösungsmittel im sichtbaren Bereich den im Bild 1 aufgezeigten vierbandigen Typ eines Absorptionspektrums, der als „Ätio“-Typ bezeichnet wird.

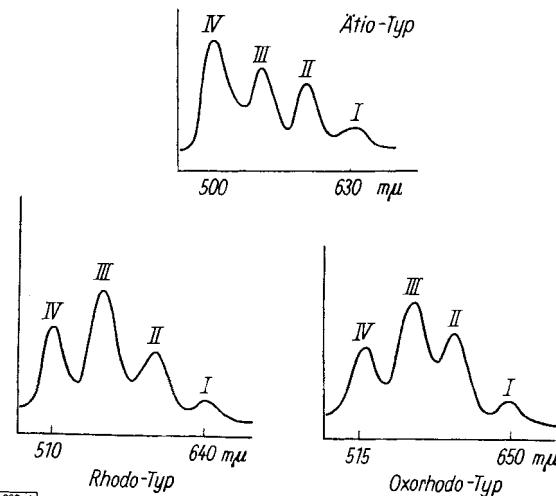


Bild 1. Absorptions-Spektren von Porphin-Abkömmlingen

Trägt eine Seitenkette eine Carbonyl-Gruppe als unmittelbaren Kernsubstituenten oder in Konjugation zum Kern, zum Beispiel eine Formyl- oder Carboxyl-Gruppe, so ändern sich — abgesehen von einer Rot-Verschiebung der Banden — deren Intensitätsverhältnisse. Es liegt der

<sup>5)</sup> Über die Diskussion der Absorptionstypen siehe: H. Fischer u. H. Orth: Chemie des Pyrrols, II, 1, S. 579, Leipzig 1937; R. Lemberg u. J. E. Falk, Biochem. J. 49, 674 [1951]. Der letzteren Darstellung sind die nachstehenden schematisierten Absorptions-Spektren entnommen.

„Rhodo“-Typ vor, benannt nach dem Rhodoporphyrin, einem Chlorophyll-Abbauprodukt mit einer Carboxyl-

Gruppe in Stellung 6 (XII).

Eine zweite Carbonyl-Gruppe – oder kurz ein zweiter „rhodofizierender“ Substituent – kann nun den Rhodo-Typ weiter verstärken unter Ausbildung eines „Oxorhodo“-Typs, nämlich, wenn sie an einem, dem ersten carbonyl-substituierten gegenüberliegenden Kern eintritt. Sie kann aber auch die Wirkung

der ersten rhodofizierenden Gruppe aufheben, unter Wiederherstellung des Ätio-Typs, wenn sie in einen benachbarten Kern eintritt.

Aus der gegenseitig verstärkenden Wirkung zweier gegenüberliegender Kerne schloß *Hans Fischer* auf eine gleiche Struktur derselben und gab deshalb der Formel mit gegenüberliegenden Wasserstoff-Atomen den Vorzug.

Im Falle fixierter Wasserstoff-Atome ist die Existenz von Isomeren denkbar, die sich aber in keinem Fall isolieren ließen<sup>6)</sup>. Trotzdem erhielt die Auffassung von festliegenden Wasserstoff-Atomen erneut eine Stütze durch *Erdmann*

und *Corwin*<sup>7)</sup>, die ein von *McEwen*<sup>8)</sup> synthetisiertes N-Methyl-ätioporphyrin untersuchten (XIII).

Das Absorptions-Spektrum dieses Porphyrins ist, abgesehen von einer Rot-Verschiebung, von grundsätzlich gleichem Typ, wie er dem Ätioporphyrin selbst zu-

kommt. Daraus ist zu schließen, daß Wasserstoff-Atom und Methyl-Gruppe hier ebenfalls normal kovalent gebunden sind; demnach entfällt die Formel mit typischen Wasserstoff-Brücken. Diese Überlegung veranlaßte *Dorough* und *Shen*<sup>9)</sup>, erneut nach Isomerie-Möglichkeiten bei Porphin-Derivaten zu suchen.

Wenn ein Porphyrin bei Zimmertemperatur ein Isomeren-Gemisch im Sinn einer Tautomerie darstellt, dann müßte sich bei hinreichend großer Temperaturniedrigung eine Veränderung des Absorptions-Spektrums zeigen, da bei tiefer Temperatur das stabile Isomere bevorzugt wird. Die Autoren verglichen das Absorptions-Spektrum des  $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ -Phenyl-porphins – eines Porphins, dessen 4 Methin-Gruppen durch Phenyl-Reste substituiert sind – bei Zimmertemperatur und der Temperatur der flüssigen Luft bzw. des flüssigen Stickstoffs. In der Tat ergeben sich deutliche Abweichungen: Erhöhung der Extinktions-Koeffizienten und Verschiebung der langwelligen Banden nach blau, umgekehrt der kurzweligen Banden nach rot. Ganz analog verhält sich das Fluoreszenz-Spektrum.

Diese Aufspaltung gewisser Absorptions-Banden ließ sich als ein Nebeneinander der Banden zweier chemischer Individuen deuten; bei getrennter Anregung im engen Spektral-Bereich der einzelnen Banden, die allerdings wegen der hohen Ansprüche an die Monochromasie nicht völlig selektiv möglich war, ergaben sich nämlich zwei verschiedene Fluoreszenz-Spektren, die von zwei verschiedenen Verbindungen herrührten mußten.

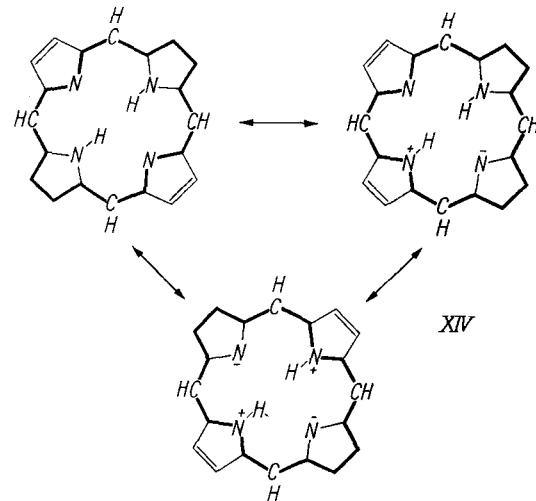
<sup>6)</sup> Vgl. dazu: *P. Rothermund*, J. Amer. chem. Soc. 61, 2912 [1939]; *F. Pruckner*, Z. physik. Chem. A, 190, 101 [1942]; *H. Ball*, *G. D. Dorough* u. *M. Calvin*, J. Amer. chem. Soc. 68, 2278 [1946].

<sup>7)</sup> *J. C. Erdmann* u. *A. H. Corwin*, ebenda 68, 1885 [1946].

<sup>8)</sup> *W. K. Mc Ewen*, ebenda 68, 711 [1946].

<sup>9)</sup> *G. D. Dorough* u. *K. T. Shen*, ebenda 72, 3939 [1950].

Lösungsmittel-Einflüsse sind am Zustandekommen der beiden Spektren nicht beteiligt, denn bei Komplex-Salzen wurde, wie zu erwarten, keine Banden-Verschiebung beobachtet. So ist ein Tautomerie-Gleichgewicht bei der freien Porphin-Base sehr wahrscheinlich. In einer der beiden isomeren Formen bestehen jeweils Resonanz-Möglichkeiten (XIV)<sup>9)</sup>:



Die stark ausgezogenen Linien geben die Verschiebung von Doppel- und Einfachbindungen bzw. der Ladungen an. Dabei sind energiereiche polare Strukturen berücksichtigt. Eine Porphin-Formel umfaßt also ein Tautomerie-Gleichgewicht, ohne Festlegung der Einfach- und Doppelbindungen in den einzelnen Isomeren.

Der Aromaten-ähnliche Charakter der Porphin-Derivate wird gekennzeichnet durch die Differenz des Energieinhalts, dem für die Grundstruktur der Porphin-Formel errechneten, und dem aus den Verbrennungswärmen verschiedener Porphyrine für das Porphin-System ermittelten. Diese Mesomerieenergie ergibt sich zu ca. 250 Kcal/mol; im Vergleich dazu beträgt bekanntlich die des Benzols 36 Kcal.

Allerdings ist einschränkend darauf hinzuweisen, daß die Beobachtungen von *Dorough* und *Shen* zunächst nur für das Tetraphenyl-porphin gelten, bei dem die beiden Isomeren möglicherweise besonders stabilisiert sind. Streng genommen besagt deren optische Charakterisierung nur, daß sie über einen größeren Zeitraum beständig sind, als er zur Absorption eines Photons nötig ist. Die Energieschwelle bei der Umwandlung dürfte entsprechend der räumlichen Nähe der Stickstoff-Atome und ihrer Fähigkeit, Anionen zu bilden, außerordentlich klein sein. Es ist daher keinesfalls mit der Isolierung von Isomeren zu rechnen. Wichtig wären analoge Untersuchungen mit den gut bekannten, nicht aromatisch substituierten Porphyrinen, besonders unter Berücksichtigung solcher Substituenten, die für die Ausbildung der verschiedenen Absorptions-Typen verantwortlich sind. Hier scheint eine Betrachtungsweise, die diese Substituenten in Beziehung zum gesamten mesomeriefähigen System setzt, angebracht; die Regeln über die Ausbildung der Spektral-Typen dürften dadurch entscheidend bereichert werden.

### Konstitutionsproblem der Wirkgruppe des Sauerstoff-übertragenden Ferments

Unter den Hämoproteiden ist das Sauerstoff-übertragende Ferment der Atmung besonders weit verbreitet und nimmt wahrscheinlich phylogenetisch eine besondere Stellung zwischen Blut- und Blattfarbstoff ein. Weil es nur in äußerst niedrigen Konzentrationen vorkommt, ist vor-

läufig eine präparative Abgrenzung gegen die Zellstruktur noch nicht möglich. Warburgs berühmte Methode der Charakterisierung der Wirkgruppe durch das photochemische Wirkungs-Spektrum hatte diese Schwierigkeiten umgangen; in nachfolgenden präparativen Versuchen kam man bei geringem Reinigungseffekt bis heute noch nicht mit Sicherheit zu molekular-dispersen Lösungen. Deshalb war bisher eine Inangriffnahme des Konstitutionsproblems überhaupt nur unter Beschränkung auf die Farbkomponente aussichtsreich. Die wesentliche präparative Aufgabe besteht dabei in der Abtrennung von begleitendem Protohäm, mit dessen Anwesenheit im blutfarbstoffführenden Gewebe stets zu rechnen ist. In der Regel dient der Herzmuskel als Ausgangsmaterial.

Um die Charakterisierung der abgetrennten Farbkomponente als Häm und Eisen-freies Porphyrin haben sich im wesentlichen vier Arbeitskreise bemüht, nämlich Rawlinson und Hale, Falk, Rimington und Lemberg, Dannenberg und Kiese und insbesondere Warburg. Durchweg wird Aceton-Salzsäure zur Freilegung des Ferment-Hämins verwendet; in verschiedenen Versuchs-Varianten trennt man von Lipoiden und Protohäm durch Salzsäure-Behandlung und Chromatographie an Aluminiumoxyd.

Am weitesten ist Warburg mit präparativer Methodik vorgestossen, dem es gelang, das Ferment-Häm, das er Cytohäm gennt, in kristallisiertem Zustand abzuscheiden, der Elementar-Analyse zu unterwerfen und durch weitere Umsetzung zu charakterisieren<sup>10,11</sup>.

Die Beschreibung der Farbstoff-Präparate ist bei den verschiedenen Forschungskreisen nicht streng übereinstimmend. Es soll versucht werden, das Gemeinsame und Charakteristische des über das Ferment-Häm Bekannte darzustellen; dabei werden die spektrometrischen Daten, die in nachfolgender Tabelle 1 zusammengestellt sind, zu den analytischen Befunden Warburgs in Beziehung gesetzt.

Hämochromogen	I. Absorptionsbande (m $\mu$ )				
	Cystein	Hydroxylamin	Hydroxylamin, Diazo-essigester	Pd. H <sub>2</sub>	
Rawlinson u. Hale <sup>12)</sup>	587	647(O)	634(R)	637(R)	
Falk u. Rimington <sup>13)</sup>	587	647(R) $\rightarrow$			
Dannenberg u. Kiese <sup>14)</sup>	587	648(O)		636(R)	625
Warburg u. Gewitz <sup>11)</sup>	587	645(O, R)		635(R)	624

Tabelle 1

Übereinstimmend wird die Absorptions-Bande des Ferment-Hämochromogens bei 587 m $\mu$  angegeben. Wesentlich erscheint, daß nach den Angaben der englischen Autoren das Ferment-Porphyrin dem Oxorhodo-Typ angehört (vgl. Bild 1).

Falk und Rimington<sup>13)</sup> haben eine Veränderung des Ferment-Porphyrins während der Aufarbeitung beschrieben, und zwar geht der ursprüngliche Rhodo-Typ während der Salzsäure-Äther-Fraktionierung ohne Verschiebung der Spektralbanden in den Oxorhodo-Typ über. Die Angaben von Dannenberg und Kiese<sup>14)</sup> über das Absorptions-Spektrum lassen keine sichere Entscheidung zwischen Rhodo-

<sup>10)</sup> O. Warburg, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 288, 1 [1951].

<sup>11)</sup> O. Warburg u. H. S. Gewitz, ebenda 292, 174 [1953].

<sup>12)</sup> W. A. Rawlinson u. J. A. Hale, Biochem. J. 45, 247 [1949].

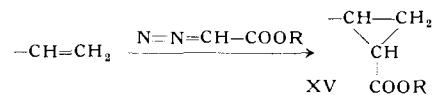
<sup>13)</sup> J. E. Falk u. C. Rimington, ebenda 51, 36 [1942].

<sup>14)</sup> H. Dannenberg u. M. Kiese, Biochem. Z. 322, 395 [1952].

und Oxorhodo-Typus zu; indes sprechen die weiteren Reaktionen für den Oxorhodo-Typus<sup>15a-d)</sup>.

Der Oxorhodo-porphyrin-Typ setzt wie erwähnt die Gegenwart von zwei rhodofizierenden Gruppen voraus. Die Spektral-Daten zeigen nun, daß eine davon eine Formyl-Gruppe ist, denn bei der Reaktion mit Cystein und Hydroxylamin ist eine Banden-Verschiebung nach dem Kurzwelligen festzustellen, was für eine Formyl-Gruppe charakteristisch ist. Außerdem bildet das Oxim mit Essigsäureanhydrid ein Nitril, was in Übereinstimmung mit der Erfahrung eine rückwärtige Rot-Verschiebung des Absorptions-Spektrums mit der ersten Bande bei 645 m $\mu$  zur Folge hat (in Tabelle 1 nicht aufgeführt). Da im Oxim eine Formyl-Gruppe blockiert ist und es trotzdem noch den Rhodo-Typ zeigt, muß eine weitere rhodofizierende Gruppe, über deren Natur zunächst noch nichts ausgesagt werden kann, übriggeblieben sein. Dadurch scheint der Oxorhodo-Typ des Ferment-Hämins gesichert.

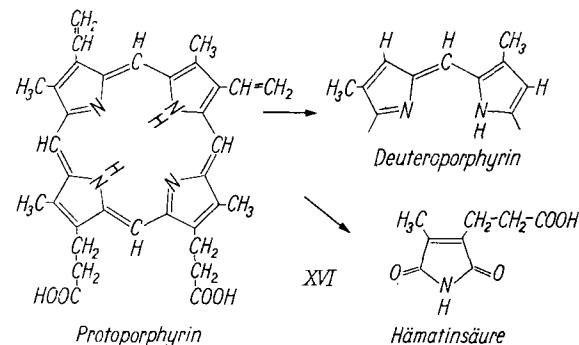
Außerdem ist eine Vinyl-Gruppe abzuleiten. Setzt man ein Vinyl-haltiges Porphyrin mit Diazo-essigester um, so tritt unter Stickstoff-Abspaltung Anlagerung zum Cyclopropan-carbonsäureester ein (XV)<sup>16)</sup>:



Der Übergang vom ungesättigten zum gesättigten System ist mit einer Blau-Verschiebung der Absorptionsbanden um etwa 10 m $\mu$  begleitet. Eben dieses Verhalten zeigt das Oxim des Ferment-Porphyrins. Schließlich führt die katalytische Hydrierung in Gegenwart von Palladium, die auch die rhodofizierenden Gruppen mit erfaßt, zur gleichen Spektral-Verschiebung wie die Diazo-essigester-Reaktion, wie es von einer Vinyl-Gruppe zu erwarten ist.

Durch Warburgs präparativ-analytische Untersuchungen an reinen kristallisierten Substanzen ist weiterhin folgendes gesichert:

Cytohäm hat zwei Carboxyl-Gruppen. Der oxydative Abbau mit Chromsäure ergab analog zur selben Reaktion am Blut-Häm mehr als 1 Mol Hämatin-Säure, wodurch die Anwesenheit von zwei, je einen Methyl- und einen Propionsäure-Rest tragenden Pyrrol-Kernen nachgewiesen ist (XVI).



Bei der alkalischen Hydrierung des Protohämins werden zur Sättigung der beiden Vinyl-Gruppen 2 Mol H<sub>2</sub> aufgenommen; Cytohäm nimmt dagegen nur 1 Mol H<sub>2</sub> auf;

<sup>15a)</sup> Nachträgl. Anm.: Durch inzwischen bekannt gewordene Untersuchungen von Lemberg u. Mitarbb. wurde der Oxorhodo-Typ des Ferment-Porphyrins eindeutig bestätigt. Die Beobachtungen von Falk und Rimington<sup>13)</sup> wurden korrigiert; bei der Umwandlung des Ferment-Porphyrins, die reversibel ist, tritt keine Änderung des Absorptions-Typs auf: a) R. Lemberg, B. Bloomfield, P. Caiger and W. H. Lockwood, Austral. J. exp. Biol. med. Sci. 33, 435 [1955]; b) R. Lemberg and M. Stewart, ebenda 33, 451 [1955]; c) R. Lemberg and J. Parker, ebenda 33, 483 [1955]; d) R. Lemberg, M. Stewart and B. Bloomfield, ebenda 33, 491 [1955]. Zum Oxorhodo-Typ des Absorptionspektrums siehe ferner: I. T. Oliver u. W. A. Rawlinson, Biochemic. J. 61, 641 [1955].

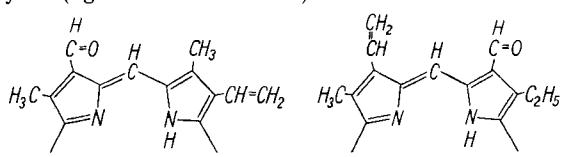
<sup>16)</sup> H. Fischer u. H. Medick, Liebigs Ann. Chem. 517, 245 [1935].

demnach muß es eine Vinyl-Gruppe besitzen. Bei saurer Hydrierung in Eisessig verbraucht Cytohämin jedoch ein Mol  $H_2$  mehr als Protohämin. Da aber im Cytohämin nur eine Vinyl-Gruppe vorhanden ist, treffen zwei überschließende Mole  $H_2$  auf die Hydrierung der rhodofizierenden Gruppen, was wiederum mit dem Vorhandensein zweier rhodofizierenden Gruppen neben der Vinyl-Gruppe im Einklang steht.

Die Warburgschen Analysenwerte für das Cytohäm in ergeben noch den interessanten Hinweis auf eine längere Kohlenstoff-Seitenkette. Als Bruttoformel errechnet sich für das freie Porphyrin  $C_{48}H_{60}O_8N_4$ . Berücksichtigt man eine Vinyl-Gruppe, eine Formyl-Gruppe sowie die beiden für die Hämatin-säure-Bildung verantwortlichen Pyrrol-Ringe, so ergibt sich für den übrigbleibenden fraglichen Rest als Bruttoformel  $C_{14}H_{28}O$ . Einen wichtigen Schritt zur weiteren Konstitutions-Aufklärung bildet in den Experimenten Warburgs der Abbau des Ferment-Hämins zur Stufe des Deutero-porphyrin-Typs. Er vollzieht sich nach dem Vorbild des Protohäm-Abbaus in der Resorcin-Schmelze und entfernt alle Seitenketten mit Lückenbindungen, zum Beispiel beim Protohäm die Vinyl-Gruppen (vgl. XVI).

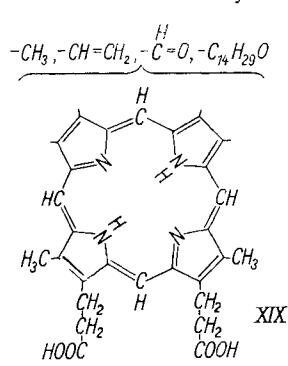
Das Deutero-porphyrin aus Cytohämin ist vom Deutero-porphyrin aus Protohämin verschieden, und zwar nach den Analysendaten um eine Methyl-Gruppe ärmer. Es wären demnach drei freie  $\beta$ -Stellungen vorhanden, was seine Erklärung damit findet, daß eine Formyl-Gruppe, ferner die zweite rhodofizierende Gruppe und schließlich die Vinyl-Gruppe, abgespalten worden sind<sup>17)</sup>). Der Kohlenstoff-reiche Rest fehlt. Vermutlich ist er ein Bestandteil der zweiten rhodofizierenden Gruppe, oder man nimmt an, daß an Stelle der Vinyl-Gruppe ein längerer Olefin-Rest mit kennständeriger Doppelbindung vorliegt, der bei der Deutero-Reaktion ebenfalls abgespalten werden müßte.

Das Konstitutions-Problem des Ferment-Hämins stellt also im wesentlichen die Frage nach der Art der zweiten rhodofizierenden Gruppe und nach der Stellung der Substituenten. Unter den natürlich vorkommenden Farbstoffen mit Vinyl- und Formyl-Substituenten kennt man das Spirographis-Häm in, die prosthetische Gruppe des Blutfarbstoffs von Borstenwürmern, und das Chlorophyll b (vgl. XVII und XVIII):



XVII

Wenn man phylogenetischen Überlegungen folgt, würde man daher für das Cytohämin den Vorzug einer Konsti-



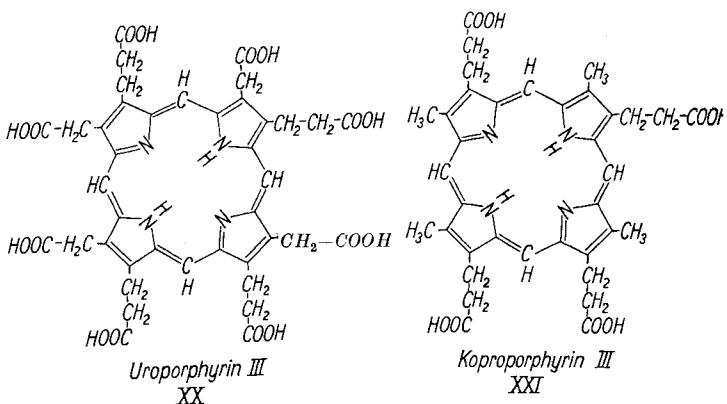
tutionsformel geben, in der die Formyl- und die Vinyl-Gruppe in entsprechender Stellung, nämlich in 2, 3 oder 4, ihren Platz haben. Die übrige Molekelpartie mit den Propionsäure-Resten sollte mit der des Protohämins übereinstimmen (vgl. XIX):

Berücksichtigt man aber die Regel, daß der Oxorhodo-Typ die Stellung der rhodofizierenden Gruppen in zwei ge-

genüberliegenden Kernen voraussetzt, dann könnten die beiden Propionsäure-tragenden Kerne nicht nebeneinander stehen wie im Protohämin. Es ist jedoch denkbar, daß die Regeln über die Spektral-Typen noch abgewandelt werden müssen. So kennen wir bis heute keinen Fall eines Absorptions-Typs für ein Porphyrin, in dem z. B. zwei rhodofizierende Gruppen in einem Kern stehen, was für den Fall des Cytohämins durchaus zu erwägen ist<sup>15b</sup>). Es ist also möglich, daß sich seine Konstitution doch dem gemeinsamen Bauplan einfügt. Jedenfalls ist die nächste Klärung in dieser Frage von einer Synthese des Cyto-deutero-hämmins mit Sicherheit zu erwarten, für die alle methodischen Voraussetzungen erfüllt sind.

## Über Uroporphyrin

Uroporphyrin ist das am längsten bekannte natürliche Porphyrin und wurde 1892 von *Hammarsten*<sup>18)</sup> kristallisiert gewonnen. Seine Bedeutung liegt in der kürzlich erkann-ten engen Beziehung zur Biosynthese des Hämins und Chlorophylls. Die formalen Zusammenhänge sollen Formeln XX bis XXII verdeutlichen.



Das achtfach carboxylierte Uroporphyrin lässt sich verhältnismäßig leicht zum Koproporphyrin decarboxylieren; im Protoporphyrin stehen an Stelle zweier Propionsäure-Reste des Koproporphyrins Vinyl-Gruppen.

Die Formelbilder geben die dem Isomerenstamm III zugehörigen Porphyrine wieder, in welcher Form das natürliche Hämin allein vorkommt. Uro- und Coproporphyrin treten außerdem noch natürlich als die Isomeren I mit

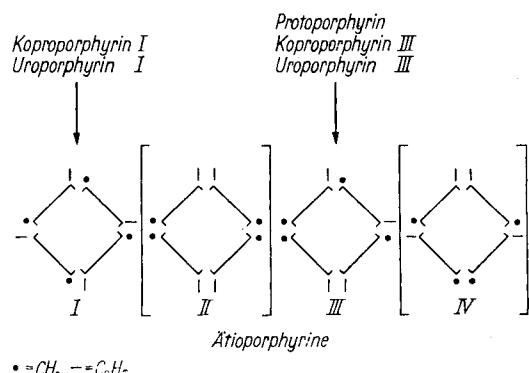
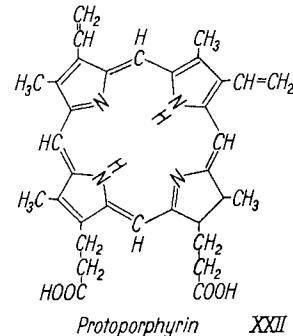


Bild 2

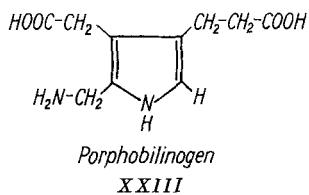
<sup>17)</sup> Auch die inzwischen beschriebene Bromierung des Cyto-Deutero-porphyrins, bei der 3 Brom-Atome eintreten, spricht für 3 freie  $\beta$ -Stellungen: *O. Warburg, H.-S. Gewitz u. W. Völker, Z. Naturforsch. 10b, 541 [1955]*; s. a. Fußnote 15b).

durchgehend alternierender Substituenten-Anordnung auf. Die Definitionen sollen kurz erläutert werden:

Denkt man sich die Isomeren, die sich durch wechselnde Reihenfolgen der Seitenketten ableiten lassen, unter völliger Decarboxylierung und Hydrierung der Seitenketten in die vier möglichen Ätioporphyrine mit je vier Methyl- und Äthyl-Seitenketten zurückgeführt, so gilt nach *Hans Fischer* das in Bild 2 gezeigte Schema.

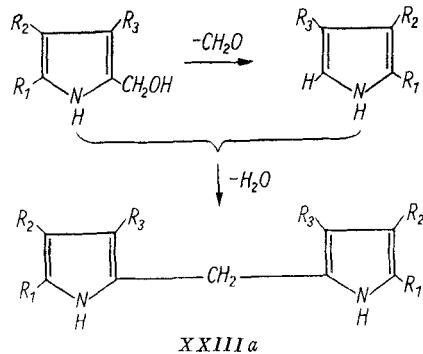
Demnach gehören die oben genannten Porphyrine zum Äti-isomerenstamm III. Eine symmetrische Bauart besitzen die in der Natur bis jetzt nicht beobachteten Isomerenarten II und IV.

Das Uroporphyrin entsteht bei der Biosynthese aus Porphobilinogen, aus dem es sich auch *in vitro* bilden kann. Für Porphobilinogen, das 1939 von *Waldenström*<sup>19)</sup> bei akuter Porphyrie im Harn aufgefunden und 1952 von *Westall*<sup>20)</sup> in kristallinem Zustand gewonnen wurde, haben *Cookson* und *Rimington*<sup>21)</sup> die Konstitution bewiesen (XXIII):



Wie entsteht nun aus diesem einfachen Pyrrol-Baustein das Porphyrin? Über den Reaktionsmechanismus ist die Erörterung, an der sich vor allem *Rimington*<sup>21)</sup>, *Treibs*<sup>22)</sup> und *Shemin*<sup>23)</sup> beteiligen, noch im Gang.

Ein wichtiger, lange bekannter Analogiefall ist das Verhalten der Pyrrol-carbinole (vgl. XXIIIa):



Solche Verbindungen spalten im sauren Medium leicht die Carbinol-Gruppe als Formaldehyd ab; die freie  $\alpha$ -Stellung reagiert dann mit einem Mol der unveränderten Verbindung zu einem Dipyrryl-methan. Ist nun  $R_1$  zum Beispiel ein Wasserstoff-Atom, oder ein anderer, leicht abspaltbarer Substituent, so ergibt sich

- 1.) die Möglichkeit zur Entstehung von isomeren Verbindungen, wenn die Carbinol-Gruppe an der Stelle von  $R_1$  eingreift,
- 2.) kann das System weiterreagieren unter Anknüpfung weiterer Pyrrol-Kerne, bis ein 4-kerniger Ring entsteht, der unter Dehydrierung das Porphin-System liefert. Diese Möglichkeit ist in der Porphyrin-Synthese von *Siedel* und *Winkler*<sup>24)</sup> aus  $\alpha$ -Carbinol- $\alpha'$ -carbon-säuren realisiert.

<sup>19)</sup> *J. Waldenström* u. *B. Vahlquist*, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 260, 184 [1939].

<sup>20)</sup> *R. G. Westall*, Nature [London] 170, 614 [1952].

<sup>21)</sup> *G. H. Cookson* u. *C. Rimington*, Nature [London] 170, 875 [1953]; Biochemic. J. 57, 476 [1954].

<sup>22)</sup> 3. Internat. Kongreß für Biochemie, Brüssel 1955.

<sup>23)</sup> *D. Shemin*, *Ch. S. Russell* u. *T. Abramsky*, J. biol. Chemistry 215, 613 [1955].

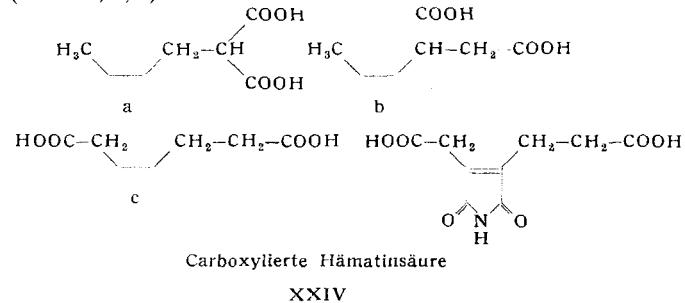
<sup>24)</sup> *W. Siedel* u. *F. W. Winkler*, Liebigs Ann. Chem. 554, 162 [1943].

Analoge Möglichkeiten treffen für das Porphobilinogen zu, denn ähnlich reaktionsfähig wie die Carbinol-Gruppe ist die Amin-methyl-Gruppe, übrigens sind es auch andere Reste, wie zum Beispiel Halogen-methyl und Alkoxy-methyl. Im Falle des Porphobilinogens wird neben Formaldehyd Ammoniak frei; tatsächlich wurde der Formaldehyd sowohl bei rein chemischer als auch bei enzymatischer Uroporphyrin-Bildung aus Porphobilinogen durch *Shemin*<sup>23)</sup> nachgewiesen.

Welche Porphyrin-Isomere bei der rein chemischen Synthese bevorzugt entstehen, hängt vom Verhältnis der Geschwindigkeiten für die Abspaltung der Amino-methyl-Gruppe und die einzelnen Schritte der Weiter-Reaktion ab; zweifellos spielen dabei die Reaktionsbedingungen eine Rolle. Trotzdem entsteht bei der Biosynthese des Hämins der Typus III in strenger Selektivität, die offenbar durch eine enzymatische Reaktionslenkung zustande kommt. Andererseits hat man unter pathologischen Verhältnissen, insbes. bei der kongenitalen Porphyrie, für die der 1925 verstorbene Patient *Petry*<sup>25)</sup> das klassische Beispiel war, eine umfangreiche Bildung von fast reinem Uroporphyrin I beobachtet.

Im Gegensatz zu diesen einheitlich ausgerichteten Synthesen werden bei der akuten Porphyrie in der Regel neben Porphobilinogen Uroporphyrin-Gemische, und zwar, soweit man sieht, von I und III isoliert, deren Kennzeichnung bis heute erhebliche Schwierigkeiten bereitet. Die intensive Bearbeitung der Isomerenfrage vor allem durch die Arbeitskreise von *Watson*<sup>26)</sup> und *Rimington*<sup>27)</sup> hat aber wichtige methodische Erkenntnisse gebracht. Es ließ sich kürzlich zeigen, daß sich Uroporphyrin-Isomergemische wie einheitliche chemische Individuen verhalten können und weder durch chromatographische Methoden zu trennen noch durch Schmelzpunkte zu charakterisieren sind. Nur der Abbau zu den entsprechenden Koproporphyrinen gibt mit einiger Sicherheit Aufschluß. Eine weitere Förderung des Isomeren-Problems, insbes. im Hinblick auf eine mögliche Beteiligung der Typen II und IV, war von der systematischen Totalsynthese der Uroporphyrine zu erwarten. Diese ist in letzter Zeit, nach langen Bemühungen, die schon auf *Hans Fischer* zurückgehen, durch Experimentalarbeiten von *MacDonald* und von *Treibs* gelungen.

Für die Aufstellung der Uroporphyrin-Formel durch *Hans Fischer* waren nachfolgende Überlegungen und experimentellen Ergebnisse maßgebend<sup>28)</sup>. Mit Rücksicht auf die Decarboxylierung des achtfach carboxylierten Uroporphyrins zum 4fach carboxylierten Koproporphyrin waren drei Möglichkeiten der Carboxyl-Stellungen zu erwägen (XXIVa, b, c):



<sup>25)</sup> *H. Fischer*, *H. Hilmer*, *F. Lindner* u. *B. Pützer*, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 150, 44 [1925].

<sup>26)</sup> *M. Grinstein*, *S. Schwartz* u. *C. J. Watson*, J. biol. Chemistry 157, 323 [1945]; *C. J. Watson*, *S. Schwartz* u. *O. Hawkinson*, ebenda 157, 345 [1945]; *C. J. Watson* u. *M. Berg*, ebenda 214, 537 [1955]; *C. J. Watson*, *M. Berg* u. *V. Hawkinson*, ebenda 214, 547 [1955].

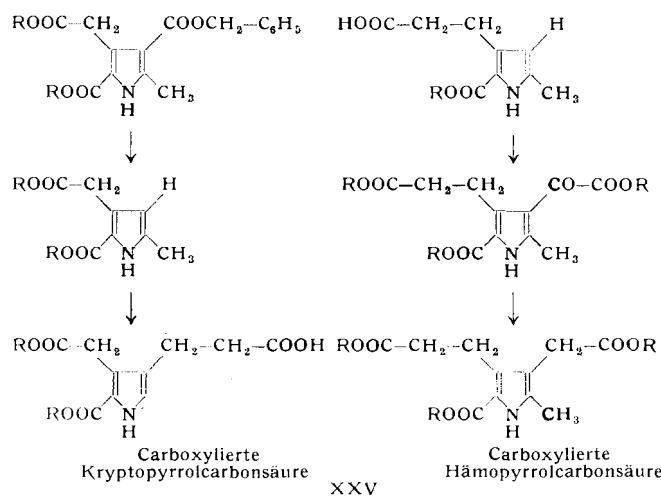
<sup>27)</sup> *R. E. H. Nicholas* u. *C. Rimington*, Biochemic. J. 55, 109 [1953]; *J. Canivet* u. *C. Rimington*, ebenda 55, 867 [1953].

<sup>28)</sup> Literatur bei *K. Zeile*, Pyrrofarbstoffe, Physiologische Chemie I, S. 897 (herausgeg. von *B. Flaschenträger* u. *E. Lehnartz*), Heidelberg 1951.

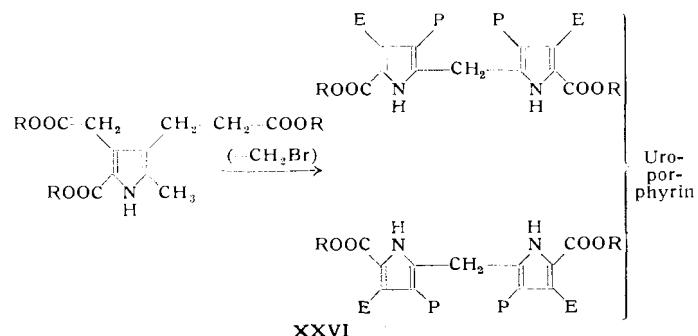
Beim oxydativen Abbau des Uroporphyrins wurde eine carboxylierte Hämatin-Säure erhalten, bei der eine der angegebenen Anordnungen vorliegen mußte. Eine synthetisch gewonnene, die die Bernsteinsäure-Gruppierung trägt, erwies sich von der aus dem natürlichen Porphyrin stammenden verschieden. Auch zeigten synthetisierte, achtfach carboxylierte Porphyrine der Typen a und b spektroskopische Abweichungen vom Uroporphyrin-Typ. Ein Tetraessigsäure-porphyrin war ähnlich leicht decarboxylierbar wie Uroporphyrin. Dieses Verhalten, zusammen mit den übrigen ausschließenden Befunden, forderte als wahrscheinlichste Formulierung diejenige nach XXIV c, vorausgesetzt, daß die Gruppierungen an allen vier Pyrrol-Kernen dieselben sind. Das war der Stand des Uroporphyrin-Problems, als die neuen synthetischen Arbeiten einsetzten.

Für eine eindeutige Synthese von Uroporphyrinen aus Dipyrrolyl-methan- bzw. Methen-Derivaten war die Zugänglichkeit gewisser carboxylierter Pyrrol-Derivate als Schlüssel-Substanzen notwendig. Mit ihnen sollten die Synthesen den analogen Verlauf nehmen wie die der entsprechenden Koproporphyrine.

MacDonald<sup>29,30)</sup> gelang die Synthese der genannten Carbonsäuren wie folgt nach (XXV).



Die erste Porphyrin-Synthese gelang entsprechend XXVI, wobei allerdings ein Isomerengemisch erhalten wurde<sup>31)</sup>.



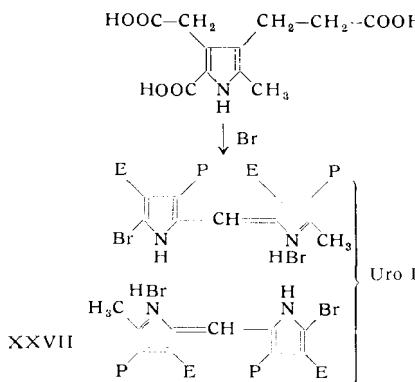
Es ließ sich zur carboxylierten Hämatin-Säure oxydieren, die sich mit der aus natürlichem Uroporphyrin I gewonnenen identisch erwies. Damit war diese Säure, wenn auch auf dem Umweg über das Porphyrin, erstmals synthetisch erhalten worden und in ihrer Struktur völlig gesichert. Später wurde auch aus dem Isomerengemisch reines Uroporphyrin II abgetrennt.

<sup>29)</sup> S. F. MacDonald, Chem. and Ind. 71, 759 [1951]; J. chem. Soc. [London] 1952, 4176.

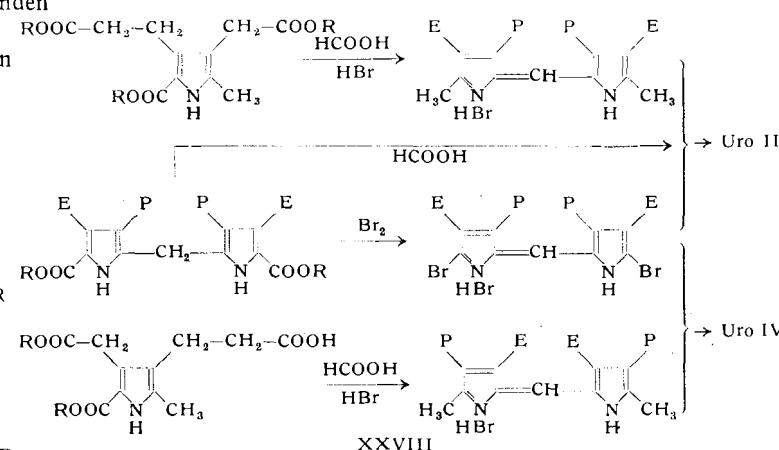
<sup>30)</sup> S. F. MacDonald u. R. J. Stedman, J. Amer. chem. Soc. 75, 5448 [1953]; Canad. J. Chem. 33, 458 [1955].

<sup>31)</sup> S. F. MacDonald, J. chem. Soc. [London] 1952, 4184.

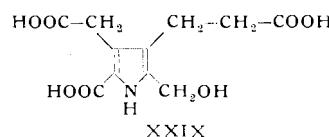
Im August 1953 berichteten MacDonald und Stedman<sup>32)</sup> über die Synthese des Uroporphyrin I nach XXVII.



Im Februar 1955, anlässlich des CIBA-Symposiums in London, wurde von MacDonald und Michl die Synthese von Uroporphyrin II und IV mitgeteilt (XXVIII).



Inzwischen, im Sommer 1953, hatten Treibs und Ott<sup>33)</sup> die Synthese des Uroporphyrins III veröffentlicht, die besonders interessiert, weil sie in Analogie zur Uroporphyrin-Bildung aus Porphobilinogen und damit letzten Endes zum biosynthetischen Aufbau des natürlichen Hämins abläuft. Unmittelbares Ausgangsprodukt für den Zusammenschluß zum Porphin-Ring ist ein Pyrrol-Derivat (XXIX), bzw. das entsprechende mit der Acetonitril-Gruppe:



Es ist in 12-stufiger Synthese zugänglich, bei der die Einführung der Essigsäure-Gruppierung in die freie  $\beta$ -Stellung auf dem Weg einer Mannich-Reaktion über die Piperidin-Verbindung und Austausch des Piperidin-Restes gegen den Nitril-Rest erfolgt. Die Ausbildung des Carbinol-Restes durch Oxydation einer Methyl-Gruppe mit Bleitetraacetat und die weitere Kondensation zum Porphyrin vollzieht sich nach der erwähnten Methode von Siedel und Winkler<sup>24)</sup>, die bei Verwendung entsprechender Carbinole zur Synthese von Ätio-, Kopro- und einigen anderen Alkylporphyrinen geführt hatte.

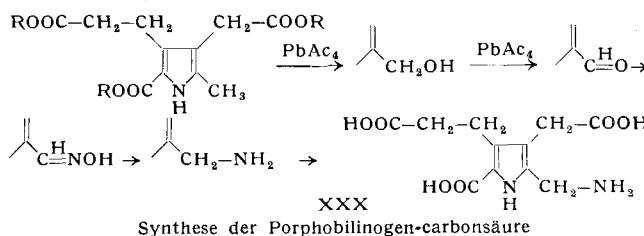
Siedel und Winkler hatten Gemische der Typen I und II erhalten, während bei der Uroporphyrin-Bildung aus Porphobilinogen die Typen I und III nebeneinander nachgewiesen wurden. Wenn nun tatsächlich bei der Synthese

<sup>32)</sup> S. F. MacDonald u. R. J. Stedman, J. Amer. chem. Soc. 75, 3040 [1953]; Canad. J. Chem. 32, 896 [1954].

<sup>33)</sup> A. Treibs u. W. Ott, Naturwissenschaften 40, 476 [1953].

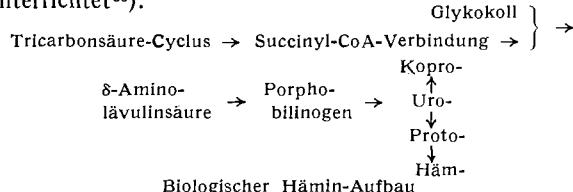
von Treibs und Ott Uroporphyrin III als Hauptprodukt entsteht, so hat sich hier das Schwergewicht des Problems von der Beweisführung für die Konstitution auf die Seite des Reaktionsmechanismus und der Kinetik der Isomerenbildung und -auswahl verlagert.

Prasad und Raper<sup>34)</sup> ist jüngst in Zusammenarbeit mit Rimington und Krol<sup>35)</sup> die chemische Synthese des Porphobilinogens gelungen und damit ist eine weitere Uroporphyrin-Synthese grundsätzlich vollzogen worden, da der Übergang Porphobilinogen → Uroporphyrin bereits bekannt ist. Allerdings waren die bisher synthetisch hergestellten Porphobilinogen-Mengen minimal und der Nachweis nur chromatographisch möglich. Die Synthese geht über die Porphobilinogen-carbonsäure (XXX).

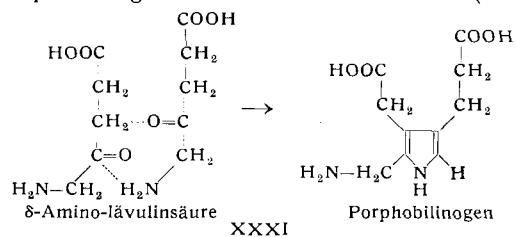


Rimington und Krol gelang durch kurzzeitiges Erhitzen der Porphobilinogen-carbonsäure in wäßrigem Pyridin bei Anwesenheit von Kupferacetat die praktisch quantitative Decarboxylierung. Die Identifizierung erfolgte chromatographisch, auch nach der Behandlung mit Essigsäure-anhydrid als Lactam und N-Acetyl-Verbindung des Porphobilinogens. Gleichzeitig wurde von den genannten Autoren ein Iso-porphobilinogen beschrieben, in welchem die Aminomethyl- und die Carboxyl-Gruppe vertauscht stehen; es entspricht völlig dem analogen Carbinol von Treibs und Ott.

Im Porphobilinogen kreuzen sich die Wege chemischer und biologischer Synthese von Porphyrinen. Freilich stehen der Natur elegantere Methoden zur Verfügung als dem Chemiker; dies wird besonders dadurch unterstrichen, daß es spielend leicht möglich ist, *in vitro* mit Suspensionen von Vogelblut-Erythrocyten praktisch die gesamte Hämin-Synthese aus kleinen Bausteinen, zum Beispiel Acetat und Glykokoll, ablaufen zu lassen. Wir sind heute über diese Stufen durch Isotopen-chemische Studien, an denen unter anderen besonders Shemin hervorragenden Anteil hat, gut unterrichtet<sup>36)</sup>.



Die gelungene Abgrenzung der einzelnen Reaktionsschritte legt das Studium ihres enzymatischen Ablaufs und die Isolierung der beteiligten Fermente nahe. Solche Untersuchungen sind auch von verschiedenen Seiten aufgegriffen worden, zunächst über die enzymatische Synthese des Porphobilinogens aus  $\delta$ -Amino-lävulinsäure (XXXI).



<sup>34)</sup> K. S. N. Prasad u. R. Rasper, Nature [London] 175, 629 [1955].  
<sup>35)</sup> C. Rimington u. S. Krol, ebenda 175, 630 [1955].  
<sup>36)</sup> Vgl. dazu K. Zeile, diese Ztschr. 66, 729 [1954].

Fast gleichzeitig haben Neuberger, Shemin und Granick mit ihren Mitarbeitern die Gewinnung von Ferment-Präparaten, die diese Reaktion katalysieren, beschrieben. Als Ausgangsmaterial dienten Aceton-getrocknete Rinderleber oder Enten- bzw. Kükenblut-Erythrocyten. Auch verschiedene Kaninchenorgane, Bakterien, farblose Extrakte aus Grünalgen und Spinat führen das Ferment. Es wird eine 150fache Anreicherung beschrieben; damit ließ sich das Porphobilinogen in einer fast 40proz. Ausbeute in kristallisiertem Zustand aus der  $\delta$ -Amino-lävulinsäure gewinnen<sup>37)</sup>. Schmid und Shemin<sup>38)</sup> haben mit ihrem aus Entenblut stammenden Hämoglobin-freien Ferment-Präparat radioaktiv markiertes Porphobilinogen synthetisiert. Die gesamte 2 Mol entsprechende Aktivität der  $\delta$ -Amino-lävulinsäure mit einer  $^{14}\text{C}$ -Markierung in der Amino-methyl-Gruppe wurde im Porphobilinogen wiedergefunden. Entsprechend der Annahme, daß Porphobilinogen eine Zwischenstufe bei der Porphyrin-Synthese ist, wurde auch das aus dem radioaktiven Porphobilinogen biosynthetisch gewonnene Hämin stark radioaktiv gefunden.

Der Reaktionsmechanismus, der zwei Kondensationsreaktionen zwischen den beiden Amino-lävulinsäure-Molekülen vorsieht, wurde von Granick<sup>39)</sup> mit dem Ergebnis überprüft, daß eine Reaktion erster Ordnung, wahrscheinlich die Aldol-Kondensation, Geschwindigkeits-bestimmend ist, während möglicherweise die andere zwischen Amino- und Carboxyl-Gruppe spontan abläuft.

Der nächste Schritt vom Porphobilinogen zum Uroporphyrin ist durch eine Porphobilinogen-desaminase katalysierbar, die nach den Untersuchungen von Bogorad<sup>40)</sup> im Laboratorium von Granick in wäßrigen Spinat-Extrakten enthalten ist. Je nach der Vorbehandlung der Präparate ist unter Ammoniak-Abspaltung Uroporphyrin oder eine farblose Vorstufe zu erhalten. Präparate aus *Chlorella* können an dieser Vorstufe eine verschieden weitgehende Decarboxylierung katalysieren. Hier, in der fermentativen Synthese des Uroporphyrins oder seiner Vorstufe muß die entscheidende Auswahl des Isomeren-Typs vorgesehen sein; gleichzeitig beginnen sich mit der Decarboxylierungs-Reaktion die Möglichkeiten abzuzeichnen, in den Mechanismus der Umformung des Uroporphyrin-Typs auf dem Weg zur Hämin-Synthese einzudringen.

Man kann die Betrachtungen über die biologische Bildung des Uroporphyrins nicht schließen, ohne noch ein anderes Ringgebilde zu erwähnen, dessen Aufklärung durch die hervorragende Zusammenarbeit von Physikern und Chemikern in Veröffentlichungen der letzten Zeit Aufsehen erregt hat: das des Vitamin B<sub>12</sub>. Nach der Röntgen-Strukturanalyse, bei der eine englische Forschergruppe und eine amerikanische Forschergruppe mitgewirkt haben<sup>41)</sup> und den chemischen Arbeiten von Todd und Mitarbeitern<sup>42)</sup>, hat der farbtragende Anteil des Vitamins nach Abspaltung des Nucleotid-Restes folgende Konstitution (XXXII).

Die Beziehungen zum Porphin-System sind unverkennbar. Zwar fehlt eine Methin-Brücke, ferner ist das System weitgehend hydriert und methyliert, aber wir finden dieselben Gruppierungen wie beim Uroporphyrin an den entsprechenden Stellen, nämlich die Essigsäure- und Propionsäure-Reste. Sogar die Stellung dieser Reste nach dem Porphin-Typ III ist eingehalten. Bereits Todd deutet die

<sup>37)</sup> K. D. Gibson, A. Neuberger u. J. J. Scott, Biochem. J. 61, 618 [1955].

<sup>38)</sup> R. Schmid u. D. Shemin, J. Amer. chem. Soc. 77, 506 [1955].

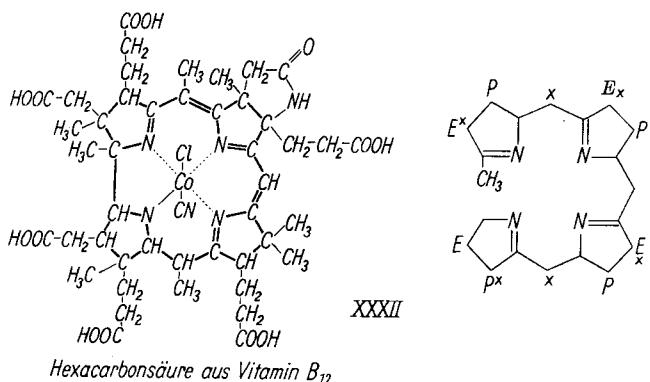
<sup>39)</sup> S. Granick, Science [Washington] 120, 1105 [1954].

<sup>40)</sup> L. Bogorad, ebenda 121, 878 [1955].

<sup>41)</sup> D. Crowfoot Hodgkin, J. Pickworth u. J. H. Robertson; K. N. Trueblood u. R. J. Prosen, Nature [London] 176, 325 [1955].

<sup>42)</sup> R. Bonnett, J. R. Cannon, A. W. Johnson, I. Sutherland u. A. R. Todd, ebenda 176, 328 [1955].

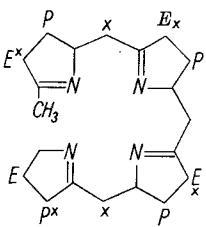
Bildung des Ringes analog der Uroporphyrin-Synthese aus Porphobilinogen; auch dürften bei der angegebenen Lage der Doppelbindungen in XXXIII (Schemaformel) die markierten Stellen der Kohlenstoff-Methylierung zugänglich sein; sie stimmen mit den tatsächlich Methyl-tragenden überein. Jedenfalls kann man mit Spannung der vergleichenden Aufklärung der Biosynthese des Vitamin B<sub>12</sub> entgegensehen.



Man sieht, die Porphin-Chemie hat seit der Ära *Hans Fischer* nicht an Aktualität verloren. Im Gegenteil, mit ihrer Ausweitung in die Biochemie und ihrer Berührung mit ganz anderen Bereichen ist sie erstaunlich vielseitig geworden und bringt eine Fülle von immer neuen und fruchtbaren Fragestellungen. Es ist tragisch, daß *Hans Fischer* an dieser Entwicklung nicht mehr teilhaben konnte.

Doch wird heute seine Tradition nicht nur in München, sondern in erweitertem Sinn und verschiedenenorts unter Aufwand erheblicher Mittel für die besonderen Zwecke der Erforschung der Porphinfarbstoffe in mehreren über die ganze Erde verstreuten Forschungsstätten weitergeführt.

Eingegangen am 18. Oktober 1955 [A 692]



### Analytisch-technische Untersuchungen

## Verwitterung von Bronzen im Sandboden

### Ein Beitrag zur Korrosionsforschung

Von Prof. Dr. W. GEILMANN

Institut für analytische Chemie der Universität Mainz

Der Ablauf der Zersetzung von Bronzen im humosen Sandboden wurde durch die Analyse einer größeren Zahl vorgeschichtlicher Bronzen verfolgt. Das Endprodukt ihrer Verwitterung ist eine mehr oder weniger reine Zinnsäure. Während Kupfer, Blei, Zink und Nickel nahezu völlig fortgelöst und im Boden festgelegt werden, kann aus der Bodenlösung Eisen, Aluminium, Phosphat und Humus in die hinterbleibende Zinnsäure einwandern. Für die Schnelligkeit der Bronzezersetzung scheint in erster Linie der Gehalt an CO<sub>2</sub> und O<sub>2</sub> in dem im Boden zirkulierenden Wasser verantwortlich zu sein. Der unterschiedliche Erhaltungszustand gleichaltriger, in verschiedenen Böden lagernder Bronzen ist im wesentlichen bedingt durch die verschiedene Zusammensetzung der Bodenlösungen.

Vor- und frühgeschichtliche Bronzen bilden ein wertvolles Material für die Korrosionsforschung, denn ihre Untersuchung und die ihrer Verwitterungsprodukte erlaubt Aussagen über den Verlauf des Zersetzungsvorganges unter natürlichen Bedingungen in Zeiträumen, die experimentell nicht zur Verfügung stehen.

Die Korrosion der im Boden lagernden Bronzen ist in erster Linie durch Sauerstoff, Kohlendioxid und Wasser bedingt, während den im Boden zirkulierenden Salzlösungen normalerweise ein wesentlich geringerer Einfluß zu kommen dürfte. Daher darf es nicht überraschen, daß sie in den durchlässigen humosen Sandböden, die sich außerdem durch eine lebhafte Kohlendioxyproduktion auszeichnen, wesentlich schneller und weitgehender verläuft, als etwa in den schwerer durchlässigen Lehm- oder Tonböden.

Bronzen, die nach mehr als einem Jahrtausend aus Lehm- bzw. Tonböden oder stärker kalkhaltigen Böden geborgen sind, zeigen meistens nur einen mehr oder weniger kräftigen Patina-Überzug, unter dem das Metall nahezu unverändert erhalten ist. Fundstücke aus Sandböden dagegen sind nicht nur stärker patiniert, sondern häufiger auch soweit zersetzt, daß nur eine, durch geringe Kupfermengen verfärbte Zinnsäure hinterblieben ist, die aber die ursprüngliche Form der Bronze oft so vollständig beibehalten hat, daß man sprechen kann von „wahren Pseudomorphosen von einer Zinnsäure, nach Formen, die der Mensch einem anderen Material, nämlich Bronze, gegeben hatte“<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> O. v. Olshausen, Verh. Berliner Ges. Antropologie, Etnographie u. Urgeschichte, 1883, 88 und 467; 1884, 524; 1897, 344 und 352.

Daß es sich bei diesen, in den Sammlungen oft als „Fundstücke aus Knochen oder Pfeifenton“ bezeichneten Gegenständen in Wirklichkeit um den Verwitterungsrückstand von Bronzen handelte, erkannte bereits in den 80er Jahren des vorigen Jahrhunderts v. Olshausen<sup>1)</sup> auf Grund seiner chemischen Untersuchungen. Auch in der späteren Literatur<sup>2)</sup> finden sich gelegentlich Hinweise auf das Vorkommen solcher in Zinnsäure umgewandelter Bronzen und ihrer Analysen, in denen freilich nur die Hauptbestandteile berücksichtigt sind.

Durch das Entgegenkommen einer Reihe von Museen<sup>3)</sup> wurde es möglich, ein ausreichendes Untersuchungsmaterial zu erhalten, sodaß nicht nur die genaue Zusammensetzung ermittelt, sondern auch am gleichen Fundstück der Fortschritt der Zersetzung vom Metall bis zur reinen Zinnsäure analytisch verfolgt werden konnte.

### A. Untersuchung völlig umgewandelter Bronzen

<sup>1)</sup> Absatzbeil von Bookholt<sup>4)</sup>: Ein nordisches Absatzbeil aus der Zeit von 1400–1300 v. Chr., das sehr stark patiniert und an der Schneide in Zinnsäure übergegangen ist. Untersucht wurde ein Bruchstück der Schneide, das mitten fast rein weiß ist, nach dem Rande zu bräunliche Flecke und Bänder mit zonarer

<sup>2)</sup> G. A. Rosenberg: Antiquités en fer et en bronze, leur transformation dans la terre contenant de l'acide carbonique et des chlorures et leur conservation. Kopenhagen 1917. F. Rathgen: Die Konservierung v. Altertumsfunden. II. und III. Teil, Metalle u. Metalllegierungen. Handb. d. Staatl. Museen Berlin, Walter de Gruyter, Berlin 1924.

<sup>3)</sup> Für die Überlassung des Materials sei allen beteiligten Museen, vor allem dem niedersächsischen Landesmuseum, besonders gedankt.

<sup>4)</sup> O. Unze, Neue Grabungen in d. Grafschaft Bentheim, Kunde 4, 164 [1936].