

Ueber Darstellung und Spaltungsprodukte des Hämatoporphyrins.

Von

William Küster und Martin Kölle.

Die Untersuchung wurde im physiologisch-chemischen Institut zu Tübingen mit Unterstützung aus dem Elizabeth Thompson Science Fund ausgeführt.)

(Der Redaction zugegangen am 21. Juni 1899.)

Das Hämatoporphyrin Nencki's $C_{16}H_{18}N_2O_3$ gibt bei der Oxydation durch Natriumdichromat, wenn man dieses in einer Menge, die zwölf resp. acht Atomen Sauerstoff entspricht, verwendet, die gleichen ätherlöslichen Spaltungsprodukte wie das Hämatin. Der eine von uns erhielt¹⁾ einstens die zweibasische Hämatinsäure $C_8H_9NO_4$ daraus in sehr reiner Form: der Körper $C_8H_9O_3$ hatte sich nur in Spuren gebildet.

Das Hämatoporphyrin entsteht bekanntlich²⁾ durch Einwirkung von mit Bromwasserstoff gesättigtem Eisessig auf Hämin. Es wurde nun neuerdings versucht, diese Methode zu modificiren, indem das gleiche Mittel zu einer Lösung von Hämatinschlamm in Eisessig gefügt und die Reaction zum Schluss durch Erwärmen auf dem Wasserbade zu fördern gesucht wurde. Die charakteristische Farbe einer sauren Hämatoporphyrinlösung trat aber nicht auf, gleichwohl war fast das gesammte Eisen herausgenommen worden. Denn als nach dem Verjagen des Bromwasserstoffs der Eisessig durch Erhitzen auf dem Wasserbad völlig entfernt worden

1) Ber. d. d. chem. Ges. 30. 105. 32. 678.

2) Archiv f. exp. Pathologie u. Pharmakologie. 24. 430.

war, blieb ein Rückstand, welchem Wasser Eisenbromid entzog. Der nunmehr gut ausgewaschene Körper löste sich langsam in verdünntem Alkali und wurde aus dieser Lösung durch wenig Schwefelsäure in braunrothen Flocken gefällt.

Die Analyse ergab noch einen Aschengehalt, darunter aber nur Spuren von Eisen.¹⁾

Bei der Darstellung aus 30 g Hämin vom Rind nach Schallejew resp. 80 g Hämin nach Nencki wurden neuerdings 25 g rohes Hämatoporphyrin und 2,9 g Nebenprodukt resp. 60 und 10 g erhalten.

Die Oxydation wurde so durchgeführt, wie beim Hämatin angegeben ist.²⁾ Bei Verwendung von zwölf Atomen Sauerstoff gaben 5 g Hämatoporphyrin 0,1496 g $\text{CO}_2 = 0,0408$ g C, d. h. etwa $\frac{1}{80}$ vom vorhandenen Kohlenstoff, weiter 0,3 g $\text{NH}_4\text{Cl} = 0,0785$ g N oder $\frac{1}{6}$ vom Stickstoff.

Aus 20 g rohen Hämatoporphyrins wurden endlich 5,8 g ätherlösliche Produkte erhalten, welche bei der Reinigung 2 g $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_5$ und 2 g $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_4$ vom Schmelzpunkt 112—113° gaben.

1. 0,1620 g dieser letzteren Säure gaben 0,3120 g CO_2 und 0,0773 g H_2O .

Aus 55 g des rohen Hämatoporphyrins, das in Portionen von 5 g mit einer Menge Natriumdichromat oxydirt wurde, die acht Atomen Sauerstoff entsprach, wurde eine Ausbeute von 25,5 g, also nahezu 50%, an Rohsäure gewonnen. Nur ganz geringe Mengen $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_5$ waren dabei. Das Gewicht der mehrfach gereinigten Säure betrug 18 g.

Sie lieferte ein wasserlösliches Calciumsalz, das zunächst im nicht evacuirtten Exsiccator über Schwefelsäure bis zum constanten Gewichte getrocknet wurde. Im Vacuum findet dann kein Wasserverlust statt, wohl aber bei 110°, wie aus folgenden Analysen ersichtlich ist.

0,4920 g Substanz verloren bei vorsichtigem Trocknen bei 110° 0,0120 g Wasser und lieferten 0,0655 g $\text{CaO} = 0,0468$ g Ca...

1) Ich gedenke diese Reaction weiter zu verfolgen, W. Küster.

2) Siehe vorstehende Mittheilung.

Berechnet für $(C_5H_8NO_4)_2Ca + \frac{1}{2}H_2O$:	Gefunden:
$H_2O = 2.23\%$	2.44%
$Ca = 9.90\%$	9.75%

Die regenerirte Säure zeigte bei langsamen Erhitzen den Schmelzpunkt $114-116^\circ$ und gab bei der Analyse folgende Werthe:

2. 0.2250 g lieferten 0.430 g CO_2 und 0.1025 g H_2O .
3. 0.2465 g gaben 16 cem. Stickstoff bei 10° und 734 mm. B.

Berechnet für $C_5H_8NO_4$:	Gefunden:		
	I.	II.	III.
C = 52.45%	52.52%	52.12%	—
H = 4.92%	5.30%	5.06%	—
N = 7.65%	—	—	7.59%

Zur Titration wurden 0.444 g der Säure in 10 cem. 50% igen Alkohols gelöst; sie verbrauchten 23.9 cem. $\frac{1}{10}$ N-Ammoniak, während sich 24.5 cem. für eine einbasische Substanz $C_5H_8NO_4$ (Mg 183) berechnen.

Was die Löslichkeit der Säure betrifft, so ergab eine Bestimmung, dass 0.8 Theile derselben sich in 12.8 Theilen reinen Aethers lösen, oder 1 Theil braucht 16 Theile Aether zur Lösung.

Das Ammoniumsalz der Säure fällt als eine hygroskopische, klebende Masse aus, wenn man trockenes Ammoniak in die ätherische Lösung der Säure leitet; sie wird mit wasserfreiem Aether nachgewaschen und im Vacuum unter Schwefelsäure scharf getrocknet. Aus wässriger Lösung krystallisirt das Salz in baumartigen Formen aus.

Bei mehrstündigem Kochen mit Natronlauge verliert dieses Salz 2 Atome Stickstoff.

1. 0.2190 g wurden mit 50 cem. $\frac{1}{10}$ N-Natronlauge $3\frac{1}{2}$ Stunden gekocht, das Destillat in 40 cem. $\frac{1}{10}$ N-Schwefelsäure aufgefangen; zum Zurücktitriren waren 18.8 cem. $\frac{1}{10}$ N-Natronlauge erforderlich, entsprechend 0.02968 g Stickstoff. (Indicator Helianthin.)

2. 0.2545 g wurden mit 50 cem. $\frac{1}{10}$ N-Natronlauge vier Stunden gekocht; 33 cem. $\frac{1}{10}$ N-Schwefelsäure waren vorgelegt, 8.2 cem. $\frac{1}{10}$ N-Natronlauge zum Zurücktitriren erforderlich, also waren 24.8 cem. $\frac{1}{10}$ N-Schwefelsäure verbraucht, entsprechend 0.03472 g Stickstoff.

1. Die beiden Werthe sind auf das wasserfreie Salz berechnet, da verschiedene Präparate Differenzen im Wassergehalt zeigten.
cf. die Bemerkung auf Seite 28.

Berechnet für:
 $C_8H_9NO_4NH_3$
 N = 14,00 %

Gefunden:
 I. II.
 13,55 % 13,65 %

Die im Kölbchen zurückgebliebene Substanz erwies sich annähernd als dreibasisch:

Bei 1. waren 18,3 ccm. $\frac{1}{10}$ N-Schwefelsäure zum Zurücktitriren nötig, bei 2. 13,8 ccm.

Berechnet für dreibasische Substanz:	Gefunden:
1. 35,9 ccm. $\frac{1}{10}$ N-Natronlauge.	31,7 ccm.
2. 41,6 „ „ „ „	36,2

Nach dem Ansäuern durch Schwefelsäure wurde jetzt die entstandene Säure ausgeäthert, der Aetherrückstand in Wasser gelöst, mit Calciumcarbonat behandelt und filtrirt. Das Filtrat gab beim Erwärmen sofort den charakteristischen Ausfall des Kalksalzes von $C_8H_8O_5$.

Wie zu erwarten, war also auch hier der Uebergang von $C_8H_9NO_4$ in $C_8H_8O_5$ durch das Kochen mit Natronlauge bewerkstelligt werden.

Von anderweitigen Spaltungsprodukten entsteht in namhaften Mengen nur noch ein Körper, und zwar bleibt er nach dem Abdestilliren des Eisessigs, der als Lösungsmittel während der Oxydation diente, als in Wasser unlöslicher, brauner Schlamm zurück. Er wurde in Natronlauge aufgenommen und wieder durch verdünnte Schwefelsäure gefällt, wobei er sich gerade wie das Hämatin in sehr voluminöser Form abscheidet. Auch löst er sich in diesem Zustand etwas in der salzhaltigen Flüssigkeit auf und wurde deshalb nach dem Trocknen wieder auf's Filter gebracht und erst jetzt durch Auswaschen völlig von der Schwefelsäure befreit.

Bei Verwendung von zwölf Atomen Sauerstoff wurde ein Körper erhalten, der bei 115° getrocknet und analysirt folgende Zahlen ergab:

1. 0,2250 g Substanz lieferten 0,3777 g CO_2 , 0,0987 g Wasser und 0,0087 g Asche.

2. 0,1558 g Substanz gaben 11,2 ccm. Stickstoff bei 8° und 728 mm. B.

Der bei der Oxydation mit acht Atomen Sauerstoff erhaltene Körper zeigte sich ebenfalls als brauner Schlamm und

nach dem Trocknen als spröde, glänzend schwarze Masse, gab aber bei der Analyse andere Werthe:

3. 0.2248 gr. Substanz lieferten 0.4794 g CO_2 , 0.1020 g H_2O und 0.0070 g Asche.

4. 0.2530 g Substanz gaben 22 ccm. Stickstoff bei 13° und 740 mm. B.

Gefunden:

	I.	II.	III.	IV.
C =	49.81%	—	58.16%	—
H =	4.87%	—	5.04%	—
N =	—	8.31%	—	10.15%

Merkwürdigerweise ist aber das Verhältniß der Atome C, H und N bei beiden Präparaten fast das gleiche, nur enthält das erste bedeutend mehr Sauerstoff. Die Körper lassen sich nämlich etwa durch die Formeln $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8$ und $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_6$ ausdrücken.

In der Asche war natürlich Eisen nicht nachzuweisen. Beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure erleidet dieser Körper scheinbar keine Veränderung, bei der Oxydation mit Kaliumpermanganat entstehen geringe Mengen flüchtiger, sowie auch ätherlöslicher Säuren. Es war aber nicht möglich, unter letzteren die Säure $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_5$ aufzufinden.

Der schon erwähnte, bei der Darstellung des Hämatoporphyrins entstehende, oben als

Nebenprodukt

bezeichnete Körper fällt aus, wenn die filtrirte essigsäure Lösung des Hämatoporphyrins in viel Wasser gegossen wird. Es gelang, dasselbe von anhängendem Hämatoporphyrin zu befreien. Zunächst wird in Natronlauge gelöst und mit verdünnter Salzsäure gefällt, dann der Niederschlag so lange mit einprozentiger Salzsäure gewaschen, bis das Waschwasser nicht mehr roth gefärbt war. Es dauert dies wochenlang und wird am besten durch Aufgiessen von vielen Litern und öfteres Decantiren bewirkt. Zum Schluss wird chlorfrei gewaschen, auf dem Filter gesammelt und zuerst im Vacuum, dann bei 110° getrocknet. In diesem Zustand stellt das Nebenprodukt eine dunkel-purpurn glänzende Masse dar.

Seine Analyse gab folgende Werthe:

1. 0.2216 g Substanz lieferten 0.5645 g CO_2 und 0.1245 g H_2O . Die Asche betrug noch 0.003 = 1.35 %.

2. 0.1820 g Substanz lieferten 0.4560 g CO_2 und 0.1027 g H_2O . Die Asche betrug 0.002 g = 1.09 %.

1. 0.1935 g Substanz gaben 17 ccm Stickstoff bei 6° und 740 mm. B.

2. 0.260 g Substanz lieferten 22.8 ccm Stickstoff bei 7° und 738 mm. B.

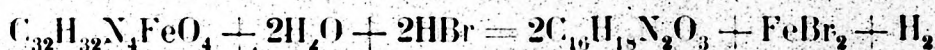
Nach diesen Analysen zu urtheilen, wäre es nicht unmöglich, dass sich ein Körper von der Zusammensetzung $\text{C}_{32}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_5$ gebildet hat, der aber noch nicht vollständig gereinigt werden konnte.

Berechnet für: $\text{C}_{32}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_5$:

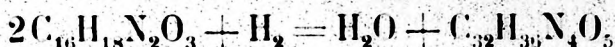
(Gefunden: 1)

	I.	II.
C = 69.06 %	70.42 %	69.09 %
H = 6.47 %	6.32 %	6.34 %
N = 10.07 %	10.67 %	10.54 %

Sollten weitere Untersuchungen diese Annahme bestätigen, so wäre der Schluss gestattet, dass der nach der Gleichung



frei werdende Wasserstoff einen Theil des gebildeten Hämatoporphyrins im Sinne folgender Gleichung



umwandelt.

Tübingen, am 20. Juni 1899.

1) Auf aschefreie Substanz berechnet.