

Beiträge zur Kenntnis des Hämatins.

Von

William Küster.

III. Mitteilung über den Chemismus der Hämatoporphyrinbildung nach Versuchen.

Von

Paul Deihle.

(Der Redaktion zugegangen am 2. Juni 1913.)

Nachdem der Chemismus der Hämatoporphyrinbildung in meiner ersten und zweiten Mitteilung¹⁾ dahin geklärt worden war, daß die Herausnahme des Eisens durch die aus Hämin Hämatoporphyrin erzeugenden Säuren (HCl, HBr, H₂SO₄) insofern eine wichtige Rolle spielt, als das in der Form von Ferrichlorid resp. -sulfat abgespaltene Eisen eine Oxydation des organischen Restes bewirken kann und dadurch die Ausbeute und Reinheit des letzteren herabsetzt,²⁾ während Ferribromid bei Gegenwart von Bromwasserstoff nicht oxydierend wirkt, nachdem erkannt worden war, daß Schwefelsäure auf das gebildete Hämatoporphyrin Wasser abspaltend wirkt und sich auch aus diesem Grunde zur Darstellung des Farbstoffes nicht eignet, nachdem endlich eine erste experimentelle Stütze für die Ansicht gefunden worden war, daß bei der Bildung des Hämatoporphyrins zunächst eine Anlagerung von Bromwasserstoff, dann ein Ersatz von zwei Bromatomen durch zwei Hydroxyle erfolgt und zwar dadurch, daß in einem Nebenprodukt der Hämatoporphyrindar-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 66, S. 173 (1910). — Ber. d. Deutschen chem. Ges., Bd. 45, S. 1935 (1912).

²⁾ H. Fischer hat Hämatoporphyrin aus Hämin mit Hilfe von Eisessig-Chlorwasserstoff dargestellt; er erhielt 0,35 g krystallisiertes salzsaures Hp. aus 2,5 g Hämin. Diese Zeitschrift, Bd. 84, S. 281.

stellung ein Bromgehalt festgestellt wurde, und nachdem sich endlich gezeigt hatte, daß dieser Bromgehalt durch die Einwirkung von Alkohol herabgesetzt wurde, was nicht anders gedeutet werden konnte als durch einen Ersatz des Broms durch Äthoxyl, beschloß ich die Untersuchung von Alkylderivaten des Hämatoporphyrins aufzunehmen, die Nencki begonnen hatte. Im Verlauf dieser Arbeit, die ich gemeinsam mit Herrn P. Deihle ausführte, fand letzterer den Grund für die sich widersprechenden Angaben auf, wonach das Eisen sich einmal nach der Abspaltung als Ferro- und als Ferriion, das andere Mal nur als Ferriion vorfand, und zwar in dem Alter der verwendeten Häminpräparate. Frisch hergestelltes Hämin ergab in fast theoretischer Ausbeute Hämatoporphyrin, das abgespaltene Eisen war nur als Ferriion nachweisbar, ältere Häminpräparate lieferten viel des sogenannten Nebenproduktes, das Eisen fand sich sowohl als Ferro- wie als Ferriion vor.¹⁾ Dieser Befund zeigt auch, daß die Veränderung, welche das Hämin bei der Aufbewahrung erleidet, an derselben Stelle erfolgt, die bei der Bildung des Hämatoporphyrins eine Rolle spielt.

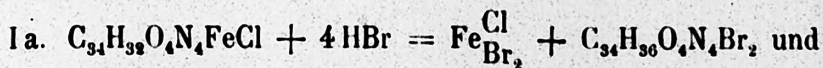
Nach meiner Auffassung sind es die Vinyle²⁾ des Hämins, die einerseits die Möglichkeit einer Polymerisation der Häminmoleküle bedingen und an denen andererseits die Anlagerung des Bromwasserstoffs erfolgt.³⁾

¹⁾ Die Unterschiede in den Ausbeuten sind ganz erheblich, so löste sich ein frisch hergestelltes Dimethylhämin in Eisessig-Bromwasserstoff vollständig auf, aus 5 g wurden 4,25 g Hämatoporphyrin, also unter Verseifung, erhalten. Von einem zwei Jahre alten Präparat von Dimethylhämin wurde dagegen nur ein Drittel gelöst, die Menge des Nebenproduktes war bedeutend, die Ausbeute an Hämatoporphyrin minimal. Die nicht gelösten Anteile erwiesen sich als löslich in Sodalösung bei Zimmertemperatur; es war also auch hier Verseifung eingetreten.

²⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. 45, S. 1937.

³⁾ H. Fischer (Diese Zeitschrift, Bd. 84, S. 267) glaubt, daß die Anlagerung an eine Doppelbindung erfolge, die zwischen einem Methin und einem Pyrrolkomplex vorhanden ist. Diese Ansicht ist im Hinblick auf die Leichtersetzbarkeit des Broms und auf die Analogie mit den Triphenylmethanfarbstoffen sehr einleuchtend, und ich hatte diese Möglichkeit denn auch erwogen. Wegen der Ähnlichkeit von Hämatoporphyrin und Mesoporphyrin hatte ich aber angenommen, daß die Addition von

Die vorliegende Untersuchung sollte denn auch darüber Aufklärung bringen, ob die erwähnte Auffassung richtig sei, wonach der Chemismus der Hämatoporphyrinbildung durch die Gleichungen



wiedergegeben wird, oder ob die von Piloty¹⁾ vertretene Ansicht berechtigt sein könne, wonach sich bei der Bildung des Hämatoporphyrins Lactambindungen lösen sollen, die im Hämin angenommen werden. Da nun letzteres bereits sehr leicht zwei Methylene aufnimmt, mußte das Hämatoporphyrin sich sehr leicht vierfach methylieren lassen, wofür in der Tat eine Angabe Nenckis²⁾ sprach, der ein amorphes Produkt mit annähernd zwei

HBr resp. H₂ (durch HJ) an derselben Stelle des Moleküls erfolge, und in diesem Falle müßte der Unterschied in den empirischen Formeln des Meso- und des Hämatoporphyrins sich nicht nur auf zwei Sauerstoffatome erstrecken, die ersteres weniger enthält, sondern auf vier Wasserstoffatome, die ersteres mehr enthalten müßte. Es ist nun gerade in dieser Hinsicht bemerkenswert, daß unsere Analysen für das Hämatoporphyrin und seine Derivate fast durchweg für eine Formel C₃₄H₃₆O₆N₄ sprechen, die also zwei Wasserstoffatome weniger enthält als die bisher gebräuchliche. Danach würde das Mesoporphyrin C₃₄H₃₈O₄N₄ in der Tat Wasserstoff, wenn auch nur zwei Atome, mehr enthalten als das Hämatoporphyrin, und bei der Bildung des letzteren wäre eine «Oxydation» anzunehmen, wie es H. Fischer entgegen den bisherigen Vorstellungen in dem Schema auf Seite 264 tut. Sollte es sich herausstellen, daß die Vinylyle des Hämins im Hämatoporphyrin noch erhalten, während sie im Mesoporphyrin in Äthyle übergegangen sind, so wäre die Auffassung H. Fischers als richtig erwiesen. Übrigens lassen sich durch das von mir entworfene Bild des Hämins diese Verhältnisse leicht überblicken, und ich möchte bemerken, daß die in demselben vorhandenen Methine doch nicht so ganz aus der Luft gegriffen sind, wie H. Fischer meint. Ihr Dasein ist abgeleitet aus experimentellen Befunden, wonach bei der Reduktion des Hämins α-methylierte Pyrrole und Pyrrolcarbonsäuren sich bilden, während bei der Oxydation Produkte entstehen, denen die α-ständigen Methylene fehlen. Außerdem berechtigte die Analogie mit anderen Farbstoffen, in denen Methine nachgewiesen sind, zur Aufnahme derselben in das Bild des in Frage kommenden Körpers.

¹⁾ Liebigs Annalen der Chemie, Bd. 377, S. 354 (1910).

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 30, S. 428.

Methylen auf sechzehn Kohlenstoffatome¹⁾ erhalten hatte, während sein krystallisiertes Natriumsalz nur ein Atom Metall auf die genannte Anzahl von Atomen Kohlenstoff enthielt.

Unsere Resultate decken sich nun vollständig mit beiden Befunden. Das Hämatoporphyrin läßt sich zunächst überraschend leicht verestern, wenigstens mit Methylalkohol; es genügt viertelstündiges Erhitzen der 1% Chlorwasserstoff enthaltenden methylalkoholischen Lösung, um einen leicht in Äther löslichen Körper zu erhalten, der sich nicht mehr in Soda löst. Dieser Ester ist aber kein Tetramethyl-, sondern ein Dimethylderivat; seine Existenz beweist das Vorhandensein zweier Carboxyle, seine Unlöslichkeit in Alkalien beweist, daß die zwei weiteren Hydroxyle keine sauren Eigenschaften besitzen, womit indirekt für das zweibasische Hämin bewiesen ist, daß es nicht diese Hydroxyle sein können, die ihm die sauren Eigenschaften verleihen, sondern daß auch im Hämin bereits zwei Carboxyle vorhanden sind, während die beiden Hydroxyle erst während des Überganges in Hämatoporphyrin entstehen.

Unser Dimethylester des Hämatoporphyrins, der sich durch einen bei 142° liegenden Schmelzpunkt identifizieren läßt, ist nun auch seiner Natur entsprechend leicht verseifbar. Es geschieht dies durch Erwärmen mit Natronlauge, aber auch schon dann, wenn seine ätherische Lösung mit 5% iger Salzsäure ausgeschüttelt wird, in welche er übergeht. Das aus der Lösung auskrystallisierende Salz erwies sich aber als salzsaures Hämatoporphyrin.

Daß die beiden Sauerstoffatome, welche die empirische Formel des Hämatoporphyrins gegenüber der des Hämins mehr enthält, in Form zweier Hydroxyle vorhanden sind, geht schon aus der Möglichkeit hervor, das Hämatoporphyrin in ein tetramethyliertes Produkt überzuführen. Dies wird annähernd erreicht durch längeres Kochen einer 5% Chlorwasserstoff haltenden methylalkoholischen Lösung des Farbstoffs, doch haben wir einen krystallisierten Körper hierbei nicht erhalten.

¹⁾ Nencki nahm damals für das Hämatoporphyrin die Formel $C_{16}H_{18}O_3N_2$ an.

wohl aber die Beobachtung Nenckis bestätigen können, daß das methylierte Produkt bereits bei 81° schmilzt.

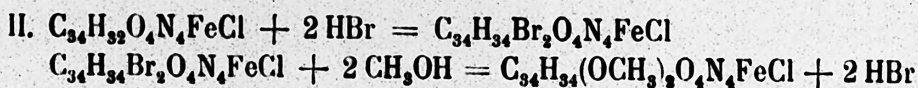
Zu einem Tetramethylderivat des Hämatoporphyrins gelangt man nun auch, wie in der zweiten Mitteilung bereits kurz beschrieben wurde, wenn das bei der Einwirkung von Bromwasserstoff-Eisessig auf Hämin entstehende Zwischenprodukt nach Abdestillation der Essigsäure mit wasserfreiem Methylalkohol erwärmt wird. Es wurde in großen Krystallen erhalten und zeigte den Schmelzpunkt 128°, erweist sich also als verschieden von dem durch längere Einwirkung methylalkoholischer Salzsäure auf Hämatoporphyrin erhaltenen amorphen Produkt. Die Entstehungsweise dieses Körpers kann aber gar nicht anders erklärt werden als durch die Annahme, daß das nicht isolierte Zwischenprodukt einen Körper vorstellt, der sich aus dem Hämin durch Anlagerung zweier Molekeln Bromwasserstoff gebildet hat, also nach Gleichung Ia. Gleichung Ib wäre dann durch folgende zu ersetzen: Ib' $C_{34}H_{36}O_4N_4Br_2 + 2 CH_3OH = C_{34}H_{36}O_4N_4(OCH_3)_2 + 2 HBr$, worauf noch durch die anwesende Bromwasserstoffsäure eine Veresterung, die ja so leicht eintritt, erfolgt.

Für diese Auffassung, welche die Annahme lactamartiger Bindungen im Hämin definitiv widerlegt,¹⁾ haben wir nun zwei weitere Beweise in Händen. Der erste besteht darin, daß unser Tetramethylderivat, das also als der Dimethylester einer Dihydrodimethoxyhämaterindicarbonsäure anzusprechen ist, wenn die zweibasische eisenfreie Muttersubstanz des Hämins $C_{32}H_{34}N_4$ als Hämaterin bezeichnet wird, sich auf die gleiche Weise wie der Dimethylester des Hämatoporphyrins verseifen läßt, wodurch es in einem Dimethyläther des Hämatoporphyrins übergeht, der

¹⁾ In der zweiten Mitteilung habe ich bereits auf die Fülle innerer Widersprüche hingewiesen, die diese Annahme Pilotys in sich birgt. In der vorliegenden Arbeit wird noch das analytische Material dafür gebracht, daß selbst verdünnte Schwefelsäure wasserabspaltend wirkt. Wenn konzentrierte Schwefelsäure also auch aus Hämin Hämatoporphyrin erzeugt, so beruht dies auf intermediärer Anlagerung an Doppelbindungen, nicht auf der Sprengung von Lactamgruppen, die umgekehrt gerade durch Schwefelsäure erzeugt werden, wie aus der Unlöslichkeit des Hauptanteils des Hoppe-Seylerschen Hämatoporphyrins in Säuren hervorgeht.

durch den Schmelzpunkt 105° und durch ein krystallisiertes salzsaures Salz charakterisiert werden konnte und außerdem dadurch, daß er in Alkalien löslich ist und wie das Hämatoporphyrin selbst Salze mit Basen bildet, auf die ich noch zurückkomme. Durch Veresterung dieses Äthers erhielt Herr Deihle das Tetramethylderivat vom Schmelzpunkt 128° zurück.

Den zweiten Beweis liefert die Auffindung eines Dihydrodimethoxyhämins unter den bei der Einwirkung des Methylalkohols auf das «Zwischenprodukt» entstehenden Körpern. Es muß noch unentschieden bleiben, ob die neue Substanz primärer oder sekundärer Natur ist. Im ersteren Fall enthält das Zwischenprodukt einen Körper, der ohne Abspaltung von Eisen nur durch Anlagerung von zwei Molekülen Bromwasserstoff aus dem Hämin mit nachfolgendem Ersatz des Broms durch zwei Methoxyle entstanden ist:



Im zweiten Fall müßte der Bildung nach Gleichung Ia und Ib die Einlagerung der Chlorferrigruppe gefolgt sein.

Daß eine solche möglich ist, beweist die Leichtigkeit, mit der sich eine komplexe Eisenverbindung aus dem Dimethylester des Anhydro-Hämatoporphyrins bildet, die wir nach der von Zaleski¹⁾ beim Mesoporphyrin ausgearbeiteten Methode erhalten konnten, und außerdem die Fähigkeit des Dimethyläthers des Hämatoporphyrins mehr basische Äquivalente zu binden, als seiner zweibasischen Natur entspricht. Das Hämatoporphyrin selbst gibt ein Silbersalz mit zwei Atomen Metall, sein Dimethyläther ein solches mit drei Atomen, beide Körper vermögen drei Moleküle Ammoniak in wässriger Lösung zu binden. Die Anwesenheit der Methoxyle setzt andererseits die basischen Eigenschaften des Moleküls herab, das Hämatoporphyrin bildet ein verhältnismäßig beständiges Salz mit zwei Molekeln Chlorwasserstoff, das salzsaure Salz des Dimethyl-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 37, S. 70 (1902); Bd. 43, S. 11 (1904). — Der Ester gibt aber auch schon in methylalkoholischer Lösung komplexe Salze.

wenigstens wurde dieser Befund einmal und zwar von meinem Assistenten Weller gemacht, der zur Lösung des Hämatoporphyrins Natriumbicarbonat in großem Überschuß verwendete. Bei der Wiederholung des Versuchs durch Herrn Deihle wurde das Hämatoporphyrin mit Hilfe dreier Molekeln Natriumhydroxyd in Lösung gebracht, und nun zeigte es sich, daß bei der Dialyse nur das dritte, überschüssige Molekül des Alkalis in das Außenwasser trat. Daß bei dem ersten Versuch sofort etwas Farbstoff durch die Membran hindurchging, im zweiten nicht, möchte daran liegen, daß dort frisch dargestelltes, hier längere Zeit aufbewahrtes, also polymerisiertes Hämatoporphyrin verwendet wurde. Doch bedarf dieser Versuch der Wiederholung. Wie denn überhaupt die Untersuchung aller der geschilderten Körper einer Ergänzung und Erweiterung bedarf. Das betrifft vor allem den Dimethyläther. Die in der zweiten Mitteilung bereits erwähnte Darstellung eines solchen vom Hämatoporphyrin ausgehend durch Methylierung in alkalischer Lösung mit Hilfe von Methylsulfat lieferte sehr schlechte Ausbeuten. Bei Verwendung frisch hergestellten Hämatoporphyrins, das noch feucht in Arbeit genommen wurde, ergaben sich bessere, aber das Produkt zeigte keinen Schmelzpunkt, war also nicht identisch mit dem aus dem Tetramethylderivat bei Verseifung der Estermethyle erhaltenen, wenn es auch chemisch ein gleiches Verhalten zeigte. Diese Verschiedenheit bedarf also noch der Aufklärung. Namentlich aber soll die Einführung des Eisens und anderer Metalle in die von uns entdeckten Methylderivate des Hämatoporphyrins genauer studiert werden.¹⁾ Es sei dazu noch bemerkt, daß es Laidlow²⁾ bereits glückte, eine komplexe Eisen- und Kupferverbindung des Hämatoporphyrins, welche letztere er mit dem «Turacin» identifizieren zu können glaubte, zu gewinnen und zwar auf ganz anderem Wege, nämlich in alkalischer Lösung. Wir haben diese Versuche wiederholt und insofern bestätigen können,

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 43, S. 14 (1904), beschreibt Zaleski einen Versuch, Eisen in das Hämatoporphyrin einzuführen; er hat denselben aber, wie es scheint, nicht weiter verfolgt.

²⁾ Journ. of Physiol., Bd. 31, S. 464 (1904).

als es gelingt, hämatinartige Körper zu bereiten. Es darf aber als ausgeschlossen gelten, daß hierbei Hämatin selbst entsteht, denn selbst wenn das verwendete Hydrazin eine Reduktion der beiden Hydroxyle des Hämatoporphyrins bewirkt haben sollte, so könnte doch nur ein tetrahydriertes Hämatin entstanden sein, das ebenso wie Zaleskis hydrogenisiertes Hämin in Beziehung zum Mesoporphyrin stehen würde und als komplexes Hydroxyferrizalz der Tetrahydrohämaterindicarbonsäure (= Mesoporphyrin) zu bezeichnen wäre.

Experimenteller Teil.

Die Darstellung des Hämins erfolgte nach dem Verfahren Schalfenjeffs in der von Willstätter¹⁾ modifizierten Form, das Umkrystallisieren des Rohhämins wurde in Portionen von 6 g vorgenommen, die mit Hilfe von 18 ccm Pyridin und 30 ccm Chloroform gelöst wurden. Die Lösung wurde filtriert und das Filter mit einem Gemisch von 1 ccm Pyridin mit 15 ccm Chloroform nachgewaschen, das gesamte Filtrat in 840 ccm auf 110° erhitztem Eisessig, dem 6 ccm gesättigte Kochsalzlösung und 5 ccm 25%ige Salzsäure zugefügt worden waren, eingetragen. Die abgeschiedenen Häminkrystalle wurden nach 24 Stunden abfiltriert, die Mutterlauge konnte noch zweimal zur Umkrystallisation von je 6 g Hämin verwendet werden.

Die Ausbeute betrug aus 15 l Ochsenblut²⁾ 80 g rohes und 65 g umkrystallisiertes Hämin,³⁾ also 4,3 g pro Liter.

Analyse: 0,1360 g Substanz: 0,3125 g CO₂, 0,0620 g H₂O, 0,0169 g Fe₂O₃,
 0,1467 „ „ : 0,3367 „ „ 0,0658 „ „ 0,0182 „ „
 0,1756 „ „ : 13,7 ccm N, 14°, 732 mm B.
 0,1013 „ „ : 0,0225 g AgCl.

Ber. C ₃₄ H ₃₂ O ₄ N ₄ FeCl:	62,63%	C,	4,91%	H,	8,59%	N,	8,59%	Fe,	5,45%	Cl
Gef.:	62,67		5,07		8,83		8,7		5,49	
	62,59		4,95		—		8,68		—	

¹⁾ Liebigs Annalen der Chemie, Bd. 373, S. 232 (1910).

²⁾ Auch Herr Deihle machte die Erfahrung, daß Pferdeblutkörperchen sich weit weniger gut zur Herstellung von Hämin nach Schalfenjeff eignen.

³⁾ Zum Umkrystallisieren älterer Präparate von Rohhämin bedarf man größerer Mengen von Pyridin-Chloroform als angegeben.

Zu der Darstellung des Hämatoporphyrins nach Nencki-Zaleski möchte ich noch bemerken, daß wir sie in weithalsigen Pulvergläsern mit eingeschliffenen Stopfen bewirkten. Die Gefäße wurden mit 100 g Eisessig-Bromwasserstoff nahezu gefüllt, das Eintragen des umkrystallisierten Hämins geschah in 10 Portionen à 0,5 g bei Zimmertemperatur im Laufe von 5 Tagen unter möglichstem Ausschluß der Luftfeuchtigkeit. Nachdem dann durch Glaswolle filtriert und mit wenig Eisessig nachgewaschen worden war, wurde das Filtrat in 500 ccm Wasser eingetragen und nach fünfständigem Stehen vom «Nebenprodukt» filtriert. Es zeigte sich dabei, daß frisch umkrystallisiertes Hämin nicht nur fast restlos in Lösung ging, sondern daß alsdann auch die Menge des Nebenprodukts sehr gering war. Bei alten Präparaten fand eine vollständige Lösung nicht statt, das Nebenprodukt war reichlich vorhanden.

Die vom Nebenprodukt durch Filtration getrennte Lösung wurde dann mit Natronlauge bis zur schwach sauren Reaktion versetzt und das Hämatoporphyrin¹⁾ durch Eintragen von Natriumacetatlösung völlig gefällt. Das Filtrat enthielt im Falle der Verwendung frisch umkrystallisierten Hämins nur Ferriionen, im anderen Falle dagegen Ferro- und Ferriionen.

Die Ausbeute an Hämatoporphyrin betrug:

im ersten Fall z. B. aus 20 g Hämin 18 g, also 90% statt 91,5%
 • andern • • • 20 • • 13 • • 65% • 65 %.

Hämatoporphyrin löst sich in Aceton ziemlich leicht, man gebraucht für einen Teil etwa 18 Teile des Lösungsmittels.

14,58 g der Lösung enthielten 0,7668 g Hp oder 100 Aceton 5,55 Hp. Daß unter dem Einfluß des Acetons eine Abspaltung von Wasser aus dem Molekül des Hämatoporphyrins erfolgt und daß das gebildete Anhydrohämatoporphyrin als ein intramolekularer Äther anzusehen ist, der noch saure und basische Eigenschaften besitzt, wurde bereits in der 2. Mitteilung erwähnt.

¹⁾ Über die Reinigung dieses rohen Hämatoporphyrins vgl. Berichte d. Deutsch. chem. Ges., Bd. 45, S. 1941. Zu den Analysen ist noch eine Stickstoffbestimmung nachzutragen:

0,1738 g Subst.: 14,9 ccm N, 19° und 736 mm B. = 9,5% statt 9,4%.

Wenn nun also schon Aceton beim Hämatoporphyrin wasserentziehend wirkt, so ist es kein Wunder, daß konzentrierte Schwefelsäure und Eisessig einen tiefgehenden Einfluß ausüben und Substanzen entstehen lassen, die weder saure noch basische Eigenschaften mehr haben. Selbst verdünnte Schwefelsäure wirkt in der Wärme im gleichen Sinne, wie bei einem Versuch festgestellt wurde, bei dem eine Reinigung des rohen Hämatoporphyrins über das anscheinend leicht lösliche Sulfat bezweckt wurde.

14 g des Präparats wurden in 3 Portionen mit je 250 ccm Wasser und 30 g verdünnter Schwefelsäure auf dem Wasserbade erwärmt, wobei aber die Hauptmenge (11,5 g) ungelöst blieb, auch nachdem die Behandlung wiederholt wurde, bis sich die saure Lösung kaum noch anfärbte.¹⁾ Die gelösten Teile konnten nach Zusatz von Natronlauge bis zur schwach alkalischen Reaktion von Spuren Eisen getrennt und dann durch Essigsäure gefällt werden. Durch wiederholte Behandlung mit der stark verdünnten Schwefelsäure auf dem Wasserbade ging dann abermals ein Teil in säureunlöslichen Farbstoff über. Es ist also zweifellos die Schwefelsäure, welche die Umwandlung bewirkt, und zwar in ein Produkt, das nicht nur in allen gebräuchlichen organischen Lösungsmitteln, sondern auch in Natronlauge und in konzentrierter Salzsäure unlöslich ist. Auch methylalkoholische Salzsäure löst nicht, alkoholische Natronlauge beim Erhitzen ganz allmählich und anscheinend nicht vollständig.

Zur Orientierung wurde die Substanz analysiert:

0,1227 g Subst. (120°): 0,3123 g CO₂, 0,0608 g H₂O und 0,0010 g Asche
 = 69,99% C und 5,55% H auf aschefreie Substanz.
 0,0843 g Subst. (120°): 7,2 ccm N, 21° und 744,5 mm B. = 9,52% N.

Es ist nun bemerkenswert, daß das durch Behandlung mit verdünnter Schwefelsäure veränderte Hämatoporphyrin bei der Oxydation weit ungünstigere Resultate gab als der ursprüngliche Farbstoff. Dieses lieferte 62% seines Gewichtes Hämatinsäure,²⁾ jenes nur 38%, daneben trat reichlich Oxalsäure auf und auch Bernsteinsäure. Wahrscheinlich stammen beide

¹⁾ Auch 20%ige Schwefelsäure löste fast nichts mehr heraus.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 61, S. 174 (1909).

aus zersetzter Hämatinsäure. Leider wird es sehr schwierig sein, die ganze Menge der letzteren intakt zu erhalten; gelänge dieses, so würde ein solches Verfahren geeignet sein, meine Vorstellungen über den Bau des Hämins und die Bildung des Hämatoporphyrins einer experimentellen Prüfung zu unterwerfen, da nach ihnen wohl aus Hämin, nicht aber aus Hämato- resp. Mesoporphyrin Bernsteinsäure entstehen dürfte.¹⁾

Zur Prüfung der Frage, ob sich die Carboxyle des Hämatoporphyrins wie die des Hämins verschieden verhalten, wurde eine Lösung des Natriumsalzes des ersteren der Dialyse unterworfen. Bei der Herstellung dieser Lösung zeigte sich zunächst, daß es nicht möglich ist, ein Molekül Hämatoporphyrin durch zwei Molekeln des sauren Natriumcarbonats in Lösung zu bringen. Übergießt man z. B. 1 g Hämatoporphyrin mit einer Auflösung von 0,25 g NaHCO_3 in 100 g Wasser (berechnet sind 0,281 g), so geht nur ganz wenig Farbstoff in Lösung. Man muß einen großen Überschuß des Carbonats zufügen, bis sich wenigstens der größere Teil löst. Wir brauchten 3 g und auch dann hatten sich 0,45 g Hp noch nicht gelöst, trotzdem die Aufschwemmung kurze Zeit geschüttelt worden war und die Bildung von Soda also nicht ausgeschlossen ist. Die nach dem Absetzen der ungelösten Partikel filtrierte Lösung wurde nun der Dialyse unterworfen, wobei sich, wie das auch schon früher beobachtet worden war,²⁾ am ersten Tage ein nicht unbedeutender Austritt von Farbstoff bemerkbar machte. Diese Färbung des Dialysats, die übrigens in den folgenden Tagen mehr und mehr zurückging, machte eine Bestimmung des ausgetretenen Alkalis durch Titration unmöglich. Nachdem dann die Dialyse gegen immer neues Wasser 14 Tage lang fortgesetzt worden war, konnte eine alkalische Reaktion des Außenwassers nur noch mit Hilfe von Methylrot³⁾ festgestellt werden. Nunmehr wurde der Inhalt des Dialysators durch Essigsäure gefällt, das Gewicht des sorgsam ausgewaschenen Niederschlags nach dem Trocknen bei 100° festgestellt und im Filtrat das Natrium als

¹⁾ Vgl. die Anm. auf S. 52/53.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 55, S. 546 (1908).

³⁾ Rupp u. Loose, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. 41, S. 3905 (1908.)

Sulfat bestimmt. Erhalten wurden 0,38 g Hämatoporphyrin und 0,0539 g $\text{Na}_2\text{SO}_4 = 0,0175$ g Na. Nun würden 0,38 g Hp 0,0292 g Na fordern, wenn in der Lösung das Verhältnis 1 Molekül Hp : 2 Atomen Na bestanden hätte. Die erhaltenen Werte zeigen also, daß in diesem Falle nur wenig mehr als ein Atom Natrium mit einer Molekel Hämatoporphyrin verbunden blieb, ein Verhältnis, wie es sich auch beim Hämatin ergeben hatte.

Bei einem zweiten Versuch wurden 1,009 Anhydrohämatoporphyrin in 50 ccm n_{10} -NaOH und 250 ccm Wasser gelöst gegen 300 ccm Wasser, das alle 24 Stunden gewechselt wurde, 9 Tage lang dialysiert. Nach dieser Zeit erfolgte Durchtritt von etwas Farbstoff, weshalb die Dialyse abgebrochen wurde; die im Dialysat befindliche Menge des Hp betrug 0,0368 g. Die Lösung im Dialysator wurde nun durch 0,8 g AgNO_3 bei 60° gefällt, das — farblose — Filtrat und die Waschwässer durch Salzsäure vom Silber befreit und eingedampft. Es hinterblieben 0,2079 g $\text{NaCl} = 0,0819$ Na, die an 0,9722 g Hp gebunden waren und 35,6 ccm $1/10$ -N NaOH entsprechen.

Für $\text{C}_{34}\text{H}_{36}\text{O}_5\text{N}_4 : 2 \text{NaOH}$ berechnen sich aber 33,5 ccm $1/10$, danach erwies sich das Binatriumsalz des Hämatoporphyrins bei diesem Dialyserversuch als beständig. Daß bei diesem ein Durchtritt von Farbstoff zu Beginn der Dialyse nicht stattfand, erklärt sich vielleicht durch die Verwendung eines alten Präparats; den nach 9tägiger Dialyse erfolgten Durchtritt möchte ich auf ein Undichtwerden der Membran zurückführen.

Zur Analyse des Ammoniumsalzes des Hämatoporphyrins wurde die ohne Rückstand filtrierte Lösung von 0,1621 g in 20 ccm n_{10} - NH_3 in einer Schale neben 20 ccm n_{10} - H_2SO_4 unter einer Glasglocke 6 Tage belassen, worauf mit n_{10} -KOH (Indikator Methylorange) zurücktitriert wurde, wobei 8,7 ccm erforderlich waren.

0,1621 g Hp hatten also gebunden $20 - (20 - 8,7) = 8,7$ ccm n_{10} - NH_3
 Ber. für $\text{C}_{34}\text{H}_{38}\text{O}_6\text{N}_4(\text{NH}_3)_2 = 5,4$
 $\text{C}_{34}\text{H}_{38}\text{O}_6\text{N}_4(\text{NH}_3)_3 = 8,1$

Demnach verbindet sich 1 Mol. Hämatoporphyrin in wässriger Lösung mit 3 Mol. Ammoniak. Das gleiche Resultat wurde

erhalten, als die Lösung des Hämatoporphyrins in überschüssigem Ammoniak bei 37° unter vermindertem Druck in eine titrierte Säure hinein destilliert wurde.

Angewendet 0,2277 g Hp und 30 ccm $n_{/10}$ -NH₃, vorgelegt 40 ccm $n_{/10}$ -H₂SO₄, zum Zurücktitrieren gebraucht 22 ccm $n_{/10}$ -KOH, also gebunden 12 ccm

Berechnet für C₃₄H₃₈O₆N₄(NH₃)₅: 11,5

Aus den Ammoniumsalzlösungen wurden nun einmal mit Hilfe von Silbersulfat, das andere Mal mit Hilfe von Silbernitrat die Silbersalze des Hämatoporphyrins hergestellt. Aus der ersten wurden 0,17, aus der zweiten 0,2 g gewonnen, und zwar waren die Niederschläge grünschwarz, das Pulver des ausgewaschenen und im Vakuum getrockneten Salzes dunkelviolet gefärbt.

a) 0,1621 g Substanz (110°): 0,3059 g CO₂, 0,0609 g H₂O und 0,0433 g Ag.

b) 0,1952 g Substanz (110°): 0,0683 g AgCl.

Berechnet für C₃₄H₃₈Ag₂O₆N₄: 50,52% C, 4,4% H, 26,6% Ag

Gefunden:	a) 50,31	4,1	26,1
	b) —	—	26,4

Demnach erweist sich das Hämatoporphyrin dem Silber gegenüber als zweibasische Säure.

Zur Darstellung des Esters wurden 1,5 g Hp in 75 ccm Methylalkohol, der 1% Chlorwasserstoff enthielt, gelöst und die Lösung 10 Minuten am Rückflußkühler im Sieden erhalten, worauf sie in 1 l Wasser, das Natriumacetat enthielt, eingegossen wurde. Der hierbei entstehende hellrote Niederschlag wurde abgesaugt, Cl'-frei gewaschen und im Vakuum getrocknet. Ausbeute 1,4 g. Das Produkt ist in Carbonaten, auch beim Erwärmen unlöslich, beim Kochen mit Natronlauge geht es langsam in Lösung, es ist löslich in Äther und Methylalkohol. Im Kapillarröhrchen erhitzt schmolz es bei 140—142°, bei höherer Temperatur trat Zersetzung unter Gasentwicklung ein.

Die Methoxylbestimmung nach Zeisel ergab 4,1% CH₃.

Bei dem Versuch, das salzsaure Salz des Esters zu gewinnen, trat Verseifung ein. Zu dem gedachten Zweck wurde die ätherische Lösung des Esters mit 5% iger Salzsäure ausgeschüttelt, was restlos gelang; die salzsaure Lösung blieb im Vakuum über Schwefelsäure stehen, bis sich Krystalle abgesetzt hatten, die durch Absaugen der Mutterlauge isoliert, mit 5% iger

Salzsäure ausgewaschen, auf Ton gestrichen und im Vakuum getrocknet wurden.

0,1120 g Substanz: 0,0503 g AgCl.
 Berechnet für $C_{34}H_{38}O_6N_4 \cdot 2HCl$: 10,71% Chlor
 Gefunden: 11,1

Bei der Methoxylbestimmung nach Zeisel trat keine Trübung der Silberlösung auf. — Auf ähnlichem Wege wurde der Dimethylester des Anhydrohämatoporphyrins erhalten, Ausbeute 5,2 g aus 5 g. Er bildete ein ziegelrotes, sehr voluminöses Pulver, das den Schmelzpunkt $140/141^\circ$ zeigte und in Carbonaten selbst beim Erwärmen nicht löslich war, wohl aber in warmer Natronlauge. In Methylalkohol, Äther und verdünnter Salzsäure ist es ebenfalls löslich.

0,1367 g Substanz: 0,3564 g CO_2 und 0,0852 g H_2O
 0,2532 „ „ : 0,1692 „ AgJ (Zeisel).
 Berechnet für $C_{30}H_{40}O_5N_4$: 71,05% C, 6,58% H, 4,93% $2CH_3$
 Gefunden: 71,1 6,93 4,3

Kocht man eine Lösung von 1 g Hp in 25 ccm 5% HCl haltendem Methylalkohol 6 Stunden am Rückflüßkühler (Nencki hatte sogar 12 Stunden erhitzt), so wird ein nur teilweise in Äther lösliches, also nicht einheitliches Präparat erhalten, das in Methylalkohol und in Chloroform sehr leicht löslich ist. Der in Äther lösliche Teil ließ sich dem Äther durch 5% ige Salzsäure entziehen. In Soda ist das Präparat nicht löslich, der Schmelzpunkt liegt bei $80-83^\circ$, worauf Zersetzung unter Gasentwicklung eintritt.

0,1840 g Substanz : 0,2320 AgJ = 8,1% CH_3 , also wie bei Nencki ca. 1% CH_3 für ein Tetramethylderivat — berechnet 9,4% CH_3 , zu wenig.

Nach weiterer Einwirkung methylalkoholischer Salzsäure in der Siedehitze wurde ein Rückgang des Methylgehalts konstatiert.

0,1747 g Substanz : 0,1893 AgJ = 6,91% CH_3 . Schmelzpunkt ca. 86° .

Nach einer 3. Behandlung waren nur noch 5,9% CH_3 vorhanden, der Schmelzpunkt lag bei ca. 90° . (0,1575 g Substanz : 0,1475 AgJ.)

Durch 4stündiges Kochen von 0,5 g mit 20 ccm 5%iger alkoholischer Kalilauge erfolgte teilweise Verseifung,¹⁾ der durch Essigsäure gefällte Farbstoff, der jetzt in saurem Natriumcarbonat löslich war, enthielt noch 1,26% CH_3 . (0,1910 g Substanz : 0,0378 AgJ.)

Doch dürfte der Äther des Hämatoporphyrins auf die angegebene Weise nicht in reinem Zustande zu erhalten sein, wahrscheinlich erfolgt auch durch Salzsäure eine teilweise Abspaltung von Wasser zwischen den alkoholischen Hydroxylen, die ja so sehr leicht eintritt. Zur Darstellung des Dimethyläthers des Hämatoporphyrins wurde frisch gefällter roher Hämatoporphyrinschlamm, der 80% Wasser enthielt, in Portionen von 2 g (= 0,4 g Hp) in möglichst wenig Soda aufgelöst, die Lösung auf 100 ccm verdünnt, mit einem Überschuß von frisch gefälltem Baryumcarbonat und mit 2 g Dimethylsulfat, gelöst in 5 ccm Methylalkohol, versetzt und zwei Stunden geschüttelt. Die jetzt schwach alkalische Mischung wurde nun mit Essigsäure bis zur Lösung des Baryumcarbonats versetzt und mit Äther erschöpfend extrahiert. Der ätherischen Lösung wurde dann der Farbstoff durch 5%ige Salzsäure entzogen und aus der salzsauren Lösung durch Natriumacetat gefällt. Er erwies sich in saurem Natriumcarbonat löslich, war auch in Methylalkohol, Chloroform leicht, in Äther schwerer, in Benzol sehr schwer löslich. Durch Behandeln mit einer kleinen Menge von Äther wurden die am leichtesten löslichen Teile in einer Ausbeute von etwa 30% des verwendeten Hämatoporphyrins abgetrennt und nach Abdestillation des Äthers und Trocknen im Vakuum gewonnen. Das rote Pulver zeigte keinen Schmelzpunkt.

0,069 g Substanz : 0,0488 g AgJ
 Berechnet für $\text{C}_{34}\text{H}_{36}\text{O}_6\text{N}_4(\text{CH}_3)_2$: 4,79% CH_3
 Gefunden : 4,51

In 5%iger Salzsäure löste es sich vollständig auf, beim Einengen der Lösung im Vakuum über Kalk schieden sich nach 2 Tagen Krystalle aus, die abgesaugt, mit 5%iger Salzsäure

¹⁾ Bei weiterem Kochen mit der alkoholischen Kalilauge trat vollständige Abspaltung des Methyls ein.

nachgewaschen, auf Ton gestrichen und im Vakuum getrocknet worden.

0,0458 g Substanz: 0,0169 g AgCl
 Berechnet für $C_{34}H_{36}O_6N_4(CH_3)_2 \cdot 2 HCl$: 10,17% Cl
 Gefunden: 9,12%

Ein später beschriebener Dimethyläther des Hämatoporphyrins (vgl. S. 71) enthielt gleichfalls etwa 1% Chlor weniger, als die Formel verlangt.

Zur Entscheidung der Frage, ob der Chemismus der Hämatoporphyrinbildung primär in einer Anlagerung von zwei Molekeln Bromwasserstoff an das Häminmolekül, sekundär in einem Ersatz der Bromatome durch Hydroxyl durch die Einwirkung des Wassers bestände, wurde letzteres durch Methylalkohol ersetzt, wobei — war jene Voraussetzung richtig — ein Eintritt von zwei Methoxylen erfolgen mußte. Bei einem ersten Versuch¹⁾ wurde daher die durch Einwirkung von Bromwasserstoff-Eisessig auf Hämin entstandene Lösung unter vermindertem Druck zur Trockene gebracht und der sirupöse Rückstand in Methylalkohol unter Erwärmen gelöst, was vollständig gelang und zwar bei Verwendung von 30 g Hämin durch 300 ccm Methylalkohol. Die filtrierte Lösung wurde zur Ausfällung des Eisens und zur Bindung des Restes der Essigsäure und des Bromwasserstoffs mit 20%iger methylalkoholischer Kalilauge versetzt, wovon 100 ccm sich anscheinend als ausreichend erwiesen. Vom entstandenen Niederschlag wurde filtriert und das Filtrat in zwei Liter Wasser gegossen, wodurch der gebildete Farbstoff ausfiel. Er wurde filtriert, Br-frei gewaschen, durch Liegen auf Fließpapier getrocknet und alsdann mit 800 ccm Methylalkohol am Rückflußkühler 20 Minuten ausgekocht. Aus der heiß filtrierten Lösung schieden sich beim Stehen über Nacht schwarzrot gefärbte Krystalle an den Wänden des Becherglases in großen Drusen ab, die nach Abgießen der Mutterlauge und Abspülen mit 50%igem Methylalkohol im Vakuum getrocknet wurden. Ausbeute 2,9 g. Das in Alkalien, selbst in N-Kalilauge beim Erwärmen im Wasserbade unlösliche Pulver zeigte, im Kapillarröhrchen erhitzt, den Schmelzpunkt 128°.

¹⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. 45, S. 1944.

0,1786 g Substanz: 0,2355 g AgJ (Zeisel) = 8,4% CH₃

Berechnet für C₃₄H₃₄O₆N₄(CH₃)₄ = 9,2% »

Die Krystalle stellten also ein Tetramethylderivat des Hämatoporphyrins vor, enthielten aber noch 1,3% Halogen, als Brom berechnet (0,1815 Substanz: 0,0055 AgBr) sowie Spuren von Eisen.¹⁾

Aus der Mutterlauge waren auch nach der Konzentration durch Abdestillation des Methylalkohols weitere deutlich ausgebildete Krystalle nicht mehr zu gewinnen, es wurde daher die erhaltene amorphe Ausscheidung wieder in Methylalkohol gelöst und aus der Lösung der gesamte Farbstoff durch Zugabe von schwach mit Essigsäure versetztem Wasser gefällt. Nach dem Auswaschen — Trocknen wurden 17 g eines sehr voluminösen, ziegelroten Pulvers erhalten, das bei 126—128° schmolz, in kalten Alkalien unlöslich war, beim Erhitzen mit Laugen aber allmählich in Lösung ging.

Der Methoxylgehalt war noch geringer als bei den Krystallen, er betrug nur 7,7% CH₃ — (0,1315 Substanz: 0,1592 AgJ), was Hand in Hand mit einem höheren Halogengehalt ging. Zur Ermittlung des letzteren wurden 0,5 g Substanz mit 30 ccm n-KOH eine Stunde auf dem Wasserbade erwärmt, die filtrierte Lösung mit Essigsäure gefällt und im Filtrat des erhaltenen Niederschlags das Halogenion durch Silbernitrat gefällt. Erhalten wurden 0,0233 AgBr = 1,9% Br. Der Niederschlag erwies sich als bromfrei und enthielt fast zwei Methyl: 0,1109 Substanz: 0,0688 AgJ = 4,0 CH₃.²⁾

¹⁾ Es ist nicht ausgeschlossen, daß das Halogen als Chlor vorlag. vgl. S. 74, Anm.

²⁾ Dieses Resultat war nicht erwartet, hiernach muß der zu gering befundene Methylgehalt auf eine unvollständige Veresterung zurückgeführt werden, was mit der Unlöslichkeit des Produkts in Alkalien in Widerspruch steht. Auch sollte nach meiner Auffassung der Hämatoporphyrinbildung der Gehalt an Brom, das also noch nicht durch Methoxyl ersetzt worden ist, gerade den Gehalt an Äthermethyl herabdrücken und nicht den an Estermethyl. Dieser Widerspruch erklärt sich vielleicht durch die S. 73 beschriebene Auffindung einer komplexen Eisenverbindung des Hämatoporphyrins in dem analysierten rohen Ätherester. Das Halogen wäre danach als Chlorferrigruppe vorhanden. Leider wurde es unterlassen, das erhaltene Halogensilber darauf zu prüfen, ob Brom- oder Chlorsilber vorlag. Aus der angegebenen Menge würden sich 1,15% Chlor berechnen.

Hier mußte also der gesuchte Dimethyläther des Hämatoporphyrins vorliegen. Zu seiner Isolierung wurde alsdann die schon beschriebene Methode der Verseifung des Esters mit Hilfe von Salzsäure herangezogen, wie Seite 70 beschrieben wird.

Zunächst sei erwähnt, daß bei einem zweiten Versuch das

Tetramethylhämatoporphyrin

im reinen Zustande erhalten wurde. Die mit Hilfe von Eisessig-Bromwasserstoff gewonnene Lösung von 5 g Hämin, die also das bromhaltige Zwischenprodukt enthalten mußte, wurde unter vermindertem Druck bei 70° Wasserbadtemperatur möglichst vollständig abdestilliert und der dunkelviolette Rückstand mit 100 g wasserfreiem Methylalkohol 10 Minuten lang auf 50° erwärmt, wobei er vollständig in Lösung ging. Die filtrierte, tiefrote Lösung wurde darauf mit 4 g Kaliumhydroxyd, gelöst in 30 ccm Methylalkohol, versetzt, der entstandene Niederschlag abfiltriert und mit Methylalkohol extrahiert.¹⁾ Die vereinigten methylalkoholischen Lösungen setzten beim ruhigen Stehen innerhalb von 6 Tagen 1,8 g große, schwarzrote Krystalle vom Schmelzpunkt 128° ab; in ihnen lag fast aschefreies Tetramethylhämatoporphyrin vor:

0,1725 g Substanz: 0,4393 g CO₂, 0,1057 g H₂O und 0,0003 g Fe₂O₃
 0,2660 „ „ : 0,4065 „ AgJ (Zeisel).

Berechnet für C₃₈H₄₆O₆N₄: 69,72% C, 7,04% H, 9,2% CH₃
 Gefunden: 69,46 6,81 9,75

Beim längeren Stehen im evakuierten Exsikkator ergab sich noch ein krystallisierter Ausfall von 0,7 g, aus den Mutterlaugen wurden durch Eingießen mit verdünnter Natriumacetatlösung 1,1 g eines unscharf bei etwa 125° schmelzenden Produkts gewonnen, das aber im wesentlichen ebenfalls aus dem Tetramethylderivat bestehen dürfte, so daß die Ausbeuten (c. 4 g aus 5 g) als 80% der theoretisch berechneten Menge betragend angegeben werden können.

¹⁾ Bei nachfolgender Extraktion mit Äther wurde noch Farbstoff herausgelöst, der aus der ätherischen Lösung durch 5%ige Salzsäure weggenommen und aus der salzsauren Lösung durch Natriumacetat gefällt werden konnte. Nach dem Trocknen im Vakuum lagen 0,35 g eines ziegelroten Körpers vom Schmelzpunkt 105° vor, also der Dimethyläther des Hämatoporphyrins, vgl. S. 70.

Der Dimethyläther des Hämatoporphyrins.

Das beim ersten Versuch in einer Menge von 17 g erhaltene amorphe Produkt erwies sich, wie Seite 69 bereits angegeben, als geeignet, den gesuchten Dimethyläther des Hämatoporphyrins zu gewinnen. Zu diesem Zweck wurden z. B. 5 g in 200 ccm Äther gelöst und die Lösung mit je 50 ccm 5%iger Salzsäure mehrere Male ausgeschüttelt, d. h. solange, bis eine Wegnahme von Farbstoff nicht mehr beobachtet werden konnte.

Der Äther blieb trotzdem gefärbt, mußte also noch Substanz enthalten, über die Seite 73 berichtet werden wird.

Der aus der salzsauren Lösung durch Natriumacetat gefällte Farbstoff, aus 5 g z. B. 3,1 g, wurde noch einmal in Äther gelöst und das Ausschütteln mit 5%iger Salzsäure wiederholt, wonach nur geringe Mengen Substanz im Äther gelöst blieben, von 1 g wurden z. B. 0,95 g wieder aus der salzsauren Lösung gefällt. Das im Vakuum getrocknete, ziegelrote Pulver zeigte den scharfen Schmelzpunkt 105° und löste sich in saurem Natriumcarbonat.

0,1711 g Substanz: 0,1194 g AgJ = 4,45% CH_3 ,

0,1887 „ „ : 0,1463 „ „ = 4,94% „ berechnet 4,79%.

Nach wiederholtem Aufnehmen in Äther und Ausschütteln mit 5%iger Salzsäure änderte sich weder der Schmelzpunkt noch der Methylgehalt. Von den vier Methylen des Tetramethylhämatoporphyrins werden also nur zwei durch 5%ige kalte Salzsäure bei kurzer Einwirkung wieder abgespalten und zwar sind dies die Estermethyle, da ja mit ihrer Entfernung das restierende Dimethylhämatoporphyrin saure Eigenschaften besitzt und Salze bildet.

0,1627 g Substanz: 0,4153 g CO_2 und 0,0935 g H_2O

0,1000 „ „ : 0,0775 „ AgJ

Ber. $\text{C}_{34}\text{H}_{36}\text{O}_6\text{N}_4(\text{CH}_3)_2 = \text{C}_{36}\text{H}_{42}\text{O}_6\text{N}_4$: 69,0% C, 6,7% H, 4,79% CH_3

Gef.: 69,61 6,4 4,94

Durch Lösen von 0,5 g des Äthers in 25 ccm 1% Chlorwasserstoff haltenden Methylalkohol und viertelstündiges Erhitzen der Lösung auf dem Wasserbade, Füllen mit Natriumacetat, Lösen des abfiltrierten Niederschlags in Äther, Aus-

schütteln der ätherischen Lösung mit Bicarbonat, Trocknen der Lösung und Verdampfen des Äthers wurde das Tetramethylderivat vom Schmelzpunkt 128—130° zurückerhalten.

Zur weiteren Charakterisierung des Dimethyläthers, der nicht im krystallisierten Zustande erhalten werden konnte, wurde das salzsaure Salz hergestellt, zu welchem Zweck 0,5 g des Äthers in 5 ccm n-HCl bei Zimmertemperatur gelöst wurden. Aus der filtrierten und mit 2 ccm Waschwasser verdünnten Lösung schieden sich bei dreitägigem Stehen im Vakuum neben Schwefelsäure gut ausgebildete Nadeln ab, die abgesaugt, mit einigen Tropfen Salzsäure gewaschen und auf Ton im Vakuum getrocknet wurden. Die Ausbeute betrug 0,39 g. Ein Schmelzpunkt konnte nicht beobachtet werden.

0,1090 g Substanz: 0,0396 g AgCl (Cl durch NaOH abgespalten)

0,1618 „ „ : 0,0959 „ AgJ (Zeisel).

Ber. $C_{34}H_{36}O_6N_4(CH_3)_2 \cdot 2HCl$: 4,3% CH_3 , 10,1% Cl

Gef.: 3,8 8,98

Der Chlorgehalt wurde also zu niedrig befunden, was mit der Leichtzersetzlichkeit des Salzes zusammenhängt. Die schönen Krystalle zerfallen nämlich nicht nur beim Waschen mit kaltem Wasser zu amorphem Farbstoff, sondern die Abspaltung der Salzsäure stellt sich auch sofort ein, wenn das sorgfältig getrocknete Salz an die Luft gebracht wird, sodaß schon nach kurzem Aufbewahren die Krystallform verloren geht.

Ein krystallisiertes Salz des Äthers mit Bromwasserstoff zu erhalten, gelang bisher überhaupt nicht, da es augenscheinlich zu hygroskopisch ist.

Die Unbeständigkeit des salzsauren Salzes des Hämatoporphyrindimethyläthers im Gegensatz zu dem des Hämatoporphyrins ist bemerkenswert, die Methoxyle vermindern also die Fähigkeit der Stickstoffatome zur Addition, wie noch gezeigt werden wird, begünstigen sie dagegen die Bildung komplexer Salze aus dem Hämatoporphyrin. In demselben Sinne, d. h. Leichtvertretbarkeit des Imidwasserstoffs, zu deuten ist die Fähigkeit des Äthers, ein Silbersalz und ein Zinksalz mit drei Äquivalenten Metall zu geben, während das Hämatoporphyrin selbst nur zwei Atome aufnimmt und nur dem Ammoniak gegenüber die Fähigkeit besitzt, drei Moleküle zu binden.

0,4 g Dimethyläther (Schmelzpunkt 105°) wurden in 40 ccm Methylalkohol gelöst und die mit Natriumacetat versetzte Lösung mit überschüssiger 1%iger Silberacetatlösung versetzt, worauf noch zur besseren Abscheidung des Niederschlags mit Wasser verdünnt wurde. Der nach 12 Stunden vollkommen abgesetzte, dunkelviolette Niederschlag wurde durch Dekantieren Ag-frei gewaschen, schließlich abfiltriert und im Vakuum unter Lichtabschluß getrocknet. Ausbeute 0,49 g. Bei 100° getrocknet erschien das Salz fast schwarz.

I. 0,1688 g Substanz: 0,0755 AgCl (Carius).

β) 0,4 g desselben Äthers wurden in 100 ccm $n/20$ -NH₃ gelöst und der Überschuß des Ammoniaks bei 37° unter vermindertem Druck abdestilliert, die restierende Lösung wurde mit 0,8 g Silbernitrat gefällt.

II. 0,2107 g Substanz: 0,3508 g CO₂, 0,0743 g H₂O und 0,0729 g Ag

Ber. C₃₄H₄₃O₆N₄(CH₃)₂Ag₃: 45,62% C, 4,12% H, 34,21% Ag

Gef.:	I. —	—	33,7
	II. 45,41	3,92	34,60

Das Zinksalz des Äthers wurde aus der methylalkoholischen Lösung mit Hilfe 1%iger Zinkacetatlösung gefällt. Der Zn-frei gewaschene Niederschlag im Vakuum über Kalk getrocknet. Ausbeute 0,42 g aus 0,4 g Äther. Es stellt eine hellrote Substanz vor, die sich beim Erhitzen auf 100° schwarz färbt.

0,1492 g Substanz: 0,0270 g ZnO

Berechnet für [C₃₄H₄₃O₆N₄(CH₃)₂]₃Zn₃: 13,53% Zn

Gefunden: 14,5

Wie erwähnt, konnte der Dimethyläther aus dem Tetramethylhämatoporphyrin durch Einwirkung 5%iger Salzsäure unter Abspaltung der Estermethyle erhalten werden. Bei längerer Einwirkung eines Überschusses der Salzsäure und beim Stehen mit konzentrierter Salzsäure wird noch ein drittes Methyl entfernt und so ein Monomethyläther des Hämatoporphyrins erhalten. 1 g des Seite 68 erwähnten amorphen Produkts, aus dem der Dimethyläther, wie beschrieben, erhalten werden konnte, wurde mit 60 ccm Äther behandelt, die Lösung filtriert und

mit 100 ccm 5%iger Salzsäure einige Stunden geschüttelt. Die salzsaure Lösung wurde darauf neben Schwefelsäure im Vakuum eingedunstet, wobei sich nach 8 Tagen rotviolette Krystalle abgeschieden hatten, die abgesaugt und mit einigen Tropfen 25%iger Salzsäure nachgewaschen wurden, worauf sie auf Ton gestrichen und im Vakuum getrocknet wurden. Ausbeute 0,42 g.

Die in Soda leicht löslichen Krystalle besaßen keinen Schmelzpunkt und wurden durch Wasser zerlegt. Die Analyse spricht für das Vorliegen des salzsauren Salzes eines Monomethylhämatoporphyrins.

0,1068 g Substanz: 0,0474 g AgCl (Carius)

0,144 „ „ : 0,0473 „ AgJ (Zeisel)

Berechnet für $C_{34}H_{37}O_6N_4(CH_3) \cdot 2HCl$: 2,2% CH_3 , 10,7% Cl

Gefunden: 2,1 10,97

Wie Seite 70 erwähnt wurde, blieb bei der Ausschüttelung der ätherischen Lösung des amorphen Körpers, der alle die Körper enthält, die sich bei der Einwirkung von Methylalkohol auf das aus Hämin durch Eisessig-Bromwasserstoff enthaltende Produkt bilden, mit 5%iger Salzsäure eine Substanz im Äther gelöst. Diese enthielt reichliche Mengen von Halogen, daneben aber auch Methoxyl und so viel Eisen, daß sofort an ein Produkt gedacht werden mußte, das zwischen Hämin und Hämatoporphyrin stand, d. h. an ein Produkt, das sich aus dem Hämin dadurch gebildet hatte, daß zwar die Anlagerung von Bromwasserstoff erfolgt, aber die Abspaltung des Eisens noch nicht eingetreten war. Dem stand aber doch entgegen, daß das gleiche Rohprodukt bei der Behandlung mit Wasser an Stelle von Methylalkohol nur Hämatoporphyrin liefert, und die Beobachtung, daß es ein leichtes ist, in das Molekül des Esters des Hämatoporphyrins Eisen wieder einzuführen, läßt die Möglichkeit offen, daß das hier beobachtete Produkt sekundärer Natur insofern ist, als das Eisen mit Hilfe des vorhandenen, aus dem Hämin stammenden Eisens unter den während des Versuches selbst innegehaltenen Bedingungen wieder eingetreten ist.

Die Gewinnung eines komplexen Hydroxyferrisalzes des

Dimethyläthers des Hämatoporphyrins gestaltete sich folgendermaßen. Als Rückstand der braun gefärbten ätherischen Lösung, die an 5%ige Salzsäure und auch an Sodalösung keine Substanz abgab, auch durch Petroläther nicht gefällt wurde, hinterblieb eine schwarze, amorphe Masse, die nochmals in Äther gelöst und von Spuren unlöslicher Substanz hierdurch befreit wurde.

Sie enthielt 4,55% Chlor, 6,53% CH_3 und 7,85% Eisen (0,128 g Substanz: 0,0235 AgCl (Carius), 0,3663 Substanz: 0,3753 AgJ (Zeisel), 0,2122 g Substanz: 0,0238 Fe_2O_3), welche Werte auf das Vorliegen eines Monomethylesters des Dihydrodimethoxyhämins hinweisen:¹⁾ ber. $\text{C}_{37}\text{H}_{42}\text{O}_6\text{N}_4\text{FeCl}$ 4,88% Cl, 7,7% Fe, 6,2% CH_3 , der sich nach folgenden Gleichungen gebildet haben dürfte:



Zur Entfernung des Chlors wurde 1 g mit 120 ccm $\frac{n}{2}$ -NaOH $\frac{1}{2}$ Stunde im Wasserbade erhitzt, wobei der Körper allmählich vollständig in Lösung ging, worauf mit Essigsäure gefällt wurde. Im farblosen Filtrat war reichlich Halogen vorhanden und eine zweite Behandlung mit Alkali löste keines mehr heraus. Jetzt wurde der noch etwas feuchte Niederschlag, der sich auch in saurem Natriumcarbonat, sowie in Äther löste, in Säuren aber unlöslich war, auf Fließpapier schließlich im Vakuum getrocknet. Einen Schmelzpunkt besaß er nicht. Die Analyse weist auf einen Körper von der Zusammensetzung $\text{C}_{36}\text{H}_{39}\text{O}_7\text{N}_4\text{Fe}$, d. h. auf eine Hydroxyferri-dihydrodimethoxyhämaterinsäure, die sich aus dem ursprünglich vorhandenen Produkt durch Verseifung

¹⁾ Die Analyse ist insofern nicht einwandfrei, als unterlassen wurde, das Halogensilber auf einen Gehalt an Bromsilber zu untersuchen. Daß ein Monomethylester vorliegen muß, ergibt sich aus der Zeisel-Bestimmung nach der Verseifung, aus der hervorgeht, daß durch letztere nur ein Methyl entfernt wurde. Die Bildung eines in Alkalien unlöslichen Monomethylesters ist bei der Häminnatur des Körpers nicht ohne Analogie, da ja bei der Herstellung von Hämin mit Hilfe von Methylalkohol der Hauptsache nach ein Monomethylester gebildet wird, und von den zwei möglichen Isomeren das eine sich in kalten Carbonatlösungen nicht auflöst. Die vorliegende Substanz dürfte allerdings noch schwerer in Alkalien löslich sein, was auffallen muß.

des Estermethylyls und Ersatz des Halogens durch Hydroxyl gebildet haben kann.¹⁾

0,1914 g Substanz: 0,4338 g CO₂, 0,1005 g H₂O und 0,0214 g Fe₂O₃,
 0,2688 „ „ : 19,6 ccm N, 16,5° und 734 mm B.
 0,1962 „ „ : 0,1049 g AgJ (Zeisel).

	C	H	N	Fe	CH ₃
Ber. C ₃₄ H ₃₂ O ₆ N ₄ Fe(OH)(CH ₃) ₂ :	62,16%	5,61%	8,01%	8,01%	4,3%
Gef.:	61,81	5,84	8,15	7,83	3,5

Der erhaltene Körper ist wie das Hämatoporphyrin selbst imstande, drei Molekeln Ammoniak zu binden, die beim Erwärmen nicht abgegeben werden.

0,4836 g wurden mit 50 ccm ¹/₁₀-n-NH₃ behandelt, die filtrierte Lösung — 0,0056 g hinterblieben ungelöst — auf 100 ccm gebracht und unter vermindertem Druck bei 37° eine Stunde in 45 ccm ⁿ/₁₀-H₂SO₄ destilliert, wonach zurücktitriert wurde und zwar mit 25 ccm ⁿ/₁₀-NH₃.

0,478 g verbrauchten also 20 ccm ¹/₁₀-n-NH₃,

Berechnet für C₃₆H₃₉O₇N₄Fe(NH₃)₃: 20,6 ccm.

Die Darstellung einer komplexen Eisenverbindung aus dem Dimethylester des Anhydro-Hämatoporphyrins geschah in Anlehnung an die von Zaleski²⁾ für das Mesoporphyrin angegebene Methode.

2 g des genannten Esters wurden in 150 ccm 80%iger Essigsäure unter Erwärmen gelöst und die klar filtrierte Lösung mit 200 ccm Wasser verdünnt, wobei keine Trübung der violett rot gefärbten Flüssigkeit eintrat. Daneben war Eisenpulver mit 60%iger Essigsäure in Lösung gebracht worden und die filtrierte Lösung des Ferroacetats wurde nun in kleinen Portionen zu der auf dem erhitzten Wasserbade stehenden essigsauren Lösung des Esters gegeben, wobei nach etwa 7 Minuten

¹⁾ Anfänglich wurde angenommen, das vorhandene Halogen sei Brom, das noch nicht durch Methoxyl ersetzt worden war. Es wurde daher nach der Verseifung in alkalischer Lösung mit Dimethylsulfat behandelt. Später zeigte es sich, daß auch ohne diese Behandlung, die den Zweck hatte, das fehlende Äthermethyl einzuführen, ein vollständig ätherifizierter Körper bereits vorlag. Das Halogen mußte also von einer anderen Stelle des Moleküls stammen, d. h. es mußte als Chlorferri-gruppe vorliegen.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 37, S. 70 (1902); Bd. 43, S. 12 (1904).

ein Farbumschlag in braunrot eintrat. Jetzt wurde langsam erkalten gelassen und am nächsten Tage der inzwischen abgesetzte krystalline Niederschlag abgesaugt, nachgewaschen und im Vakuum getrocknet. Das erhaltene Produkt zeigte unter dem Mikroskop betrachtet kugel- und hantelförmige Kryställchen, die in größeren und kleineren Gruppen beieinanderlagen und das Bild eines wirren Netzwerkes erzeugten. Es löste sich nicht in Bicarbonat, eine Verseifung war also nicht eingetreten oder jedenfalls nur teilweise,¹⁾ war in Äther löslich, ließ sich aber aus dieser Lösung durch 5%ige Salzsäure nicht ausschütteln.

Leider gestattete die geringe Ausbeute bisher nur eine Elementar-Analyse.

0,1532 g Substanz: 0,3474 g CO₂, 0,0798 g H₂O und 0,0176 g Fe₂O₃.

Die hieraus sich ableitenden Werte: 61,84% C, 5,79% H und 8,04% Fe stimmen überein mit den aus den empirischen Formeln C₃₆H₃₉O₇N₄Fe oder (C₃₇H₄₀O₇N₄Fe)₂O berechneten. Es muß aber noch unentschieden bleiben, welcher von beiden der Vorzug zu geben ist, wie denn überhaupt der Chemismus der Einführung des Eisens in das Hämatoporphyrin wie auch in das Mesoporphyrin noch der Aufklärung bedarf, namentlich im Hinblick auf die Wertigkeit des Eisens. Läßt doch die Ausführung der Reaktion auf den Eintritt des Eisens im Ferrozustande schließen, während die Ähnlichkeit der erhaltenen Produkte mit dem Hämin das Vorliegen dreiwertigen Eisens fordert. Es müßte also entweder eine Aufnahme von Sauerstoff aus der Luft oder eine solche von Wasser erfolgt sein, so daß eine Oxydation am Eisen, eine Reduktion an einer anderen Stelle des Moleküls eingetreten wäre.

Ich gedenke diese wichtige Frage eingehend zu bearbeiten und behalte mir die Untersuchungen über die Einführung des Eisens und anderer Metalle in die Moleküle der von uns entdeckten Ester und Äther des Hämatoporphyrins vor.

¹⁾ Das S. 74 beschriebene Produkt, das mit dem vorliegenden große Ähnlichkeit aufweist, muß ja auch als ein Monomethylester angesprochen werden, der in Alkalien nicht löslich ist.

Stuttgart, am 1. Juni 1913.
