

Über die Konstitution des Hämins.

Von
William Küster.

(Aus dem 3. chemischen Institut der Technischen Hochschule in Stuttgart.)
(Der Redaktion zugegangen am 10. November 1913.)

Über die Konstitution des Hämins hat Willstätter in einer an wichtigen experimentellen Ergebnissen überaus reichen Arbeit vor kurzem sehr bemerkenswerte Vorstellungen entwickelt.¹⁾ Hier wird direkt nachgewiesen, daß beim Übergang vom Hämin zum Hämatoporphyrin Bromwasserstoffadditionsprodukte entstehen und somit der von mir erbrachte indirekte Nachweis²⁾ der Existenz von Zwischenprodukten auf die willkommenste Weise bestätigt und vervollständigt.

In der Deutung des experimentellen Befundes und damit in der Formulierung der Konstitution des Hämins stimmen indessen unsere Ansichten nicht überein. Willstätter betrachtet die erfolgende Addition von Bromwasserstoff als erste Phase der Loslösung des Eisens, während ich sie als eine nebensächliche Erscheinung in bezug auf das Eisen angesehen habe und noch ansehe, d. h. ich betrachte die Addition von Bromwasserstoff und die Loslösung des Eisens als zwei nur lose miteinander verknüpfte Reaktionen,³⁾ die durch ein und dasselbe Mittel bewirkt werden.

Die Festigkeit der Bindung des Eisens im Häminmolekül soll nach Willstätter dadurch bedingt sein, daß das Metall mit zwei Hauptvalenzen an zwei Pyrrol-Stickstoffatome und mit zwei Nebervalenzen an zwei weitere Stickstoffatome gebunden ist, von denen jedes einem Pyrrol- und einem Pyridin-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 87, S. 423 (1913).

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 86, S. 51 (1913).

³⁾ vgl. S. 383.

ring gemeinsam ist. Bei der Addition von Bromwasserstoff soll der letztere aufgespalten und erst hierdurch die Bindung des Eisens derart gelockert werden, daß es nur noch eines kleinen Anstoßes bedarf, um die Abtrennung vollständig zu machen.

An eine derartige Verknüpfung der beiden Vorgänge, die zur Bildung des Hämatoporphyrins führen, habe ich nun in der Tat nicht gedacht, vielmehr eine andere Vorstellung entwickelt, welche die Festigkeit der Bindung des Eisens im Gefolge haben kann. Sie wird von Willstätter nicht weiter erörtert, auch einiger Versuche wird nicht gedacht, die ich vor drei Jahren mitgeteilt habe¹⁾ und die für meine Formulierung ausschlaggebend waren. Die Versuche lehrten, daß 10%ige Salzsäure unter Druck bei 130° aus Hämatin und aus De(hydrochlorid)-hämin das Eisen zum größten Teil entfernten, wobei Hämatoporphyrinbildung nur in Spuren beobachtet wurde, während Hämin unter denselben Bedingungen nur einen kleinen Teil seines Eisens abgab, wobei jedesmal deutliche Mengen von Hämatoporphyrin gebildet wurden. Nun war bekannt, daß das Chlor des Hämins nicht vollständig durch Laugen entfernt werden kann, was so gedeutet werden konnte, daß der verbleibende Rest des Chlors an ein quaternäres Stickstoffatom gekettet ist, daß das Chlor des Hämins aber weder mit dem Eisen allein, noch allein mit dem Stickstoff verbunden ist, sondern in Beziehungen zu beiden Elementen steht. Und gerade dadurch, daß das Chlor seine Valenz teilt und sie teilweise mit basischen Stickstoffatomen des Häminmoleküls — die ich im Gegensatz zu Willstätter im Hämin vorgebildet annehme — und wieder nur teilweise mit dem Eisen ausgleicht, erlangt auch das Eisen die Fähigkeit, mit diesen basischen Stickstoffatomen in Verbindung zu treten, wodurch es nun mit Haupt- und Nebervalenzen an alle vier Stickstoffatome des Moleküls verkettet und dadurch so fest gebunden ist, daß es eingreifender Mittel bedarf, um es herauszulösen. Daß diese dann auch den viel labileren organischen Teil des Moleküls alterieren, konnte nicht wundernehmen. Ganz anders mußte sich dieser Vorstellung zufolge, welche dem Chlor eine wesentliche Rolle bei

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 66, S. 185 (1910).

der Bindung des Eisens anweist, das Hämatin und das De(hydrochlorid)hämin verhalten.¹⁾

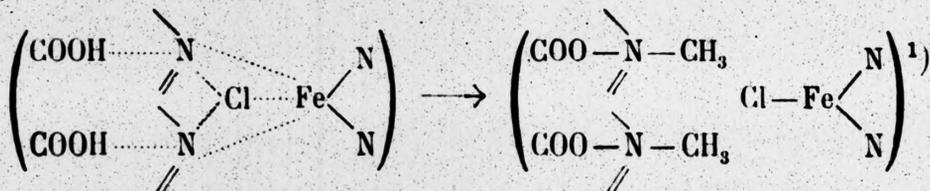
Die Beobachtung Willstätters, daß Hämin selbst bei 48stündiger Einwirkung trockenen Chlorwasserstoffs bei 110° nicht verändert wird, erschien mir daher als nicht geeignet, einen Schluß dahingehend zu ziehen, eine besonders geartete Bindung der Stickstoffatome stehe mit der Bindung des Eisens in einer Beziehung. Denn in diesem Falle mußten auch die erwähnten chlorfreien Derivate des Hämins, besonders das De(hydrochlorid)hämin, das ja durch Anlagerung von Chlorwasserstoff wieder in Hämin verwandelt werden kann, dieselbe Resistenz gegenüber der Salzsäure aufweisen. Das ist aber nicht der Fall: Hämatin und De(hydrochlorid)hämin verlieren auch bei der Einwirkung trockenen Chlorwasserstoffs Eisen, ohne daß es hierbei zu einer Bildung von Hämatoporphyrin kommt.²⁾ Dieses Resultat schließt sich also durchaus den Beobachtungen an, die wir mit wässriger Salzsäure unter Druck erübrigten und bereits veröffentlicht hatten. Und so kann ich im Anschluß mitteilen, daß auch ein wesentlicher Unterschied zwischen Hämin und seinem Dimethylester im Verhalten gegen Salzsäure besteht, der letztere verliert unter gleichen Bedingungen viel mehr Eisen als das Hämin selbst. Nun gibt meine Formulierung des Häminmoleküls auch für diese Beobachtung eine Auskunft, denn hier werden Beziehungen der Carboxyle zu den basischen Stickstoffatomen als ein Grund für die Latenz des basischen Charakters des Hämins angenommen. Die Carboxyle und die Chlorferrigruppe sollten im Verein die basischen Eigenschaften intramolekular absättigen. Nehmen wir an, daß unter bestimmten Bedingungen³⁾ das

¹⁾ Es sei auch darauf hingewiesen, daß schon Hoppe-Seyler angibt, das Eisen des Hämochromogens sei leichter entfernbar als das des Hämatins.

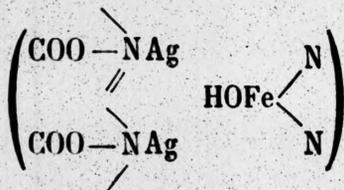
²⁾ Die entsprechenden Versuche sind nur qualitativ verfolgt worden.

³⁾ Es ist bereits veröffentlicht, daß die Lösung eines Dimethylhäminpräparats in Chloroform durch Hydrazin sichtbar leichter reduziert wird als die Lösung in Benzol, dort erfolgt also die Wegnahme des Chlors rascher. Andererseits wurde nach Abdestillation des Lösungsmittels aus einer benzolischen Lösung des Dimethylhämins eine Modifikation erhalten, die das Chlor fester gebunden hielt als frisch hergestelltes Dimethylhämin.

methylierte Carboxyl noch besser als das Carboxyl selbst geeignet ist, die basischen Stickstoffatome zu fesseln, indem eine betainartige Bindung eintreten kann, so folgt, daß im Dimethylester die Bindung des Chlors an die basischen Stickstoffatome zurückgedrängt sein wird, daß das Chlor vorwiegend mit dem Eisen verbunden sein wird und daß damit auch das Eisen aus seiner Bindung mit den basischen Stickstoffatomen verdrängt und daher leichter abspaltbar ist



Hier wäre auch daran zu erinnern, daß aus den Silber-salzen des Hämatins durch Essigsäure nur Eisen weggenommen wird, woraus gefolgert werden kann, daß das Silber am Stickstoff sitzt und daß diese Bindungsart die Festigkeit der Bindung des Eisens lockert.²⁾



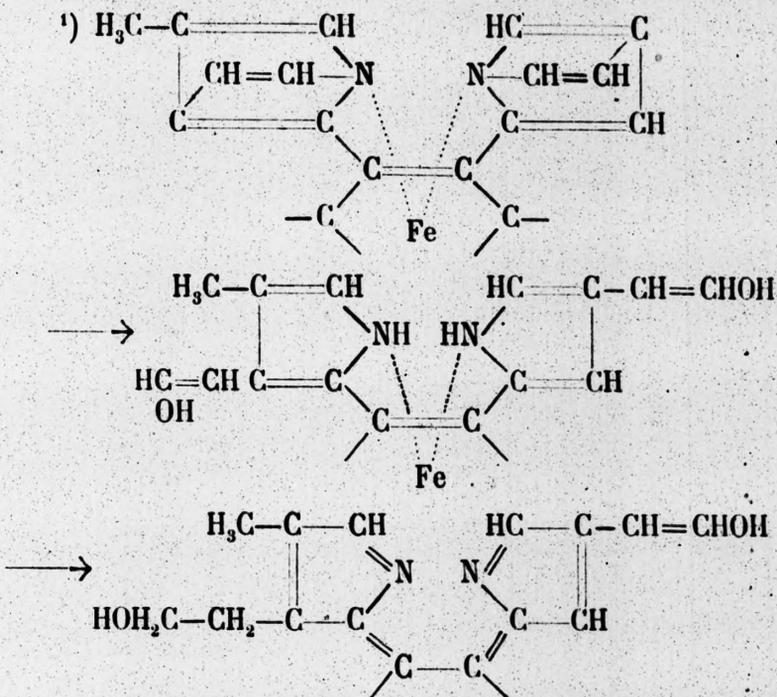
Nach Willstätter sind im Hämin basische Stickstoffatome nicht vorhanden, wenigstens formuliert er sie nicht,³⁾ sie bilden sich erst bei der Entstehung des Hämatoporphyrins durch eine Oxydation, während eine an anderer Stelle des Moleküls eintretende Reduktion — Bildung einer Gruppe $\text{CH}_2\text{OH} - \text{CH}_2 -$ aus einem Oxyäthylen — die Wirkung dieser

¹⁾ Aus der Salzsäurezahl Willstätters geht hervor, daß das Tetramethylhämatoporphyrin schwächer basisch ist als der Dimethyläther, dieser schwächer als der Dimethylester und daß das Hämatoporphyrin selbst sich als die stärkste Base erweist. Es wäre aber die umgekehrte Reihenfolge eher zu erwarten gewesen. Es scheint mir daher auch aus diesen Beobachtungen hervorzugehen, daß namentlich im Tetramethylderivat eine betainartige Bindung vorliegt.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 66, S. 208 (1910).

³⁾ Doch enthält Willstätters Formelbild, wie erwähnt, einen Pyridinring, der vielleicht basische Eigenschaften bedingen könnte.

Oxydation in bezug auf die empirische Formel kompensiert.¹⁾ Diese Erklärung erscheint mir gewagt,²⁾ wenn sie auch durch das von Willstätter beobachtete verschiedene Verhalten der beiden alkoholischen Hydroxyle des Hämatoporphyrins begründet erscheint.³⁾ Sie wird meines Erachtens nicht aufrecht erhalten werden können, wenn es nicht gelingt, den Nachweis zu erbringen, daß während irgend einer Operation bei der Herstellung des Hämatoporphyrins die erwähnte Oxydation wirklich stattfindet. Es müßte der Luftsauerstoff einwirken, doch bewirkt dieser nur sehr langsam die Oxydation der Leukobase,⁴⁾ denn ausgeschlossen ist eine oxydierende Wirkung des abgespaltenen



²⁾ Dakin und Dudley fanden, daß Glyoxal in Milchsäure übergehen kann, daß also gleichzeitig Oxydation und Reduktion an ein und demselben Molekül stattfand, diese Umwandlung wurde aber durch ein Enzym aus der Muskulatur oder aus der Leber von Hunden oder Kaninchen bewirkt. Zum gleichen Resultat kam Levene mit Leukocyten. *Chemisches Zentralblatt*, 13/1, S. 1586; 13/2, S. 162.

³⁾ Nach meiner Formulierung könnte sich beim Übergang vom Hämin in Hämatoporphyrin eine primäre und eine sekundäre Alkoholgruppe bilden.

⁴⁾ H. Fischer und H. Röse saugten durch die alkalische Lösung der aus 5 g Hämatoporphyrin dargestellten Leukobase 4 Tage lang einen kräftigen Luftstrom, um das Hämatoporphyrin wieder zu erhalten. *Diese Zeitschrift*, Bd. 88, S. 18 (1913).

für die Festigkeit der Bindung des Eisens, so zeigt doch das De(hydrochlorid)mesohämin eine größere Resistenz als das De(hydrochlorid)hämin, indem erst 25%ige Salzsäure Herausnahme von etwas Eisen bewirkt, wobei natürlich Mesoporphyrin entsteht. Es ist also nicht nur das Mesohämin beständiger als das Hämin, sondern es rangieren auch die erwähnten chlorfreien Derivate in derselben Reihenfolge. Danach spielen die Vinyle im Hämin ebenfalls eine, die Herausnahme des Eisens fördernde Rolle, vielleicht nur im Sinne einer «haptophoren» Gruppe, die geeignet ist, die Salzsäure an das Molekül zu verankern, so daß sie in nahe Berührung mit dem Eisen gelangt und so seine Abspaltung erleichtert, während das an Stelle der Vinyle Äthyle enthaltende Mesohämin für die Salzsäure schwieriger zugänglich ist. Gegen diese Erklärung scheint zu sprechen, daß gerade bei der Einwirkung verdünnter Salzsäure auf De(hydrochlorid)hämin die Porphyrinbildung nur in Spuren zu beobachten ist, die ja bei einer Anlagerung von Chlorwasserstoff erwartet werden sollte. Daß sie nicht in größerer Menge eintritt, verhindert aber die Oxydation der Vinyle durch das abgespaltene Eisenchlorid, wurde doch stets der größere Teil des Eisens als Ferroion nach der Abspaltung vorgefunden, während beim Hämin, aus dessen Molekül das Eisen schwieriger heraustritt, stets reichlichere Porphyrinbildung festgestellt werden konnte. Das beschriebene Verhalten des De(hydrochlorid)mesohämins alteriert also vorerst nicht meine dahingehende Ansicht, daß das Halogen auf die Festigkeit der Bindung des Eisens einen Einfluß ausübt. Denn daß das Halogen bei Umsetzungen eines Hämins in bestimmten Richtungen eine wichtige Rolle spielt, lehrte uns das Studium des Bromhämins, bei dem Beobachtungen gemacht wurden, die sich wenigstens zum Teil auf den weniger ausgeprägt negativen Charakter des Broms zurückführen lassen. Wir werden nach Abschluß der in dieser Hinsicht durchgeführten Arbeiten unsere Resultate veröffentlichen.

Was den unsymmetrischen Bau des Mesoporphyrins betrifft, den Willstätter formuliert, weil wir beim oxydativen Abbau bisher nur ein Molekül Methyläthylmaleinimid erhalten haben, so möchte ich bemerken, daß wir bisher auch nur

eine Molekel Hämatinsäure bei dieser Oxydation isolieren konnten. Wollte man den Ausbeuten also volle Rechnung tragen, so müßte auch der eine der beiden Komplexe des Hämins, die bei der Oxydation Hämatinsäure geben, bei der Bildung des Mesoporphyrins eine Umwandlung erfahren haben, nicht aber bei der Bildung des Hämatoporphyrins, denn gerade dieser Körper liefert zwei Moleküle Hämatinsäure in fast reinem Zustande bei der Oxydation.

Ferner möchte ich darauf hinweisen, daß das Formelbild Willstätters für Hämin einen Komplex enthält, der bei der Reduktion ein in β -Stellung nur monosubstituiertes Pyrrol liefern müßte. Das Auftreten eines solchen ist aber sehr zweifelhaft. Auch lassen die analytischen Daten m. E. eher auf eine Formel für das Hämin mit C_{34} als auf eine solche mit C_{31} schließen; das gilt auch für das Mesoporphyrin.¹⁾ Wenn Willstätter auch aus den Analysen für das Ätiophyllin resp. Ätioporphyrin berechtigt ist, für diesen Körper eine Formel mit C_{33} aufzustellen, so möchte ich doch nicht mit Willstätter schließen, daß aus diesem Grunde nun auch die Stammsubstanzen nur 33 Kohlenstoffatome besitzen müssen. Ist es doch wohl nicht ganz ausgeschlossen, daß erst bei der Herstellung des Ätiophyllins, die durch Erhitzen mit Natronkalk bewirkt wird, ein Kohlenstoffatom eliminiert wird. Und so kann ich mich auch nicht der Bezeichnung des Ätioporphyrins als einer «Stammsubstanz» anschließen. Erfolgt doch nach Willstätters Formulierung eine Umlagerung, wenn Hämin in Hämatoporphyrin und in Mesoporphyrin übergeht und dann erst die Abspaltung von Kohlendioxyd, die zum Ätioporphyrin führt. Das letztere ist also ein Kunstprodukt von großer Bedeutung als gemeinsames Abbauprodukt einerseits des Hämins, andererseits des Chlorophylls. Der Name «Stammsubstanz» aber sollte für den Körper reserviert bleiben, aus dem sich beide Farbstoffe auf natürlichem Wege bilden können, denn ich bin mit Nencki der Meinung, daß sich in der Tat für beide eine gemeinsame Abstammung wird herleiten lassen.

¹⁾ Vgl. z. B. auch die letzten Analysen von H. Fischer und H. Röse, Diese Zeitschrift, Bd. 88, S. 9 (1913).

Was mein Formelbild betrifft, das Willstätters Bedenken wegen des in ihm enthaltenen Ringes von 16 Gliedern herausgefordert hat, so möchte ich erstens darauf hinweisen, daß im Bilde des Hämins wenigstens der 16gliedrige Ring durch das zentrale Eisenatom in 4 sechsgliedrige Ringe zerfällt, während im Hämatoporphyrin allerdings der beanstandete Ring erscheint, der nun vielleicht gerade die Unbeständigkeit des letzteren gegenüber dem sehr stabilen Bau des Hämins erklären könnte. Spricht doch auch die Existenz des von H. Fischer und H. Röse hergestellten Tetrachlormesoporphyrins¹⁾ für das Vorhandensein von 4 die Pyrrolkomplexe verbindenden Methinen, wie ich sie angenommen habe, unter der Voraussetzung, daß die Substitution symmetrisch erfolgt ist. Zweitens möchte ich Willstätter auf seinen in Breslau gehaltenen Vortrag hinweisen, in dem er ausgeführt hat, daß die menschliche Phantasie zu arm gewesen ist, um Atomgruppierungen zu erfinden, wie sie in den Naturgebilden entdeckt worden sind.²⁾ Mir erscheint wenigstens dieser Ausspruch in einem gewissen Widerspruch mit dem Diktum zu stehen, wonach ein 16gliedriger Ring unwahrscheinlich ist. Drittens sei aber darauf hingewiesen, daß P. Ruggli³⁾ unlängst einen, wenn auch anders gearteten 16gliedrigen Ring auf synthetischem Wege erhalten hat.

Auf einige andere Differenzen werde ich zurückkommen, sobald die durch Willstätters Resultate angeregten experimentellen Untersuchungen abgeschlossen worden sind.

Experimenteller Teil.

Die unter I beschriebenen Versuche sind schon vor einigen Jahren ausgeführt worden im Anschluß an die im 66. Band dieser Zeitschrift beschriebenen und dann zu dem Zweck, die eisenfreie Muttersubstanz des Hämatins zu gewinnen. Sie führten in letzterer Hinsicht nicht zum Ziele. Salzsäure allein erwies sich durch das abgespaltene Ferrichlorid als ein Oxydations-

¹⁾ Chem. Ber., Bd. 46, S. 2460 (1913).

²⁾ Zeitschr. f. angew. Chemie 1913, S. 641.

³⁾ Liebigs Annal., Bd. 399, S. 174.

mittel für das Hämatin; ein wenig Jodwasserstoff haltende Salzsäure spaltete aus Dimethylhämin das Eisen bis auf 1% ab. Die erhaltene Substanz gab zwar bei der Analyse Werte, die fast Übereinstimmung zeigten mit den für die Muttersubstanz des Hämatins $C_{34}H_{34}O_4N_4$ berechneten, löste sich aber nicht in Natronlauge, woraus hervorgeht; daß die Carboxyle eine Umwandlung erfahren hatten, wahrscheinlich darin bestehend, daß Lactambindung eingetreten war, deren Wirkung in bezug auf die empirische Formel durch Wasseraufnahme an anderer Stelle des Moleküls ausgeglichen wurde. Jodwasserstoff haltende 25%ige Salzsäure nahm aus Dimethylhämin das gesamte Eisen heraus, die erhaltene Substanz erwies sich aber als jodhaltig. Unter gleichen Bedingungen nahm Hämatin über 10% Jod auf. Endlich führte die Einwirkung von Oxalsäure zu einem sehr eisenarmen Körper, der aber ebenfalls nicht mehr in Alkalien löslich war.

I.¹⁾ 1,031 g Dimethylhämin wurden mit 10 ccm 10%iger Salzsäure und einem Tropfen Jodwasserstoffsäure (spez. Gew. 1,96) in eine Röhre geschlossen und 14 Stunden in einer Magnesiumchloridlösung auf 115° erhitzt.¹⁾ Die Flüssigkeit zeigte danach schwache Porphyrinfarbe und enthielt 0,0890 g Fe_2O_3 , d. h. es waren 73,56% des vorhandenen Eisens abgespalten. Bei der wiederholten Einwirkung von 20 ccm 10%iger Salzsäure, die 5 Tropfen Jodwasserstoffsäure enthielten, wurden in 10 Stunden noch 0,0246 g Fe_2O_3 oder 20,33% des Eisens abgespalten, während sehr deutliche Porphyrinbildung stattgefunden hatte. Danach waren 0,9 g einer Substanz noch vorhanden, die an Salzsäure kein Porphyrin, an Alkohol kein Jod oder jodhaltige organische Substanz abgab, und die in Natronlauge auch beim Erwärmen nicht löslich war.

0,1385 g (bei 120° getrocknet) gaben 0,0020 g AgCl (Carius),

AgJ war nicht vorhanden.

0,1445 g gaben 0,3756 g CO_2 und 0,0797 g H_2O und 0,0019 Fe_2O_3 ,

(= 0,92% Fe).

$C_{34}H_{34}H_4O_4$. Ber.: 72,6 % C Gef.: 71,54% C) auf aschefreie Substanz
6,05% H 6,14% H) berechnet.

¹⁾ Bei 106° wurde nur sehr wenig Eisen fortgenommen.

2. 2 g Dimethylhämin wurden mit 30 ccm 25%iger Salzsäure und 2 Tropfen Jodwasserstoffsäure in eine Röhre geschlossen und drei Tage im Kochsalzbade erwärmt. Danach war der Inhalt der Röhre schwach rötlich gefärbt und enthielt 0,1372 g Fe gelöst (gef. 0,1960 g Fe_2O_3).¹⁾

Eine wiederholte Behandlung lieferte noch 0,02429 g Fe (gef. 0,0347 Fe_2O_3), so daß $83,6\% + 14,8\% = 98,4\%$ des vorhandenen Eisens abgespalten waren.

Die restierende Substanz löste sich in warmer Natronlauge, sowie zum größten Teil in konzentrierter Essigsäure auf, enthielt noch 0,67% CH_3 , sowie 0,25% Chlor und 5,05% Jod, trotzdem mit Alkohol behandelt worden war, bis nur noch Spuren von Jod neben anscheinend viel gebundenes Jod haltender organischer Substanz herausgelöst wurden.

0,2876 g Substanz (120°) gaben 0,030 g AgJ (Zeisel).

0,1531 » » (120°) » 0,0016 g AgCl und 0,0143 g AgJ (Carius).

3. Ein unter gleichen Bedingungen behandeltes De(hydrochlorid)hämatin erwies sich als eisenfrei geworden, enthielt aber 0,59% Chlor und 10,03% Jod chemisch gebunden.

0,1938 g Substanz (120°): 0,0046 g AgCl und 0,0368 g AgJ (Carius).

Bei einem zweiten Versuch wurde ein Präparat mit 0,18% Chlor und 10,24% Jod erhalten:

0,1535 g Substanz (120°): 0,0011 g AgCl und 0,0291 g AgJ, kein Eisen (Carius).

4. 1,4782 g Hämatin wurden mit 6 g Oxalsäure und 25 ccm Wasser in eine Röhre geschlossen und 2 Stunden auf 120° , nach dem Ablassen der Gase noch $8\frac{1}{2}$ Stunden auf 120° und 8 Stunden auf 90° erhitzt, wonach 0,1722 g Fe_2O_3 abgespalten waren oder 98,6% des vorhandenen Eisens.

Das erhaltene Produkt (1,25 g) war unlöslich in wässrigen Alkalien, beim Erwärmen mit alkoholischer Lauge trat allmählich Lösung ein.

0,2658 g Substanz gaben 0,0030 g $\text{Fe}_2\text{O}_3 = 0,79\%$ Fe.

0,1737 » » = 0,1723 g eisenfreie Substanz gaben 0,4378 g CO_2
und 0,0902 g $\text{H}_2\text{O} = 69,3\%$ C und $5,2\%$ H.²⁾

¹⁾ Die Röhre hatte ziemlich viel Zink abgegeben, so daß das Eisenhydroxyl mehrmals umgefällt werden mußte.

²⁾ Dieser Versuch ist von Herrn Dr. W. Spack ausgeführt worden.

