

Über das Hämatoporphyrin.

IV. Mitteilung.

Von

Willam Küster und Hugo Bauer.

(Aus dem Laboratorium für organische Chemie der Techn. Hochschule-Stuttgart.)

(Der Redaktion zugegangen am 28. April 1915.)

Die von R. Willstätter¹⁾ veröffentlichte Arbeit über die Bildung der Porphyrine aus Hämin enthielt verschiedene Angaben, die sich mit den von P. Deihle und W. Küster²⁾ ermittelten Befunden in Widerspruch befanden, auch in bezug auf die Bildung der Porphyrine stimmten unsere Ansichten in einem wesentlichen Punkt nicht überein.

a) Willstätter vermutete zunächst, daß der Befund, wonach bereits Aceton unter Abspaltung von Wasser auf Hämatoporphyrin eingewirkt habe, darauf zurückzuführen sei, daß die Präparate bei 120° getrocknet worden waren, wobei die Wasserabspaltung eingetreten sei. Bei der Wiederholung der Versuche, bei denen uns Herr G. Pröger unterstützte, haben sich nun bei der Analyse von Hämatoporphyrinpräparaten vor und nach der Behandlung mit Aceton bei Vermeidung des Trocknens bei höherer Temperatur einwandfreie Zahlen nicht ergeben, zum Teil sprachen sie für eine Wasserabspaltung, zum Teil dagegen. Dieser Punkt bedarf also noch weiterer Bearbeitung. —

b) Willstätter konnte unsere Angaben über den Dimethyläther des Hämatoporphyrins insofern nicht bestätigen, als er an Stelle unseres amorphen, bei 105° schmelzenden Präparates ein schön krystallisiertes, unschmelzbares Präparat

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 87, S. 424 (1913).

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

gewinnen konnte. Da nun unser Körper sich chemisch durchaus wie der erwartete Dimethyläther verhielt, also die Löslichkeit in Alkalien zeigte, ein Silbersalz gab, das drei Atome Metall enthielt und die berechnete Methylzahl daneben aufwies, war zu vermuten, daß unser Präparat noch eine Beimengung enthalten mußte, worauf auch der zu hoch befundene Kohlenstoffgehalt hinwies. In der Tat ist es uns gelungen, durch eine nur wenig abgeänderte Art der Darstellung, d. h. durch Ersatz der Salzsäure bei der Verseifung des Tetramethylhämatoporphyrins durch 10%ige Bromwasserstoffsäure, den Dimethyläther prächtig krystallisiert und unschmelzbar zu gewinnen. Wir vermuten daher, daß das von Deihle dargestellte Präparat durch die bei seiner Gewinnung benutzte Salzsäure gelitten hatte, bekommt man doch auch bei der Methylierung von Hämatoporphyrin mit Methylalkohol und Salzsäure niedrigschmelzende Produkte, und ist es wohl möglich, daß eine Beimengung von solchen das Schmelzen des ganzen Präparats vorgetäuscht hat. Deihle und Küster hatten den Moment als Schmelzpunkt angegeben, bei dem ein Zurückweichen der dunkeln Substanz vom Capillarrohr und ein Zerfließen der äußeren Schicht zu beobachten war.

c) Was die Bildung des Hämatoporphyrins betrifft, so vertrat Willstätter die Ansicht, daß sie nur möglich ist, wenn zu gleicher Zeit das Eisen des Hämins abgelöst wird, und so gab Willstätter ein von der Formulierung Küsters abweichendes Bild, das seiner Auffassung entsprechend in zwei Pyrrolkomplexen eine Brückenbindung vom Kohlenstoff zum Stickstoff gehend durch eine Gruppe $\text{HC}=\text{CH}-$ aufweist, so daß die Addition von Bromwasserstoff, die der Hämatoporphyrinbildung vorangeht, die Loslösung dieser Gruppe vom Stickstoff bewirkt und hierdurch die Lockerung des Eisens einleitet. Hand in Hand mit dieser Aufspaltung sollte bei der einen der beiden nunmehr vorliegenden Seitenketten eine Reduktion eintreten, die durch Oxydation an anderer Stelle des Moleküls ihren Ausgleich findet. Und erst durch die letztere kommen die basischen Eigenschaften des Hämatoporphyrins zustande.

Die Formulierung des Hämins durch Willstätter weicht von der Küsters dadurch ab, daß hier die basischen Eigenschaften bereits im Hämin vorgebildet sind, aber erst nach Entfernung des Eisens hervortreten können,¹⁾ während bei Willstätter die erwähnte komplizierte Umlagerung erst eintreten muß. Die einfachste Erklärung für einen chemischen Vorgang ist meines Erachtens aber die bessere. Zudem scheint es Willstätter aber gelungen zu sein, den bisher vergeblich²⁾ angestrebten experimentellen Beweis dafür zu erbringen, daß das Hämin in der Tat mit Säuren Salze bilden kann, d. h. daß die basischen Eigenschaften in ihm vorgebildet sind. Wenigstens spricht die Möglichkeit, aus seinem Dihydrobromid des Hämins durch Erhitzen wieder Hämin, wenn auch schwach verändert, zurück erhalten zu können, für eine einfache Anlagerung der beiden Bromwasserstoffmoleküle an basische Stellen. Vielleicht ist auch das Trihydrobromid des Hämins weiter nichts als ein Salz, was dann auf das Vorhandensein von 3 Pyrrolenkomplexen hinweisen würde, wie sie die Formel von W. Küster aufweist.

Wir haben nun ferner bei der Darstellung des Dimethyläthers des Hämatoporphyrins und bei der Oxydation des letzteren zwei Stoffe erhalten, die unsere Bedenken gegen die Formulierung durch Willstätter zu verstärken geeignet sind.

gerufen, als ob mein Bild für das Hämin der Konstitution desselben gerade so wenig gerecht geworden wäre, wie das von Piloty.

Dieser Ausspruch Willstätters steht aber in einem großen Gegensatz zu einem andern in dieser Zeitschrift gedruckten Satz (Bd. 87, S. 428), wonach mein Bild dem Verlauf der Oxydation und Reduktion Rechnung trägt und zu der Formulierung des Hämins durch Willstätter selbst, der die Pyrrolkerne samt ihren β -Substituenten so in sein Bild aufgenommen hat, wie ich es vor ihm getan habe, abgesehen von der «Brückenbindung», die wenig begründet ist, wie ich dargetan zu haben glaube. Auch unterscheidet sich mein Bild, was die Verknüpfung der Pyrrolkerne betrifft, so sehr von dem Bilde Pilotys, daß ich die Zusammenstellung, wie sie Willstätter geübt hat, für unzulässig erklären muß.

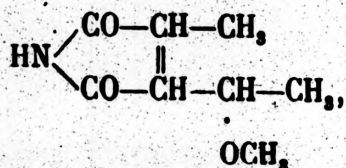
W. Küster.

¹⁾ Man vergleiche meine Ausführungen in dieser Zeitschrift, Bd. 82, S. 113 (1912) und Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 45, S. 1935 (1912).

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 82, S. 119, Anm. 3 (1912).

Bei der Darstellung des Hämatoporphyrindimethyläthers wurde nämlich ein eisenhaltiges Zwischenprodukt allerdings in geringer Menge isoliert, das bei der Analyse Werte gab, die kaum einen Zweifel darüber lassen, daß die Addition von Bromwasserstoff an das Hämin ohne Abspaltung von Eisen erfolgen kann. Auch ist es gelungen aus dem Dimethyl(brom)-hämin durch Einwirkung von Salzsäure das Eisen vollständig zu entfernen, wobei nur Spuren von Hämatoporphyrin gebildet wurden. Das eisenfreie Produkt krystallisierte in Pseudomorphosen nach dem verwendeten Hämin, und wenn auch die sauren Eigenschaften des Hämins verschwunden waren, so waren doch auch keine Anzeichen dafür vorhanden, daß eine Porphyrinbildung mit der Herausnahme des Eisens Hand in Hand gegangen wäre.

Bei der Oxydation des Hämatoporphyrindimethyläthers erhielten wir neben fast zwei Molekeln Hämatinsäure pro Molekel des Äthers ein methoxyliertes Imid, vorerst allerdings in geringer Ausbeute, d. h. also eine Molekel pro Molekel des Äthers. Dieser Befund, den wir natürlich zu verfolgen denken, würde erst dann gegen die Formulierung Willstätters sprechen, wenn es gelänge, die Ausbeuten zu verbessern,¹⁾ denn das Entstehen von einem Molekül eines solchen Imids sieht auch Willstätters Formulierung vor, wobei Voraussetzung ist, daß es sich um ein Methyl ω -Methoxyäthylmaleinimid handelt, was wir durch die Synthese desselben zu erfahren hoffen. Handelt es sich um das isomere Produkt

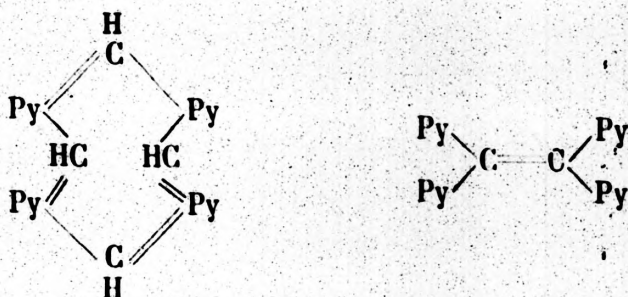


so wäre die Formulierung Willstätters definitiv widerlegt.

¹⁾ Das bisher erübrigte Resultat spricht natürlich auch nicht gegen meine Formulierung des Hämins, denn bei der Oxydation des Mesoporphyrins wurde neben einem Molekül Methyläthylmaleinimid auch nur ein Molekül Hämatinsäure erhalten, während zwei entstehen müssen in Analogie mit den Erfahrungen beim Hämin und Hämatoporphyrin. Wenn aus beiden Hämatinhälften wohlcharakterisierte Stoffe entstehen, scheint also die Oxydation leider weniger glatt zu verlaufen. Küster.

Die Brückenbindung steht natürlich auch mit der Auffassung von W. Küster in Widerspruch, wonach das Hämin in seinem organischen Teil ein Abkömmling des Chlorophylls ist. Die eine Komponente des letzteren ist ja eine vierbasische Säure und die Carboxyle sind höchst wahrscheinlich als Propion-säurereste vorhanden. Spalten zwei davon Ameisensäure ab, so wäre das Auftreten zweier «Vinyle» die Folge, wie sie das Bild Küsters für das Hämin aufweist. Im Bilirubin könnte dagegen durch eine weitere Veränderung die Brückenbindung sehr wohl zustande gekommen sein, wofür vieles spricht.¹⁾ Hier sei darauf hingewiesen, daß durch die Brückenbindung ein «Pyridinring» entsteht, dessen Vorhandensein dann die Leichtveränderlichkeit des Bilirubins erklären würde.

Die übrigen Abweichungen in der Formulierung des Hämins durch R. Willstätter von dem durch W. Küster gegebenen Bilde beziehen sich auf die Art der Verbindung der vier Pyrrolkomplexe. Sind hier vier Methine die Bindeglieder, so erscheint dort nur ein Paar von Kohlenstoffatomen, wie es die folgenden Schemate versinnbildlichen:



wozu noch bemerkt sei, daß die empirische Formel des Hämins nur 33 Kohlenstoffatome enthält, gegenüber den bisher angenommenen 34.²⁾

Mit der Auffassung Willstätters steht aber zunächst die Angabe von Piloty³⁾ nicht gut im Einklang, wonach bei der Reduktion des Hämatoporphyrins durch Natriumamalgam zu seiner Leukoverbindung⁴⁾ wahrscheinlich 8, sicher 6 Atome

¹⁾ Vergl. die Abhandlung auf S. 142 dieses Bandes.

²⁾ Vergl. die Anmerkung S. 139 dieses Bandes.

³⁾ Liebigs Annalen der Chemie, Bd. 377, S. 356 (1910).

⁴⁾ H. Fischer, Diese Zeitschrift, Bd. 88, S. 9 (1913).

Wasserstoff verbraucht werden; da nämlich das genannte Reduktionsmittel die in Willstätters Formel vorhandene Oxyäthylengruppe nicht angreifen dürfte, würden sich 2, höchstens 4 Wasserstoffatome als ausreichend erweisen, um den genannten Zweck zu erreichen. Und sollte bei der Reduktion des Hämins oder des Mesoporphyrins zum Porphyrinogen H. Fischers¹⁾ durch Eisessigjodwasserstoff wirklich erst die S. 173 erwähnte intramolekulare Umwandlung einsetzen, um dann durch das gleiche Mittel wieder aufgehoben zu werden? Das erscheint mir wenig wahrscheinlich, wenn auch die von H. Fischer ermittelte empirische Formel des Porphyrinogens $C_{34}H_{42}O_4N_4$, wonach bei der Reduktion des Hämins 8, bei der des Mesoporphyrins 4 Atome Wasserstoff aufgenommen werden, mit der Formel Willstätters vereinbar ist. Auch die Identität von Zaleskis²⁾ hydrogenisiertem Hämin, das durch Einführung von Eisen in das Mesoporphyrin entsteht, mit dem Mesohämin, das durch Reduktion des Hämins mit Hilfe von Kaliumäthylat dargestellt werden kann,³⁾ läßt sich an der Hand von Willstätters Formulierung erklären, aber nur dann, wenn mit einer bestimmten Voraussetzung gerechnet wird, die der Willkür nicht entbehrt. Zunächst muß bedingungslos zugegeben werden, daß die Einwirkung von Kaliummethylat bei hoher Temperatur die Umwandlung im Molekül mit sich bringen kann, welche zu einem Mesohämin führt, wie es dem Bilde Willstätters entspricht, d. h. Reduktion an der einen Stelle, Oxydation an einer andern. Die letztere betrifft nun die beiden Wasserstoffe, welche an den Stickstoffatomen der Pyrrolkomplexe 1 und 2 nach erfolgter Sprengung der Brückenbindung haften. Nur unter dieser willkürlichen Annahme führt die Methode von Zaleski aber zu einem mit dem Mesohämin identischen hydrogenisiertem Hämin, denn bei ihr kann es sich nur um einen

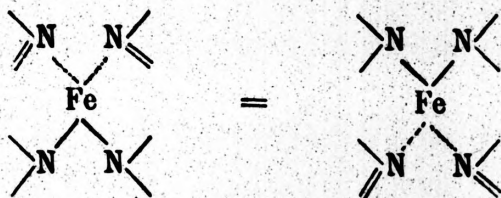
¹⁾ Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 46, S. 511 und Diese Zeitschrift, Bd. 84, S. 262. (1913).

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 43, S. 11 (1904).

³⁾ H. Fischer und H. Röse. Diese Zeitschr., Bd. 88, S. 15 (1913). R. Willstätter, Diese Zeitschrift, Bd. 87, S. 489 (1913) hat das Mesohämin durch Einwirkung konz. methylalkoholischer Kalilauge auf in Pyridin gelöstes Hämin bei 200° hergestellt.

Ersatz von am Stickstoff haftenden Wasserstoffatomen durch Eisen handeln.¹⁾ Es ist aber m. E. kein Grund vorhanden dafür, daß die erwähnte Oxydation nicht an den Pyrrolkomplexen 1 und 3 oder 2 und 4 eintreten könnte, wenn man nicht gerade die Identität von Mesohämin und hydrogenisierten Hämin als Grund anzuführen sich entschließt, was natürlich ganz logisch gedacht ist, aber der Natur Gewalt antun heißt. Und diese Fesseln, die wir der Natur anlegen, sind unsere Striche und Doppelbindungen zwischen den Atomen, sind Ausdrücke wie Haupt- und Nebervalenzen!

Denn die einzige Folge, welche die voraussetzungslose Annahme hätte, daß die Wanderung von Wasserstoffatomen beliebiger Pyrrolkomplexe, z. B. 3 und 4 zu der Seitenkette des Komplexes 1 erfolge, wäre die, daß wir dann einen fast mathematisch sicher aussehenden Beweis dafür in Händen hätten, daß Haupt- und Nebervalenzen nicht voneinander verschieden sind, was durch das folgende Schema ausgedrückt werden kann:



Lassen wir nun beim Hämin die Haupt- und Nebervalenzen fallen, so bleibt die Vorstellung übrig, daß das Eisen gleichartig mit allen vier Stickstoffatomen der vier Pyrrolkomplexe verbunden ist, was möglich ist, wenn abwechselnd je zwei davon basische Eigenschaften haben. Wahrscheinlich stehen aber auch die zentralen Kohlenstoffatome²⁾ mit dem Eisen in Beziehung, denn es ist wohl die natürlichste Annahme

¹⁾ Der Umstand, daß das in der Ferroform eingeführte Metall im Mesohämin selbst dreiwertig ist, läßt allerdings an eine gleichzeitig stattfindende Reduktion des organischen Teils denken.

²⁾ Ob diese Gruppe >C=C< im Hämin vorhanden ist oder nicht, wird davon abhängen, ob es gelingt, bei der Reduktion α -Äthyl substituierte Hämopyrrole oder Hämopyrrolcarbonsäuren zu gewinnen. Vergleiche O. Piloty, Liebigs Annalen, Bd. 406, S. 346 (1914).

die, daß die ein Molekül bildenden Atome miteinander in Beziehung treten können, und jedenfalls beeinflußt das Eisen im Hämin das Gesamtverhalten derartig, daß wir die Gesamtkonfiguration als vom Eisen abhängig auch bildlich zum Ausdruck bringen sollten.

Experimenteller Teil.

Bei der Herstellung des Tetramethylhämatoporphyrins und des Dimethyläthers des Hämatoporphyrins nach der Methode, welche Küster und Deihle¹⁾ angewandt hatten, war ein in Äther lösliches, aus dieser Lösung aber nicht in Salzsäure übergehendes Produkt erhalten worden, das sich als eisenhaltig erwies und allem Anschein nach ein Zwischenprodukt vorstellte, das aus dem Hämin lediglich durch Anlagerung von Bromwasserstoff und Ersatz des Broms durch Methoxyl hervorgegangen war. Die Reindarstellung gelang aber nicht und zwar anscheinend aus dem Grunde, daß unser Stoff sowohl Brom wie Chlor am Eisen enthielt, war doch vom α (Chlor)hämin ausgegangen worden, das dann mit Bromwasserstoffeisessig und schließlich wieder mit Salzsäure behandelt worden war und hatten dann weitere Versuche²⁾ ergeben, daß die Halogene sehr leicht gegeneinander ausgetauscht werden können. Da nun der erwartete Körper für den Chemismus der Hämatoporphyrinbildung von entscheidender Bedeutung war³⁾ und ein noch von der ersten Darstellung übriger sehr kleiner Rest eines Präparates, das aus ätherischer Lösung nicht in Salzsäure übergang, in prächtige, häminähnliche Kristalle übergeführt werden konnte,⁴⁾ beschlossen wir die Wieder-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 86, S. 51 (1913).

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 91, S. 115 (1914).

³⁾ Vergl. die Einleitung.

⁴⁾ Das Präparat konnte der ätherischen Lösung durch Kaliumcarbonat entzogen werden; aus dieser Lösung wurde es durch verdünnte Schwefelsäure gefällt, ausgewaschen und im Vakuum getrocknet. Bei 100° verlor es dann 1,5% an Gewicht. Die Analyse stimmte fast auf ein Anlagerungsprodukt von zwei Molekeln Methylalkohol an Hämin mit Ausnahme des Chlorgehalts, das also durch die Behandlung mit Kaliumcarbonat nicht oder nur zu einem Teil herausgenommen worden

holung der Versuche unter zweckentsprechender Vermeidung chlorhaltiger Stoffe.

5 g umkrystallisiertes Acet(brom)hämin wurden in Portionen von je 0,5 g in 75 ccm Eisessigbromwasserstoff (spez. Gew. 1,41)¹⁾ eingetragen und das Gefäß — eine weithalsige Stöpselflasche — nach jedem Eintragen bis zur Lösung geschüttelt. Der Inhalt von drei solcher Flaschen wurde dann in einen Fraktionskolben von ca. 2 l Inhalt überführt und unter vermindertem Druck aus dem Wasserbade abdestilliert, wobei ein starkes Stoßen kaum zu vermeiden war. Der Rückstand wurde dann in 100 ccm Methylalkohol-Kahlbaum unter Erwärmen gelöst und die Lösung nach dreistündigem Stehen in ein Becherglas filtriert, wobei zum Nachspülen noch 20 ccm Methylalkohol verwendet wurden. Ein Rückstand hinterblieb nicht. Das Filtrat wird jetzt mit einer Auflösung von 4 g Kaliumhydroxyd in 25 ccm Methylalkohol versetzt und nach einiger Zeit der aus Ferrihydroxyd und Kaliumbromid bestehende Niederschlag abfiltriert. Das Filtrat wird im Scheidetrichter mit ca. $\frac{3}{4}$ l Äther versetzt und solange gewaschen bis eine Probe der wässerigen Lösung eine Reaktion auf Eisen nicht mehr gibt. Jetzt zieht man die ätherische Lösung solange mit 10%iger Bromwasserstoffsäure aus, bis letztere sich kaum noch anfärbt, wozu etwa 500 ccm der Säure in Portionen von 50 ccm gebraucht werden. Im Äther verbleibt das gesuchte eisenhaltige Zwischenprodukt, das dem Lösungsmittel eine braunrote Farbe verleiht (siehe Seite 185). Die wie angegeben erhaltene Lösung des bromwasserstoffsäuren Tetramethylhämatoporphyrins blieb, um die Verseifung der Ester-methyle zu erreichen, 4 Tage bei Zimmertemperatur stehen,

war. Der noch vorhandene Rest löste sich in Methylalkohol, worauf auf Zusatz von Salzsäure allmählich eine Fällung eintrat, die in prachtvollen Nadeln krystallisierte.

0,1355 g Sbst. (100°): 0,2968 CO₂, 0,0744 H₂O und 0,0160 Fe₂O₃.

0,0290 g Sbst. (100°): 0,0040 AgCl (Carius).

0,1375 g Sbst. (100°): 0,0986 AgJ (Zeisel).

C₃₆H₄₀O₆N₄FeCl. Ber.: 60,38% C, 5,59% H, 7,83% Fe, 4,9% Cl, 4,2% CH₃.

Gef.: 59,75 % 6,1 % 8,27 % 3,4 % 4,57 %

¹⁾ Willstätter, Diese Zeitschrift, Bd. 87, S. 460 (1913).

worauf sie durch Natronlauge annähernd neutralisiert und dann durch Natriumacetatlösung gefällt wurde. Es wurde nunmehr versucht, die Fällung direkt in große Mengen von Äther überzuführen, doch löste sie sich nur zum Teil auf, so daß zwischen der ätherischen und der wässerigen Lösung eine Mittelschicht entstand. Sie wurde getrennt behandelt, da mit der Möglichkeit zu rechnen war, daß sich zwei verschiedene Produkte gebildet hatten, namentlich im Hinblick auf die von Willstätter vertretene und auch von H. Fischer geäußerte Ansicht, wonach im Hämatoporphyrin nur 33 Kohlenstoffatome vorhanden sein sollen. War es doch nicht ausgeschlossen, daß sich das Hämin schließlich als ein Gemisch eines Körpers mit 33 und eines solchen mit 34 Kohlenstoffatomen entpuppen könnte. Ich will aber gleich hinzufügen, daß sich unsere Hoffnung, den Streit um die empirische Zusammensetzung des Hämins in dieser beide Teile befriedigenden Weise zu erledigen, nicht erfüllt hat, denn wenn auch einige Anhaltspunkte, z. B. das Auftreten verschiedener Krystallformen und selbst einige Analysen, zunächst für die Verschiedenheit der Präparate sprechen, so kann doch die Gesamtheit der Analysen nur dahin gedeutet werden, daß ein für 34 Kohlenstoffatome zu niedrig befundener Wert auf die Schwerverbrennlichkeit der Hämatoporphyrine zurückgeführt werden muß.

Die, wie beschrieben, erhaltene ätherische Lösung (ca. 1 l) wurde mit Natriumsulfat getrocknet und dann etwas mehr als die Hälfte des Lösungsmittels abdestilliert. Nach 15 stündigem Stehen hatte sich das Hämatoporphyrinderivat in dunkelrot-violetten Krystallen abgeschieden, die unter dem Mikroskop betrachtet die Form der Teichmannschen Krystalle besaßen. Sie wurden abgesaugt und im Vakuum getrocknet. Einen Schmelzpunkt besaßen sie nicht. Aus den Eigenschaften und der Bestimmung des Methoxyls ging zweifellos hervor, daß der gesuchte Dimethyläther des Hämatoporphyrins vorlag.

0,0875 g Subst. gaben 0,0640 AgJ (Zeisel) = 4,73% CH_3 , ber. 4,79%.

In Sodalösung und in verdünntem Ammoniak war die Substanz glatt löslich. Ihrer ätherischen Lösung läßt sie sich durch 2%ige Salzsäure vollständig entziehen, während sie

aus derselben Lösung durch 0,25%ige Salzsäure nicht weggenommen wird.¹⁾

Der Versuch wurde in der Weise ausgeführt, daß 5 ccm einer gesättigten methylalkoholischen Lösung mit 25 ccm Äther gemischt wurden, worauf der Methylalkohol durch dreimaliges Ausschütteln mit je 10 ccm Wasser entfernt wurde. Schüttelt man jetzt mit 0,25%iger Salzsäure, so nimmt letztere kaum Spuren des Farbstoffs auf, während 2%ige die ätherische Lösung vollkommen entfärbt.

Die Analysen der aus der ätherischen Lösung ausgefallenen Krystalle gab zunächst kein befriedigendes Resultat (I), ein solches wurde aber erhalten, als die Substanz mit Hilfe von Methylalkohol umkrystallisiert worden war, in dem sie sich beim schwachen Erwärmen löst, um dann nach einiger Zeit in Form von feinen Nadeln wieder auszufallen (II).

Ganz das gleiche Verhalten zeigte auch der zunächst nicht in Äther übergegangene Anteil, der, wie erwähnt, in der Mittelschicht verblieben war und durch Filtration der wässrigen Lösung abgetrennt werden konnte. Er erschien amorph, hatte keinen Schmelzpunkt und erwies sich durch die Methoxylbestimmung wie durch die Analyse (III) als Dimethyläther des Hämatoporphyrins.

0,0945 Sbst. (i. V.) gaben 0,067 AgJ (Zeisel) = 4,55% CH₃, ber. 4,79%.

Durch Behandeln mit Methylalkohol konnte er in die gleichen feinen Nadeln übergeführt werden, die am ersten Präparat beobachtet worden waren.

Analysen.

I. 0,1416 g Sbst. bei 55° getrocknet, wobei ein Gewichtsverlust von 1,66% dem Vakuum gegenüber eingetreten war, gaben 0,3515 g CO₂ und 0,0855 H₂O.

II. 0,1260 g Sbst. bei 60° getr. (Verlust hierbei 0,4%): 0,3182 CO₂, 0,0779 H₂O.

III. 0,1484 g Sbst. bei 55° getr. (Verlust hierbei 1,6%): 0,3750 CO₂, 0,0894 H₂O.

¹⁾ Willstätters Angaben, Diese Zeitschrift, Bd. 87, S. 474, entsprechend.

$C_{30}H_{43}O_6N_4$	Ber.:	69,0%	C,	6,7%	H.
	I. Gef.:	67,96	›	6,71	›
	II. ›	68,88	›	6,87	›
	III. ›	68,92	›	6,7	›

Der Dimethyläther des Hämatoporphyrins bindet im Gegensatz zum Hämatoporphyrin nur zwei Moleküle Ammoniak in wässriger Lösung.

0,1905 g Substanz wurden in 25 ccm $1/10$ n-NH₃ gelöst und durch die Lösung ein Luftstrom in 25 ccm $1/10$ n-HCl geleitet, bis eine Aufnahme von Ammoniak nicht mehr festzustellen war, was in etwa 7 Stunden erreicht war. Zum Zurücktitrieren waren 5,5 ccm $1/10$ n-Alkali nötig.

$C_{30}H_{43}O_6N_4 \cdot 2 NH_3$. Ber. 2 NH₃: 6,08 ccm. Gef.: 5,5 ccm.

Das aus dem Ammoniumsalz dargestellte Silbersalz enthielt aber drei Atome Metall.

0,2135 g Substanz gaben nach der Veraschung und Lösen der Asche in Salpetersäure 0,0980 g AgCl.

$C_{30}H_{39}Ag_3O_6N_4$. Ber.: Ag 34,21%. Gef. 34,5%.

Einwirkung von Diazomethan auf den Hämatoporphyrindimethyläther.

Bei dem Versuch, Bilirubin mit Hilfe von Diazomethan zu verestern, hatte sich gezeigt, daß der Zweck zwar erreicht wird, daneben aber eine Anlagerung von Diazomethan stattfindet. Es war daher von Wichtigkeit festzustellen, ob sich beim Hämin und seinen Derivaten eine ähnliche Reaktion vollzieht. Die Versuche haben nun gezeigt, daß dies nicht der Fall ist, wodurch ein weiterer wesentlicher Unterschied in der Konstitution dieser Farbstoffe dem Bilirubin gegenüber angezeigt wird. Während aber die Veresterung des Hämins durch Diazomethan auf Schwierigkeiten stößt, worüber nach Abschluß der Versuchsreihen berichtet werden wird, vollzieht sich die Veresterung des Dimethyläthers des Hämatoporphyrins äußerst rasch und glatt und führt zu dem bereits bekannten Tetramethylhämatoporphyrin, und zwar wurde ein und dasselbe Produkt aus dem krystallisierten sowohl wie aus dem zunächst amorph abgeschiedenen Dimethyläther erhalten.

1 g Hämatoporphyrindimethyläther wurde in 30 ccm Chloroform suspendiert und hierzu die ätherische Lösung von aus 2 g Nitrosomethylurethan entwickelten Diazomethan geleitet, wobei unter gelinder Erwärmung und deutlicher Gasentwicklung vollständige Lösung eintritt. Die Mischung wurde dann zwei Tage bei Zimmertemperatur stehen gelassen, worauf die Lösungsmittel im Vakuum abgedampft wurden. Der Rückstand ließ sich aus warmem Methylalkohol umkrystallisieren und wies alle dem Tetramethylhämatoporphyrin zukommenden Eigenschaften auf. Was den Schmelzpunkt betrifft, so wurde er je nach Art des Erhitzens etwas verschieden beobachtet. Meist wurde er bei 158° liegend und nicht ganz scharf eintretend beobachtet. Willstätter gibt für sein Präparat 163° an.

Präparat I aus dem amorphen Dimethyläther hergestellt.

1. 0,2291 g Sbst. bei 55° getr., keine Abnahme gegenüber dem Vakuum, gaben 0,5723 g CO_2 und 0,1423 g H_2O .

2. 0,1717 g Sbst. (bei 55° 0,3% Abnahme) gaben 0,4427 g CO_2 und 0,1095 H_2O .

Präparat II aus dem krystallisierten Dimethyläther hergestellt.

1. 0,1701 g Sbst., bei 90° getr., wobei keine Abnahme, gaben 0,4270 CO_2 und 0,1015 H_2O .

2. 0,1948 g Sbst., bei 90° getr., wobei 1% Abnahme, gaben 0,4985 CO_2 und 0,1240 H_2O .

0,1169 g Sbst. gaben 0,1650 AgJ (Zeisel).

0,1315 g Sbst. gaben 10,5 ccm N bei 11° und 722 mm B.

$\text{C}_{38}\text{H}_{46}\text{O}_6\text{N}_4$. Ber.: 69,72% C, 7,04% H, 8,56% N, 9,2% CH_2 .

I. Gef.: 68,13 > 6,90 > — > —

70,32 > 7,1 > — > —

II. > 68,46 > 6,61 > — > —

69,79 > 7,08 > 9,00% N, 9,2% CH_2 .

Der Dimethylester des Dimethoxyhämins, also das bei der Herstellung des Hämatoporphyrindimethyläthers aus dem Hämin nur durch Anlagerung von Bromwasserstoff und Ersatz der Bromatome durch Methoxyl unter gleichzeitiger Veresterung, ohne Abspaltung von Eisen hervorgegangene Produkt, bleibt, wie S. 181 beschrieben worden ist, im Äther gelöst zurück und erteilt diesem braunrote Farbe. Zur Isolierung wurde die ätherische Lösung gewaschen und getrocknet, und dann das Lösungsmittel abdestilliert. Bei Verwendung von

15 g (Brom)hämin hinterblieben 0,8 g eines undeutlich krystallinen Rückstands, der von 5%iger Sodalösung in der Hitze nur ganz schwach angegriffen wurde.

Eine Probe gab an 1%ige wässrige Natronlauge keine Substanz ab, sie löste sich in Äther mit braungelber Farbe, wurde dann die ätherische Lösung mit 12%iger Salzsäure geschüttelt, so trat ein Umschlag der Farbe in braunrot ein.

0,1149 g Sbst i. V. und bei 90° getr., wobei keine Abnahme eintrat, gaben:

0,2431 g CO₂, 0,0578 H₂O und 0,0121 g Fe₂O₃ (Asche).

0,1662 g Sbst. gaben 0,0485 g AgBr (Carius).

0,0965 g Sbst. gaben 0,1115 g AgJ (Zeisel).

C₃₈H₄₄O₆N₄FeBr:

Ber.: 57,87% C, 5,58% H, 7,11% Fe, 10,15% Br, 7,62% CH₃.

Gef.: 57,70 % 5,59 % 7,37 % 12,4 % 7,37 %

Zur Kontrolle der Halogenbestimmung wurde der Farbstoff verseift, was durch wässrige Natronlauge nicht gelang, wohl aber beim Erwärmen mit methylalkoholischer Lauge. Die durch Essigsäure wieder gefällte Substanz gab dann an alkoholisches Alkali kein Halogen mehr ab, löste sich nur schwer in Methylalkohol, sofort auf Zusatz eines Tropfens Schwefelsäure und wurde dann durch Salzsäure wieder gefällt, wobei wieder Veresterung eintrat, da der nunmehr erhaltene Körper aus ätherischer Lösung nicht mehr in Kaliumcarbonatlösung überging.

Der Rückstand der ätherischen Lösung krystallisierte nur undeutlich, er enthielt 5,19% Chlor (0,0700 g Substanz: 0,0147 g AgCl [Carius]).

C₃₈H₄₄O₆N₄FeCl. Ber.: 4,75% Cl.

Über die Oxydation des Hämatoporphyrindimethyläthers.

Wenn die Addition von Bromwasserstoff bei der Überführung des Hämins in Hämatoporphyrin an Vinylen erfolgt, war zu erwarten, daß der Dimethyläther des Hämatoporphyrins, der sich unter Ersatz der Bromatome durch Methoxyle bildet, bei der Oxydation nicht nur Hämatinsäure geben würde, sondern auch das Imid einer Methyläthylmaleinsäure, die in der

Äthylgruppe ein Methoxyl enthielt, getreu nach dem Bild, das W. Küster vom Hämin entworfen hat. Daß der Versuch den gehegten Erwartungen entsprochen hat, möge aus der folgenden Beschreibung erhellen, welche die einzigen bisher in der angegebenen Richtung ausgeführten Versuche enthält. Zu einer Auflösung von 5 g Hämatoporphyrindimethyläther in 400 ccm 20%iger Schwefelsäure wurde zunächst die Lösung von 8 g Chromtrioxyd hinzugegeben, welche Menge 15 Atome Sauerstoff auf die Molekel des Äthers berechnet, gleichkommt. Es entstand hierbei eine dunkelrote Abscheidung, wahrscheinlich ein Chromat, die bei Zimmertemperatur nicht verschwand; dies trat aber sofort bei gelindem Erwärmen auf dem Wasserbade ein, wobei sich eine gelinde Kohlensäureentwicklung zeigte, und nach kurzer Zeit ergab eine Probe, daß Chromsäure nicht mehr vorhanden war. Es wurde nun solange Chromtrioxyd in Portionen von 0,5 g zugegeben bis nach schwachem Erwärmen ein kleiner Überschuß von Chromsäure nachgewiesen werden konnte, was nach Verbrauch von 3 g Chromtrioxyd eintrat. Im ganzen waren somit 21 Atome Sauerstoff pro Molekel des Äthers verbraucht worden, also genau ebensoviel wie zur vollständigen Oxydation von Hämin von uns als nötig befunden worden ist. Nun wurde die Lösung mit Äther extrahiert und die ätherischen Extrakte mit Sodalösung ausgeschüttelt.

Bei einem zweiten Versuch mit ebenfalls 5 g Hämatoporphyrindimethyläther wurden die gleichen Erfahrungen gemacht.

1. Die Sodalösungen wurden dann wieder angesäuert und mit Äther erschöpfend extrahiert, wobei im ganzen 5 g Hämatinsäure, fast rein, erhalten wurden; der Schmelzpunkt lag bei 92° , es handelte sich also um ein Gemisch der Hämatinsäuren $C_8H_9O_4N$ und $C_8H_9O_5$. Nach der Verseifung durch Barytwasser, wobei das Baryumsalz der letzteren sich bildete und als unlöslich sich abschied, und nach Zerlegung dieses Salzes durch Salzsäure und Ausäthern der Lösung, konnte dann durch Abdestillation des Lösungsmittels und einmaliges Umkrystallisieren aus Wasser die Hämatinsäure $C_8H_9O_5$ rein erhalten werden. Schmelzpunkt 96° .

2. Die mit Sodalösung ausgeschüttelten Ätherextrakte hinterließen nach dem Trocknen mit Natriumsulfat durch Abdestillation des Lösungsmittels ein hellgelbes Öl, das sehr bald krystallinisch wurde. Diese Masse konnte aus warmen Wasser umkrystallisiert werden, nach Wiederholung der Operation änderte sich der Schmelzpunkt — 59° — nicht mehr.

Eine qualitative Probe zeigte den Stickstoffgehalt an, beim Kochen mit Natronlauge entwickelte sich Ammoniak.

0,1505 Sbst. (i. V.) gaben 0,3105 CO_2 und 0,0946 H_2O .

0,1225 Sbst. (i. V.) gaben 0,1730 AgJ (Zeisel).

$\text{C}_8\text{H}_{11}\text{O}_3\text{N}$. Ber.: 56,80% C, 6,52% H, 8,88% CH_3 .
Gef.: 56,27 % 6,98 % 9,0 %

Die quantitative Bestimmung des Stickstoffs durch Kochen mit titrierter $\frac{1}{10}$ n-Natronlauge scheiterte an der unter den gewählten Bedingungen Schwerverseifbarkeit des Stoffes, immerhin konnte ermittelt werden, daß eine zweibasische Säure entstanden sein mußte. Als die Entwicklung von Ammoniak beendet zu sein schien, wurde nämlich zurücktitriert.

0,303 g Substanz hatten verbraucht 27 ccm $\frac{1}{10}$ n-NaOH, während sich zur Verseifung eines Imids $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{O}_3\text{N}$ 35,7 ccm berechnen.

Zur vollständigen Verseifung wurde dann noch mit stärkerer Lauge einige Zeit erhitzt, nach dem Abkühlen ausgeäthert, dann angesäuert und wieder ausgeäthert. Der Rückstand der letzten ätherischen Lösung erschien als fast farbloses Öl, das zunächst nicht zum Erstarren gebracht werden konnte. Aus einem Teil desselben wurde das Silbersalz hergestellt und in farblosen Nadeln erhalten.

0,0389 g (i. V. getr.) = 0,0207 Ag.

$\text{C}_8\text{H}_{10}\text{Ag}_2\text{O}_3$. Ber.: 53,73% Ag

Gef.: 53,21 %

Über die Herausnahme des Eisens aus α - und β -Dimethyl(brom)hämin.

Der Ausspruch Willstätters¹⁾, daß das Eisen noch mit keinem Mittel aus Hämin selbst abgespalten wurde, steht in

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 87, S. 433 (1913).

Zusammenhang mit seiner Annahme, daß die Lockerung des Eisens der erste Schritt zur Porphyrinbildung ist, was sich mit meinen Anschauungen im wesentlichen deckt, muß aber dahin ergänzt werden, daß zwar mit der Loslösung des Eisens Porphyrinbildung Hand in Hand gehen kann, daß aber auch andere Stoffe sich dabei bilden können. Wenigstens zeigten die von mir unter der Einwirkung verschiedener Säuren aus Hämin und Hämatin erhaltenen Substanzen noch den Habitus der Stoffe, aus denen sie hervorgegangen waren, und es ist nicht anzunehmen, daß sie aus primär gebildeten Porphyrinen durch sekundäre Reaktionen entstanden waren. Dagegen spricht die Tatsache, ¹⁾ daß 10% ige Salzsäure aus Hämatin bei 130° vier Fünftel des vorhandenen Eisens eliminiert hatte, ohne daß ein Porphyrin entstanden war. Dies trat erst bei höherer Temperatur ein. Auch wurde festgestellt, daß gerade nur das Hämin selbst sehr widerstandsfähig gegen Säuren ist, daß aber Hämatin und die Salze desselben, daß endlich auch die Ester des Hämins das Eisen leichter verlieren. Und so steht fest, daß das Eisen aus Derivaten des Hämins herausgelöst werden kann, ohne daß Porphyrinbildung eintritt, wenn auch bei diesen Reaktionen chemische Individuen in krystallisiertem Zustande noch nicht erhalten werden konnten, weil die zur Herausnahme des Eisens nötige hohe Temperatur wahrscheinlich in verschiedener Richtung Veränderungen hervorruft. Charakteristisch ist aber jedesmal, daß es zur Bildung alkali- und säureunlöslicher Körper kommt. Dies hat sich auch wieder gezeigt, als die Dimethylester des α - und des β -Bromhämins ²⁾ mit Salzsäure behandelt wurden, wobei 25% ige Säure das Eisen vollständig entfernte, wodurch der Gegensatz zum Hämin selbst wieder deutlich hervortritt, das unter fast gleichen Bedingungen kaum die Hälfte seines Eisens abgibt.

0,518 α -Dimethyl(brom)hämin gaben beim Erhitzen mit 10 ccm 10% iger Salzsäure auf 130° 11,8% des vorhandenen Eisens ohne Porphyrinbildung ab, eine erneute Behandlung

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 66, S. 173 (1910).

²⁾ Die Präparate sind beschrieben, Diese Zeitschrift, Bd. 91, S. 127 und 142.

mit 10 ccm 25%iger Salzsäure lieferte noch 86,3% des Eisens. Die Temperatur stieg hier bis 150°, dabei hatte sich etwas Porphyrin gebildet.

Der enteisente Stoff krystallisierte noch in den Formen des verwendeten Hämins, war aber in Natronlauge selbst beim Erhitzen nicht löslich, trotzdem fast vollständige Verseifung eingetreten war.

Die Analyse ergab 67,08% C und 5,48% H, nur Spuren von Eisen.

(0,1210 g Subst. [110°]: 0,2976 CO₂ und 0,0605 H₂O.)

0,0983 g Subst. (115°): 0,0208 AgJ = 1,35% CH₃, die Verseifung war also nicht vollständig geworden.

Der zweite Versuch betrifft das β-Dimethyl(brom)hämin und zeigt, daß sich dieser Ester des Eisens noch rascher berauben läßt wie der der α-Form, gerade so wie β-Hämin schneller Eisen verliert als α-Hämin.

0,4307 g Substanz gaben an 9 ccm 10%ige Salzsäure bei 130° 24,4% des vorhandenen Eisens ab ohne Porphyrinbildung, bei darauf folgendem Erhitzen mit 10 ccm 25%iger Salzsäure wurde der Rest des Eisens abgespalten, die Temperatur stieg bis 150°, Porphyrinbildung war eingetreten.

Der enteisente Stoff enthielt 64,95% C und 6,54% H.

0,1156 g Subst. (110°): 0,2753 CO₂ und 0,0671 H₂O, kein Eisen.

Für die Beschaffung und Untersuchung des Materials wurden Mittel verwendet, die mir von der Gesellschaft deutscher Naturforscher und Ärzte aus der «Adelheid-Bleichröder-Stiftung» gewährt worden waren. Es sei mir gestattet, auch an dieser Stelle meinen ergebensten Dank zum Ausdruck zu bringen.

Stuttgart, am 26. April 1915.

W. Küster.
