

# CHLOROPHYLL.

Von

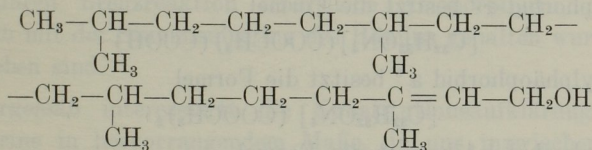
**HANS FISCHER.**

Aus dem Organ.-chem. Institut der Techn. Hochschule München.

(Eingelangt am 24. Oktober 1936.)

Der Blattfarbstoff ist eine zusammengesetzte Verbindung von wachsartigem Charakter, bestehend aus einer magnesiumhaltigen Pyrrolkomponente und den Alkoholen Phytol  $C_{20}H_{40}O$  und Methylalkohol, die mit zwei Carboxylgruppen des Chlorophylls verestert sind, wie wir aus den Untersuchungen von R. WILLSTÄTTER und seinen Mitarbeitern wissen <sup>1</sup>.

Die Konstitution des Phytols ist inzwischen völlig aufgeklärt und durch Synthese in folgendem Sinne bewiesen <sup>2</sup>:



Die von WILLSTÄTTER entdeckte Chlorophyllase vermag in alkoholischem Medium das Phytol durch den betreffenden Alkohol zu ersetzen und so sind die kristallisierten Methylchlorophyllide bzw. Äthylchlorophyllide erhältlich, die sich als Gemische erweisen,

<sup>1</sup> R. WILLSTÄTTER und A. STOLL, Untersuchungen über Chlorophyll. Springer (Berlin) 1913. In diesem Buch ist auch die Geschichte der Chlorophyllchemie, die auf ca. 100 Jahre zurückgeht, ausführlich behandelt. (Die ältere Literatur vor WILLSTÄTTERS Arbeiten ist zusammengefaßt in „Die Chemie der Chlorophylle“ von MARCHLEWSKI, Vieweg u. Sohn, Braunschweig, 1909.) Außerdem zahlreiche Veröffentlichungen, vorwiegend in LIEBIGS Annalen der Chemie.

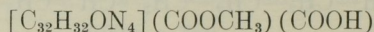
<sup>2</sup> F. G. FISCHER und LÖWENBERG, A. 475, 183 (1929).

ebenso wie Chlorophyll selbst. Dieses besteht aus zwei Komponenten a und b, von denen die b-Komponente schwierig abtrennbar ist und erst in neuester Zeit durch A. WINTERSTEIN und G. STEIN<sup>3</sup> auf chromatographischem Wege rein gewonnen wurde und das Äthylchlorophyllid b von uns auf partialsynthetischem Wege<sup>4</sup>. Letzterer Weg ist auch für das Gewinnen von Äthylchlorophyllid a weitaus der bequemste<sup>4</sup>. Die Chlorophyllide besitzen folgende Zusammensetzung<sup>5</sup>:

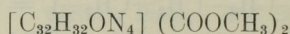
Methylchlorophyllid a	$[C_{32}H_{30}ON_4Mg](COOCH_3)_2 + \frac{1}{2} H_2O$ .
Äthylchlorophyllid a	$[C_{32}H_{30}ON_4Mg](COOC_2H_5)(COOCH_3)$ .
Methylchlorophyllid b	$[C_{32}H_{28}O_2N_4Mg](COOCH_3)_2 + \frac{1}{2} H_2O$ .
Äthylchlorophyllid b	$[C_{32}H_{28}O_2N_4Mg](COOC_2H_5)(COOCH_3)$ .

Durch Behandlung mit Säuren erhält man aus Chlorophyll das magnesiumfreie Phäophytin, das wiederum in die Komponenten a und b zerlegbar ist. Phäophytin gibt bei der Einwirkung von Salzsäure bzw. Salzsäure-Methylalkohol die Phäophorbide bzw. Methylphäophorbide a + b. Beide besitzen hervorragende Kristallisationsfähigkeit. a ist relativ bequem rein zugänglich, auch in großem Maßstabe bei Verwendung der Dr. NEUMANN'schen Extraktionsapparate, während b schwieriger rein zu erhalten ist.

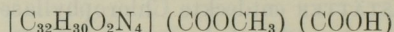
Phäophorbid a<sup>6</sup> besitzt die Formel



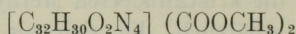
Methylphäophorbid a<sup>6</sup> besitzt die Formel



Phäophorbid b<sup>6</sup> besitzt die Formel



Methylphäophorbid b<sup>6</sup> besitzt die Formel



Wird Phäophytin oder Phäophorbid einer kurzdauernden (30 Sekunden) Verseifung mit methylalkoholischem Kali unterworfen, entstehen Phytochlorin e und Phytorhodin g, kurz als Chlorin e

<sup>3</sup> H. 220, 263 (1933) u. H. 230, 139 (1934).

<sup>4</sup> A. 515, 131 (1935).

<sup>5</sup> R. WILLSTÄTTER u. A. STOLL, Chlorophyllbuch, S. 227.

<sup>6</sup> R. WILLSTÄTTER u. A. STOLL, Chlorophyllbuch, S. 283.

bzw. Rhodin g bezeichnet. Chlorin e entspricht der a-Komponente, Rhodine der b-Komponente. Chlorine beobachtete R. WILLSTÄTTER<sup>7</sup> als auftretend in zwei Modifikationen, als Lactamhydrat von der Formel  $C_{34}H_{36}O_6N_4$  und als Lactam  $C_{34}H_{34}O_5N_4$ . In der theoretischen Einleitung des Chlorophyllbuches auf Seite 15 ist nur letztere Zusammensetzung angegeben.

Phytorhodin g<sup>8</sup> besitzt die Zusammensetzung  $C_{34}H_{32}O_7N_4$ . Phytochlorin e wurde als Tricarbonsäure mit zwei freien Carboxylgruppen und einer als Lactam gebundenen aufgefaßt. Das Phytorhodin g wurde als Tetracarbonsäure<sup>8</sup>, von deren Carboxylen sich nur zwei oder drei in freiem Zustande befinden, betrachtet.

Chlorin e gibt einen prachtvoll kristallisierenden Trimethylester, der besonders bequem nach A. TREIBS und E. WIEDEMANN<sup>9</sup> mit Hilfe von Diazomethan gewinnbar ist und der die Zusammensetzung  $C_{37}H_{42}O_6N_4$  besitzt. Auch Phytorhodin g gibt mit Diazomethan einen schön kristallisierten Trimethylester von der Zusammensetzung  $C_{37}H_{40}O_7N_4$ .

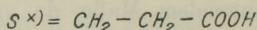
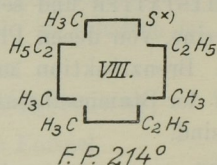
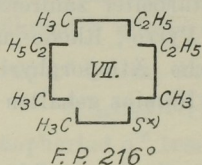
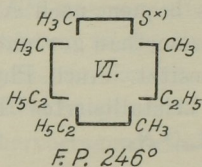
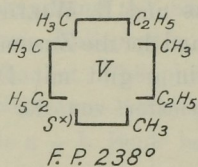
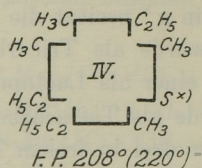
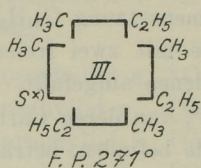
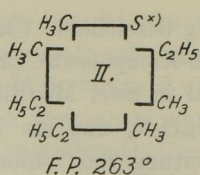
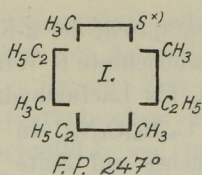
Bei energischem Abbau des Chlorophylls und seiner Derivate erhielten WILLSTÄTTER und seine Mitarbeiter zahlreiche Phyllyne bzw. Porphyrine, von denen Phyllo-, Pyrro-, Rhodo- und das aus ihnen durch Brenzreaktion erhältliche Ätioporphyrin, das für identisch mit der Stammsubstanz des Hämins gehalten wurde, hervorzuheben sind.

Naturgemäß interessierte die Konstitutionsaufklärung dieser Porphyrine in hervorragendem Maße, da uns inzwischen allgemeine Porphyrinsynthesen gelungen waren und Aussicht bestand, auch die Chlorophyllporphyrine synthetisch in der Konstitution aufzuklären. Rhodoporphyrin ist eine Dicarbonsäure; Phyllo- und Pyrroporphyrin sind Monocarbonsäuren, die von den früheren Bearbeitern für isomer gehalten wurden. Es war am wahrscheinlichsten, sie als Tetramethyltriäthyl-monopropionsäureporphine aufzufassen, von denen die Theorie folgende acht Isomere vorsieht, die künftighin als Monocarbonsäuren bezeichnet werden:

<sup>7</sup> Ibid. WILLSTÄTTER und STOLL, S. 297.

<sup>8</sup> L. c. WILLSTÄTTER und STOLL, S. 15.

<sup>9</sup> A. 471, 147 (1929).



Der innere Bau des Porphinringes ist weggelassen und die vier Kerne sind durch je eine Klammer wiedergegeben, da es sich bei dieser Übersicht ja nur um die Stellung der Substituenten dreht.

Diese acht Isomeren wurden synthetisiert<sup>10</sup> und alle erwiesen sich als verschieden von Phyllo- und Pyrroporphyrin.

Auf analytischem Wege konnte dann in den beiden Porphyrinen eine freie  $\beta$ -Methingruppe nachgewiesen werden, die im Rhodoporphyrin fehlte, im Ätioporphyrin aus Chlorophyll aber noch enthalten war. Die freie Methingruppe in den genannten Porphyrinen wurde nachgewiesen durch Bromierung und Oxydation: ein Brom-

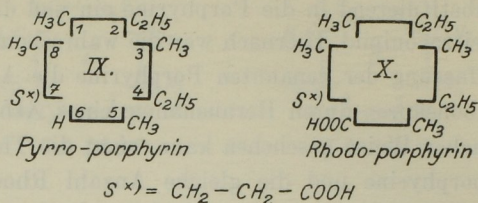
<sup>10</sup> A. 461, 221 (1928) sowie A. 475, 241 (1929).

atom trat substituierend in die Porphyrine ein und die Oxydation ergab Brom-citraconimid. Hiernach war die wahrscheinlichste Konstitutionsauffassung der genannten Porphyrine die Ableitung von den Monocarbonsäuren durch Herausnahme eines Äthylrestes. Da dies in dreifacher Weise geschehen kann, sieht die Theorie 24 isomere Pyrroporphyrine und die gleiche Anzahl Rhodoporphyrine vor, weil durch den Übergang von Rhodoporphyrin unter Abspaltung von Kohlendioxyd zu Pyrroporphyrin in hohem Grade wahrscheinlich war, daß an Stelle der freien Methingruppe im Pyrroporphyrin beim Rhodoporphyrin eine Kerncarboxylgruppe vorhanden war. Die Synthese einiger Pyrro- und Rhodoporphyrine bestätigte diese Annahme vollkommen<sup>11</sup>.

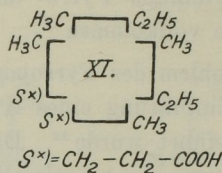
Das Konstitutionsproblem des Pyrroporphyrins wurde dadurch gelöst, daß es durch Einführung eines Äthylrestes in die Monocarbonsäure III übergeführt wurde<sup>12</sup>. Da diese sich vom Ätioporphyrin III ableitet, war die prinzipielle Übereinstimmung der Anordnung der Seitenketten in Blut- und Blattfarbstoffporphyrinen bewiesen. Beide leiten sich vom Ätioporphyrin III ab. Die Konstitution des Pyrroporphyrins war aber noch nicht erhärtet, da für die Stellung der freien Methingruppe die 2,4- oder 6-Stellung in Frage kam, die alle drei die Monocarbonsäure III bei Einführung des Äthylrestes geben mußten. Diese 6-Stellung wurde bewiesen durch die Synthese der 1,3,5,8-Tetramethyl-2,4-diäthylporphin-6-carbonsäure-7-propionsäure (X), das also die Carboxylgruppe in 6-Stellung trägt und sich als identisch erwies mit dem „natürlichen“ Rhodoporphyrin, dessen leichte Überführung in Pyrroporphyrin auf analytischem Wege gezeigt war. Gleichzeitig wurde die Synthese der 1,3,5,8-Tetramethyl-2,4-diäthylporphin-7-propionsäure (IX) bewerkstelligt, das sich als identisch mit dem „natürlichen“ Pyrroporphyrin herausstellte. Hierdurch war die freie 6-Stellung auch für das Phylloporphyrin bewiesen, denn auch Phylloporphyrin läßt sich mit Hilfe von Alkoholat in Pyrroporphyrin überführen.

<sup>11</sup> A. 473, 211 (1929); A. 480, 109 bzw. 189 (1930); A. 482, 232 (1930).

<sup>12</sup> A. 475, 248 (1929).



Pyrroporphyrin (IX) steht auf Grund der Synthese in nahen Beziehungen zu dem wichtigen Blutfarbstoff-Porphyrin Mesoporphyrin (XI).



Ersetzt man im Mesoporphyrin den Propionsäurerest in 6-Stellung durch ein Wasserstoffatom, hat man die Formel des Pyrroporphyrins vor sich: Demgemäß konnten wir Pyrroporphyrin bzw. Pyrrohäm in durch Umsetzung mit Chlormethyläther und Bromwasserstoff in Brommethyl-pyrrohäm in bzw. -porphyrin überführen. Dieses gab bei der Umsetzung mit Natrium-Malonester und Abspaltung einer Carboxylgruppe Mesoporphyrin<sup>13</sup>.

Damit war zum ersten Mal — allerdings auf indirektem Wege — ein gemeinschaftliches Porphyrin aus Blut- und Blattfarbstoff erhalten; denn die Ätioporphyrine des Chlorophylls haben ja mit den Ätioporphyrinen des Blutfarbstoffes nichts zu tun. Das „Ätioporphyrin des Chlorophylls“ erwies sich als ein Gemisch von Pyrro- und Phylloätioporphyrin, die in der Konstitution IX bzw. XII entsprechen. Decarboxyliert man die beiden Propionsäurereste zu Äthylgruppen, so hat man die Formeln der beiden Ätioporphyrine vor sich. Der Beweis wurde durch die Synthese erbracht<sup>14</sup>.

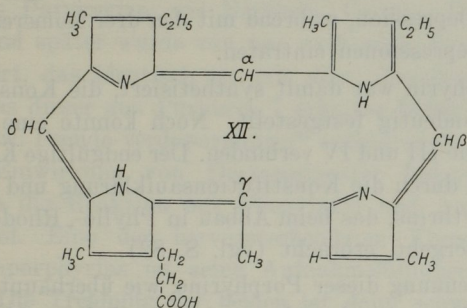
Als Ätioporphyrin des Blutfarbstoffes muß im übrigen, streng genommen, nicht das carboxylfreie Mesoporphyrin, sondern das carboxylfreie Protoporphyrin

<sup>13</sup> A. 486, 178 (1931).

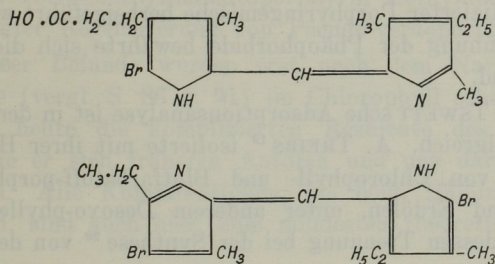
<sup>14</sup> A. 480, 109, 235 (1930); A. 482, 232 (1930).

betrachtet werden, dessen Synthese vor kurzem durchgeführt wurde<sup>15</sup>. Neuerdings ist auch der Abbau des Mesoporphyrins bzw. Mesorhodins über Rhodoporphyrin- $\gamma$ -carbonsäure zu Pyrro-porphyrin gelungen, wobei unter anderem auch das „natürliche“ Pyrro-porphyrin (IX) entstand<sup>16</sup>.

Phylloporphyrin erwies sich als Homologes des Pyrroporphyrins. Spektroskopisch ist es von letzterem weitgehend verschieden, ähnlich wie Proto- und Mesoporphyrin. Gegen Jodwasserstoff ist es besonders hinfällig und zur Diskussion stand eine Vinylgruppe zur Verknüpfung der Pyrrolkerne in  $\alpha$ -Stellung oder Methylsubstitution einer Methingruppe (gemäß XII):



96 Isomere waren möglich, die durch die Synthese des Pyrroporphyrins auf vier eingeschränkt waren. Alle vier Phylloporphyrine wurden synthetisiert<sup>17</sup>. Das Schema der Synthese des „natürlichen“ Phylloporphyrins sei hier wiedergegeben:



<sup>15</sup> A. 500, 1 (1932).

<sup>16</sup> A. 509, 19 (1934).

<sup>17</sup> A. 480, 235 (1930); A. 500, 137 (1933).

Die Komplikationen bei diesen Synthesen waren hierbei theoretisch und praktisch sehr groß. Jedes der verwandten Pyrromethene kann mit sich selbst reagieren, sodann tritt teilweise Decarboxylierung ein, sodaß bei jeder Synthese 10 verschiedene Porphyrine möglich waren, die zum großen Teil auch tatsächlich entstanden sind und bei der Synthese aller vier Phylloporphyrine zumeist auch isoliert wurden.

$\gamma$ -Methyl-pyrro-porphyrin (1,3,5,8-Tetramethyl-2,4-diäthyl- $\gamma$ -methylporphin-7-propionsäure) erwies sich als identisch mit dem „natürlichen“ Phyllo-porphyrin; der Mischschmelzpunkt der Ester ergab keine Depression, während mit den drei isomeren Estern ent-  
scheinende Depressionen eintraten.

Phylloporphyrin war damit synthetisiert, die Konstitution aber noch nicht eindeutig festgestellt. Noch konnte eine Vinylgruppe die Pyrrolkerne III und IV verbinden. Der endgültige Konstitutionsbeweis wurde durch die Konstitutionsaufklärung und die Synthese des Phylloerythrins, das beim Abbau in Phyllo-, Rhodo- und Pyrro-porphyrin übergeht, erbracht (vgl. S. 82).

Für die Trennung dieser Porphyrine, wie überhaupt der Porphyrine ganz allgemein, bewährte sich in hohem Maße die von WILLSTÄTTER und W. MIEG<sup>18</sup> geschaffene Fraktionierungsmethode. Die Basizität der Porphyrine ist wegen der in ihnen enthaltenen Imingruppen außerordentlich verschieden und durch Salzsäure abgestufter Konzentrationen kann insbesondere bei mehrmaliger Wiederholung des Verfahrens eine weitgehende Trennung selbst recht komplizierter Porphyringemische herbeigeführt werden. Auch für die Trennung der Phäophorbide bewährte sich diese Methode hervorragend.

Auch die TSWETT'sche Adsorptionsanalyse ist in der Porphyrin-chemie erfolgreich. A. TREIBS<sup>19</sup> isolierte mit ihrer Hilfe die Vanadinsalze von Chlorophyll- und Blutfarbstoff-porphyrinen aus Bitumen und Erdölen, unter anderem Desoxo-phylleerythro-ätioporphyrin, dessen Trennung bei der Synthese<sup>20</sup> von den begleiten-

<sup>18</sup> A. 350, 1 (1906).

<sup>19</sup> A. 509, 103 (1934); A. 510, 42 (1934); A. 517, 172 (1935); A. 520, 144 (1935).

<sup>20</sup> A. 517, 275 (1935).



den Ätio-porphyrinen nur mit Hilfe der Adsorptionsanalyse gelang.

Auch in Chlorophyllchemie ist sie äußerst wertvoll geworden.

WILLSTÄTTER und seine Schüler haben zahlreiche Isomere des Rhodoporphyrins beschrieben, die von A. TREIBS und E. WIEDEMANN einer eingehenden Bearbeitung unterzogen worden sind. Das Resultat dieser Untersuchung war die Auffindung eines neuen Porphyrins, des Verdoporphyrins, das außerordentlich leicht in Rhodoporphyrin übergeht. Ein Gehalt an Verdoporphyrin erklärt wahrscheinlich die zahlreichen, von WILLSTÄTTER und seinen Schülern beschriebenen Porphyrine, wie Erythro-, Cyano-, Rubi-, Glaukoporphyrin, und später wurde von uns auch noch Pseudo-verdoporphyrin isoliert, das identisch ist mit dem „Iso-rhodo-porphyrin“ CONANTS, das dieser aus Purpurin 7 erhalten hatte<sup>21</sup>. Iso-rhodo-porphyrin bzw. Pseudo-verdoporphyrin<sup>22</sup> enthalten die Vinylgruppe, wie durch Einwirkung von Diazoessigester festgestellt wurde, ebenso durch die Reaktion mit Phenylazid und Anlagerung von Methylalkohol. Eine der hervorstechendsten Eigenschaften des Pseudo-verdoporphyrins ist seine Aufnahmefähigkeit für Rhodoporphyrin. Die Trennung der beiden ist dann schwierig und der spektroskopische Befund einer solchen Mischung ist mit dem Spektrum des Verdoporphyrins identisch<sup>23</sup>.

Auch Bromwasserstoff-Eisessig läßt sich an Pseudo-verdoporphyrin anlagern und durch Umsetzung mit Methylalkohol das Methylalkohol-Anlagerungsprodukt erhalten, das beim Erhitzen genau so wie beim Tetra-Methyl-hämatoporphyrin Methylalkohol wieder abspaltet unter Regenerierung von Pseudo-verdoporphyrin<sup>24</sup>.

Viele dieser Befunde wurden erst nach dem Nachweis einer Vinylgruppe (vergl. S. 86 u. 91) im Chlorophyll erhoben und es sind daher heute die komplizierten Resultate des Alkoholat-abbaues, wie er sich früheren Autoren und uns darbot, restlos verständlich. Alle Komplikationen, die beim Hämin genau erforscht sind, sind auch hier, zum mindesten theoretisch möglich

<sup>21</sup> CONANT, HYDE, MOYER u. DIETZ, Am. Soc. 53, 370 (1931); ebenda 55, 796 (1933). Vergl. auch A. 490, 44, 88 (1931).

<sup>22</sup> A. 521, 261 (1936); vergl. auch Zitat 3.

<sup>23</sup> A., 524, 257 (1936).

<sup>24</sup> A. 521, 267 (1936).

und werden wohl in einzelnen Versuchen auch tatsächlich eingetreten sein. Beim Hämin, das bekanntermaßen zwei Vinylgruppen enthält, tritt unter der Alkoholateinwirkung partielle Absättigung der beiden Vinylgruppen zum Äthylrest ein: Es entsteht Mesoporphyrin. Daneben wird die eine der beiden Vinylgruppen abgespalten und eine reduziert, sodaß die beiden isomeren Hämoporphyrine entstehen. Daneben tritt Chlorinbildung des entstandenen Porphyrin-Gemisches auf. Deuteroporphyrin wird wohl sicherlich auch noch anwesend sein. Ähnliche Komplikationen sind natürlich auch beim Chlorophyllabbau zu erwarten, insbesondere nachdem hier in der Alkoholateinwirkung oft weitgehende Differenzierungen bei der Art des Erhitzens vorgenommen wurden. Es wird auch nicht gleichgültig sein, ob man von Phorbiden oder Chlorophylliden ausgeht. Anhaltspunkte für das Entstehen von weiteren Vinylporphyrinen außer Pseudo-verdoporphyrin — das zweckmäßig als 2-Vinyl-rhodoporphyrin bezeichnet wird — haben wir bis jetzt beim alkalischen Abbau (auf anderem Wege sind sämtliche isoliert) nicht gewinnen können<sup>25</sup>. Die einzelnen Fraktionen waren gegen Diazoessigester negativ. Am ehesten wären wohl solche Vinylporphyrine in der b-Reihe zu erwarten, in der durch die Nachbarstellung der Vinylgruppe und des Formylrestes in 2- bzw. 3-Stellung ganz besondere Gelegenheit für abnormen Reaktionsverlauf gegeben ist.

Parallel dieser analytisch-synthetischen Untersuchung ging das Studium des biologischen Abbaues des Chlorophylls, weil die Konstitutionsaufklärung biologischer Verwandter des Hämins wesentliche Anhaltspunkte für die Konstitutionsaufklärung und auch für den Weg der Synthese dieser Körper gegeben hatte.

Durch die Untersuchungen von LÖBISCH und FISCHLER<sup>26</sup> sowie MARCHLEWSKI<sup>27</sup> war das Phylloerythrin bekannt, das aus Rindergalle, bzw. Fäces von Tieren erhalten worden ist. Wir konnten aus Schafkot die mit Phylloerythrin isomeren Probophorbide a, c und d<sup>28</sup> sowie Phäophorbid a, Pyro-, Dihydro-pyro-phäophorbid a und Pyro-phäophorbid b gewinnen, die mit Ausnahme von Phäophor-

<sup>25</sup> Unveröffentlicht.

<sup>26</sup> M. 1903, 159.

<sup>27</sup> H. 43, 464 (1904—1905); 45, 176 (1905).

<sup>28</sup> H. 198, 33 (1931); 222, 250 (1933); H. 206, 255 (1932). Vergl. auch H. 239, 170 (1936).

bid a und des zuletzt genannten b-Derivates leicht in Phylloerythrin übergehen und wichtig sind, weil, wie schon ihr Name sagt, spektroskopisch nahe Beziehungen zum Phäophorbid und damit allgemein zu den Phorbiden bestehen. Hieraus muß geschlossen werden, daß die Phäophorbide, sowie das Phylloerythrin in den nächsten verwandtschaftlichen Beziehungen zum Chlorophyll selbst stehen, womit auch übereinstimmt, daß ihre Bildung bereits im Omasus und Abomasus (3. u. 4. Magen der Wiederkäuer), wie P. ROTHEMUND und O. L. INMAN<sup>29</sup> zeigten, erfolgt. Phylloerythrin ist nun ein Porphyrin<sup>30</sup> auf Grund seiner spektroskopischen Erscheinungen. Damit war zum ersten Male ein Anhaltspunkt dafür gewonnen, daß das Chlorophyllmolekül auch in engem Zusammenhang zu den Porphyrinen zu bringen war, eine Möglichkeit, die weiter auf synthetischem Wege bestätigt wurde durch Überführung von Blutfarbstoffporphyrinen in Chlorine und Rhodine<sup>31</sup>. Auf bakteriologischem Wege<sup>32</sup> wurden Chlorophyllderivate gleichfalls in Porphyrine übergeführt, wiederum eine Bestätigung für die oben dargelegten Beziehungen. Aus der Überführung des Chlorophylls und seiner Derivate in Phyllo-, Pyrro-, Rhodoporphyrin konnte nicht die Anwesenheit des Porphinkernes gefolgert werden, weil angesichts der brutalen Entstehungsweise (Alkoholatabbau bei hoher Temperatur im zugeschmolzenen Rohr) es sich auch um sekundäre Synthesen handeln kann, um so eher, als diese Porphyrine kohlenstoffärmer sind wie das Ausgangsmaterial.

Auch WILLSTÄTTER hat sich bereits in diesem Sinne in seinem Chlorophyllbuch<sup>33</sup> geäußert, wie folgt:

„Auch zwischen Chlorophyll und dem Ätiophyllin und sogar zwischen Chlorophyll und den ersten zweibasischen Porphyrinen wie Cyanoporphyrin oder Erythroporphyrin liegen zwei das Molekül wesentlich umgestaltende Schritte, die sich mit den Reaktionen des Hämins nicht in Parallele bringen lassen.

Der eine Schritt ist die Umlaktamisierung der Chlorophyllkomponenten, durch die ein Ringsystem aufgespalten, ein neues synthetisiert wird. Die zweite Umformung des Moleküls, die

<sup>29</sup> Am. Soc. 54, 4702 (1932).

<sup>30</sup> H. 143, 1 (1925).

<sup>31</sup> A. 466, 243 (1928); A. 471, 285 (1929); A. 479, 27 (1930); A. 482, 1 (1930).

<sup>32</sup> L. c. H. 198, 33 (1931); 206, 255 (1932).

<sup>33</sup> S. 44/45.

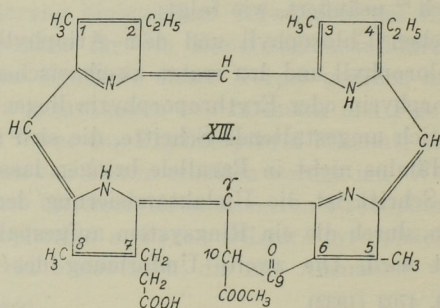
weniger augenfällig stattfindet, geschieht durch die Einwirkung von Alkali bei höherer Temperatur und führt von den Chlorophyllinen zu den einfacher konstituierten zweibasischen Phyllinen oder vom Phytochlorin und Phytorhodin zu den entsprechenden Porphyrinen.“

Und etwas weiter unten:

„Darum ist es wahrscheinlicher, daß die Laktamgruppe pyridonartig ist, ihr Carboxyl also selbst Ringbestandteil und daß erst durch Austritt eines Kohlenstoffatoms der vierte Pyrolokerneln des Cyanoporphyrins entsteht.“

Es mußten Methoden gesucht werden, unter Erhaltung des Kohlenstoffgerüsts des Chlorophylls, Porphyrine zu erzeugen, für die ja synthetische Methoden zur Verfügung standen. Die vorsichtige Jodwasserstoff-Eisessigreduktion erwies sich hier als erfolgreich; es wurden bei Anwendung dieser Methode auf Phäophorbid und Chlorin e prinzipiell verschiedene Resultate erzielt. Die Phäophorbide gaben Phäoporphyrine, Chlorin e ergab Chloroporphyrine<sup>34</sup>. Schon spektroskopisch ergaben sich wesentliche Differenzen zwischen den beiden Klassen. Bei den Phäoporphyrinen erscheint der 2. und 3. Absorptionsstreifen zusammengedrückt, ähnlich dem spektroskopischen Bild des Phylloerythrins, während bei den Chloroporphyrinen die Spektralerscheinungen denen der Blutfarbstoffporphyrine sehr viel ähnlicher sind.

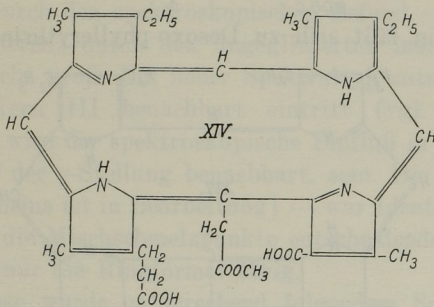
Zahlreiche Porphyrine wurden isoliert und in der Konstitution aufgeklärt, von denen am wichtigsten Phäoporphyrin a<sub>5</sub><sup>35</sup> (XIII)



<sup>34</sup> A. 474, 65 (1929); A. 480, 197 (1930); A. 478, 54 (1930); A. 481, 132 (1930); A. 485, 1 (1931); A. 486, 107 (1931); A. 490, 1 (1931).

<sup>35</sup> A. 495, 1 (1932); A. 500, 215 (1933).

ist, das aus den Phäophorbiden, auch aus Phäophytin und Chlorophyllid erhältlich ist, und das immer als Monomethylester auftritt<sup>36</sup>, und zwar ist der in 10-Stellung befindliche Carbmethoxyrest schwer verseifbar. Phäoporphyrin  $a_5$  reagiert mit Ketonreagenzien und ist hydrolytisch spaltbar zur Chloroporphyrin  $e_6$ , das ebenfalls ein Monomethylester ist und dem folgende Formel (XIV) zukommt:

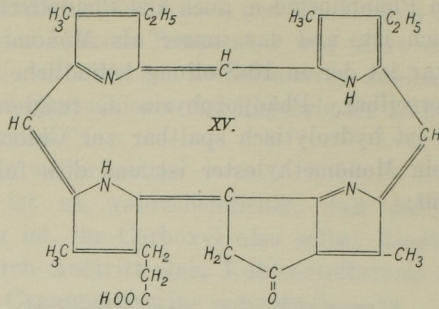


Denn es kann leicht einerseits in Phäoporphyrin  $a_5$  zurückverwandelt werden, andererseits geht es durch Behandlung mit 30%igem methylalkoholischem Kali in Chloroporphyrin  $e_4$  (durch Ersatz des  $\text{COOCH}_3$ -Restes durch H) (XVIII) und Rhodoporphyrin (durch Ersatz des  $\text{CH}_2\text{COOCH}_3$ -Restes durch H) (X) über. Durch den Übergang von Chloroporphyrin  $e_6$  in Phäoporphyrin  $a_5$  und umgekehrt war zum erstenmal ein Übergang zwischen den Chloroporphyrinen und den Phäoporphyrinen herbeigeführt und ein carbomethoxylierter isocyclischer Ring im Chlorophyll wahrscheinlich<sup>37</sup>.

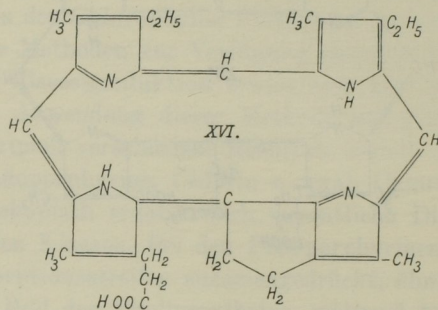
Phäoporphyrin  $a_5$  (XIII) geht durch Decarboxylierung leicht in Phylloerythrin (XV) über:

<sup>36</sup> A. 482, 225 (1930); A. 485, 1 (1931); A. 486, 107 (1931).

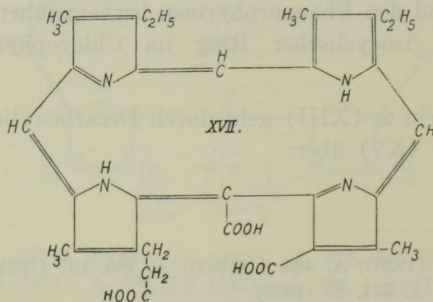
<sup>37</sup> Vergl. auch A. 524, 25 (1936).



Phylloerythrin läßt sich zu Desoxo-phylloerythrin (XVI) redu-



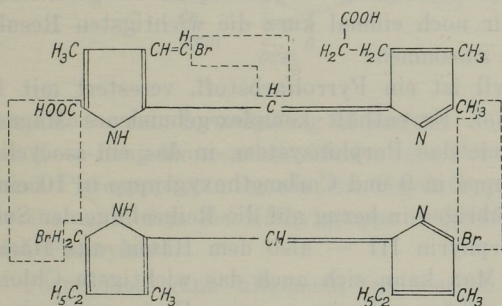
zieren, welches nur noch zwei Atome Sauerstoff — und zwar als Carboxyl — enthält. Die Konstitution von Phylloerythrin wurde auf folgendem Wege bewiesen: Phylloerythrin verhält sich gegen Alkalien in Stickstoffatmosphäre indifferent, bei Gegenwart von Sauerstoff tritt jedoch Abbau ein zu den charakteristischen Chlorophyllporphyrinen Phyllo-, Pyrro-, Rhodoporphyrin und der hierbei zuerst erhaltenen Rhodoporphyrin- $\gamma$ -carbonsäure (XVII):



Dieses Verhalten läßt sich nur erklären durch eine Äthanonbrücke zwischen  $C_6$  und der  $\gamma$ -Methingruppe, wobei die Ketogruppe durch Umsetzung mit Ketonreagenzien exakt bewiesen werden konnte.

Aber auch auf dem Wege der Synthese<sup>38</sup> konnte die Konstitutionsformel des Desoxo-phyllerythrins und des Phyllo-erythrins ermittelt werden. Für Desoxo-phyllerythrin stand nur die Formel einer der Monocarbonsäuren (S. 70) zur Verfügung, oder die um zwei Wasserstoffatome ärmere Ringformel (XVI). Glücklicherweise waren bereits alle acht Monocarbonsäuren (S. 70) synthetisiert. Schon durch den spektroskopischen Befund — [die spektroskopische Differenz durch den angegliederten isocyclischen Ring ist an sich nicht groß. Ein neuer Spektraltyp entsteht, sowie die CO-Gruppe Kern III benachbart eintritt (vgl. Formel XV). Von Interesse wird der spektroskopische Einfluß in der Iso-Verbindung, mit CO der  $\gamma$ -Stellung benachbart, sein. Die Synthese eines Iso-phyll-erythrins ist in Bearbeitung] — war Identität unmöglich, ebenso gaben die Mischschmelzpunkte entscheidende Depressionen. Es blieb also nur die Ringformel übrig.

Die Synthese wurde entsprechend folgendem Schema durchge-



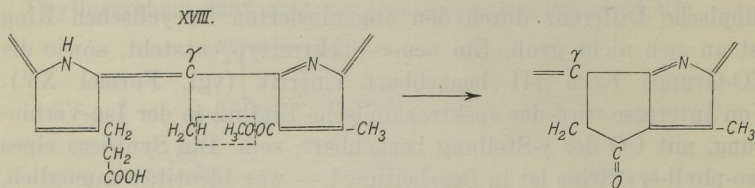
führt und ergab einen Körper, der sich in allen Eigenschaften als identisch mit dem „Naturprodukt“ erwies<sup>39</sup>, Desoxo-phyllerythrin gab bei der Oxydation mit Oleum-Schwefel Phylloerythrin neben Chloroporphyrin  $e_5$ . Wir geben zu, daß durch die Synthese die Stellung der CO-Gruppe in 9 beim Phylloerythrin nicht bewiesen ist.

<sup>38</sup> A. 490, 91 (1931); A. 497, 181 (1932); A. 499, 288 (1932); A. 494, 86 (1932).

<sup>39</sup> A. 490, 92 (1931).

Sie könnte hiernach ebenso gut in 10-Stellung stehen, aber das Ergebnis des Abbaues des Phylloerythrins, das, wie erwähnt, zu den Porphyrinen Pyrro-, Phyllo- und Rhodoporphyrin führt, beweist eindeutig die Stellung der Carbonylgruppe.

Neuerdings<sup>40</sup> haben wir auch auf dem Wege der direkten Synthese die Konstitution des Phylloerythrins bewiesen, durch Einwirkung von Natriumäthylat auf Chloroporphyrin e<sub>4</sub> im Sinne folgender Formulierung und ebenso aus 6-Brom-iso-chloroporphyrin e<sub>4</sub><sup>41</sup>.



Durch den Konstitutionsbeweis des Phylloerythrins war auch endgültig die des Phyllo-porphyrins als methylsubstituiertes Pyrro-porphyrin festgelegt und nochmals die  $\gamma$ -Stellung bewiesen.

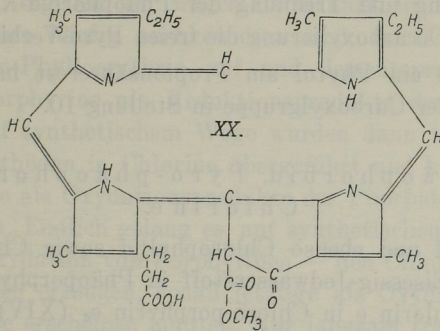
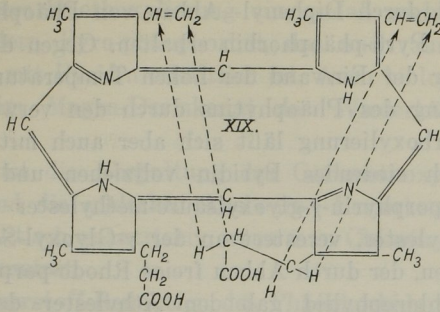
Fassen wir noch einmal kurz die wichtigsten Resultate dieses Abschnittes zusammen:

Chlorophyll ist ein Pyrrolfarbstoff, verestert mit Phytol und Methylalkohol. Es enthält komplex-gebundenes Magnesium. Ihm liegt zugrunde das Porphinsystem, in das ein isocyclischer Ring mit Ketogruppe in 9 und Carbmethoxygruppe in 10 eingebaut ist, und das im übrigen in bezug auf die Reihenfolge der Substituenten dem Ätioporphyrin III — also dem Hämin aus Hämoglobin — entspricht. Man kann sich auch das wichtigste Chlorophyll-porphyrin, das Phäoporphyrin a<sub>5</sub>, vom Proto-porphyrin abgeleitet, denken, durch  $\beta$ -Oxydation des in 6-Stellung befindlichen Propion-säurerestes zur Keto-propionsäure und dehydrierende Vereinigung zwischen dem Kohlenstoff-Atom 10 und der  $\gamma$ -Methingruppe des Porphinkernes unter Absättigung der beiden Vinylgruppen des Proto-porphyrins zu Äthylresten, wie folgende Formeln dies erläutern:

<sup>40</sup> A. 523, 165 (1936).

<sup>41</sup> A. 524, 25 (1936).





Man kann also — rein formelmäßig betrachtet — Phäoporphyrin  $a_5$  als ein Keto-Ring-Monocarboxylderivat des Proto-porphyrins auffassen und Phäoporphyrin  $b_6$  als ein Oxydationsprodukt des Phäoporphyrins  $a_5$ , in dem die Methylgruppe in 3-Stellung ersetzt ist durch den Formylrest.

Für die Porphyrine ganz allgemein ist von A. STERN und H. WENDERLEIN<sup>42</sup> auf Grund der verschiedenen Beeinflussung der Lichtabsorption durch die Carbonyle im Porphinsystem, je nach der Kernstellung, die Pyrrolenin-Struktur zweier gegenüberliegender Kerne festgestellt.

Bewiesen ist ferner das Haften des Phytolrestes am Propion-säurerest und des Methoxyls an der Carboxylgruppe des isocyclischen Ringes.

<sup>42</sup> Ztschr. physikal. Chem. (A) **174**, 429 (1936).

CONANT hat durch Diphenyl- Abbau von Phäophorbid bei 180 bis 250° freies Pyro-phäophorbin erhalten. Gegen diese Versuchsanordnung war der Einwand der hohen Temperatur möglich und eine Umesterung des Phäophytins durch den verwendeten Alkohol. Die Decarboxylierung läßt sich aber auch mit dem gleichen Resultat durch siedendes Pyridin vollziehen und Phäoporphyrin  $a_7$ , Rhodo-porphyrin- $\gamma$ -glyoxylsäure-methylester ist immer nur als Monomethylester, verestert an der  $\gamma$ -Glyoxyl-Seitenkette, beobachtet worden, der durch Abbau freies Rhodo-porphyrin ergab<sup>43</sup>. Auch Äthyl-chlorophyllid gab den Äthylester des Phyllo-erythrins<sup>44</sup>. Endlich gab mit Aceton gewonnenes Phäophytin nach der Überführung und Trennung der Phäophorbid-Komponenten a und b bei der Decarboxylierung die freien Pyro-Verbindungen<sup>45</sup>.

Mithin muß ein Phytol am Propionsäurerest haften und das Methoxyl an der Carboxylgruppe in Stellung 10.

#### Über Phäophorbid, Pyro-phäophorbid und Chlorin e.

Phäophorbid und ebenso Chlorophyllid sowie Chlorophyll lassen sich mit Eisessig-Jodwasserstoff in Phäoporphyrin  $a_5$  (XIII) überführen, Chlorin e in Chloro-porphyrin  $e_6$  (XIV). Die Konstitution dieser ist in obigem Sinne festgelegt und ihre wechselseitige Überführung möglich. Schon hieraus geht hervor, daß im Phäophorbid derselbe isocyclische Ring enthalten sein muß, wie im Phäoporphyrin  $a_5$ , während Chlorin e dann in den Seitenketten dem Chloro-porphyrin  $e_6$  entspricht. Damit stimmt auch überein, daß Phäophorbid mit Diazomethan-Methylalkohol praktisch quantitativ in Chlorin e-trimethylester überführbar ist, ebenso mit Hilfe von Phosgen-Alkohol. Phäophorbid gibt wie Phäo-porphyrin  $a_5$  ein gut kristallisiertes Oxim, das mit Jodwasserstoffsäure in Phäoporphyrin  $a_5$ -oxim überführbar ist<sup>46</sup>. Hiernach sollte auch Chlorin e wieder rückwärts in Phäophorbid überführbar sein. In der Tat gelingt diese Reaktion, aber nur mit 10% Ausbeute, und es

<sup>43</sup> A. 490, 4 (1931).

<sup>44</sup> A. 490, 40—41 (1931).

<sup>45</sup> A. 522, 159 (1936).

<sup>46</sup> A. 508, 248 (1934), vgl. a. A. 506, 148 (1933); A. 510, 166 (1934).

tritt dabei Decarbmethoxylierung ein, sodaß nicht Phäophorbid entsteht, sondern Pyro-phäophorbid, das auch aus Phäophorbid durch Kochen mit Pyridin erhältlich ist. Auch biologisch tritt dieser Prozeß im Magen-Darmkanal der Wiederkäuer ein (vgl. Seite 76).

Auffallend ist die Abspaltung des Carbmethoxyrestes bei der Resynthese und die schlechte Ausbeute. Bemerkenswerter Weise wird diese praktisch quantitativ, wenn man Chlorin e in 6-Stellung mit Glykol verestert.

Die Jodwasserstoff-Reduktion des Phäophorbids und ebenso unversehrten Chlorophyllids und Chlorophylls hatte nur reines Phäoporphyrin  $a_5$ <sup>47</sup> ergeben. Im Magen-Darmkanal, in dem starke Reduktionsprozesse häufig nachgewiesen sind, tritt unter anderem das Porphyrin-Phylloerythrin auf und dementsprechend wurden zuerst die Porphyrine als Reduktionsprodukte des Chlorophylls aufgefaßt. Auf synthetischem Wege wurden dann Porphyrine mit Reduktionsmethoden in Chlorine übergeführt und hiernach sollten die Porphyrine als Oxydationsprodukte der Phorbide und Chlorine erklärt werden. Endlich gelang es, auf synthetischem Wege — und zwar durch Oxydation von Porphyrinen — den Chlorinen sehr ähnliche Körper zu erzeugen, sodaß letztere als Oxydationsprodukte der Porphyrine erscheinen mußten. Nur langsam trat Klärung der Sachlage ein, und zwar fiel zuerst durch die Elementaranalyse die außerordentliche Ähnlichkeit der Zusammensetzung zwischen Phäo-porphyrin  $a_5$ -dimethylester und Methyl-phäophorbid auf, sowie zwischen Chlorin e-trimethylester und Chloro-porphyrin  $e_6$ -trimethylester, sodaß Isomerisation in den Vordergrund der Betrachtung gerückt wurde.

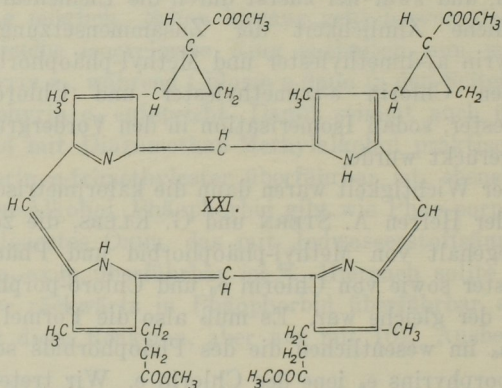
Von großer Wichtigkeit waren dann die kalorimetrischen Untersuchungen der Herren A. STERN und G. KLEBS, die zeigten, daß der Energiegehalt von Methyl-phäophorbid und Phäo-porphyrin  $a_5$ -dimethylester sowie von Chlorin  $e_6$  und Chloro-porphyrin  $e_6$ -trimethylester der gleiche war. Es muß also die Formel von Phäoporphyrin  $a_5$  im wesentlichen die des Phäophorbids sein und die des Chloroporphyrins  $e_6$  jene des Chlorin e. Wir treten so in die Diskussion des Phorbid-, bzw. Chlorinzustandes des Chlorophylls ein, wobei außerordentliche Schwierigkeiten eintraten; denn in den

<sup>47</sup> A. 490, 49 (1931).

Seitenketten wurden Chlorophyll und seine Derivate als gesättigte Gebilde allgemein aufgefaßt, sodaß die Isomerie zwischen den Porphyrinen, den Phorbiden und den Chlorinen keine richtige Erklärung finden konnte und überall Widersprüche vorhanden waren. Zur Diskussion standen Methylen-Gruppen als Bindeglieder zwischen Pyrrolkernen<sup>48</sup> oder Pyrrolinbildung<sup>48</sup>. Letztere Erklärung, die vor allem für die synthetischen Chlorine diskutiert wurde, war für die „natürlichen“ Produkte schwer heranzuziehen, weil in diesen dann nach dem Stand der damaligen Erkenntnis ein höherer Wasserstoffgehalt als in den Porphyrinen sein mußte. Tatsächlich bestand aber Isomerie.

#### Auffindung eines Vinylrestes in Phorbiden, Chlorinen, Purpurinen und Porphyrinen des Chlorophylls.

Läßt man farblosen Jodwasserstoff auf Phorbide oder Chlorine einwirken erhält man Acetyl-porphyrine<sup>49</sup>, und zwar sitzt der Acetylrest in 2-Stellung, wie auf synthetischem Wege<sup>50</sup> bewiesen wurde. Fast noch eindeutiger ist der Nachweis der Vinylgruppe durch die Reaktion mit Diazoessigester<sup>51</sup>. Protoporphyrin enthält zwei Vinylgruppen und reagiert mit zwei Molekülen Diazoessigester zur 1,3,5,8-Tetra-methyl-2,4-dicyclo-propyl-carbonsäure-ester-porphin-6,7-dipropionsäure:



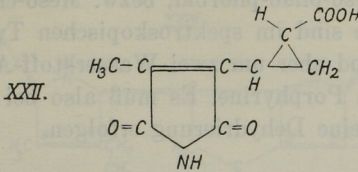
<sup>48</sup> A. 471, 290 (1929); A. 482, 1 (1930).

<sup>49</sup> A. 508, 224 (1934).

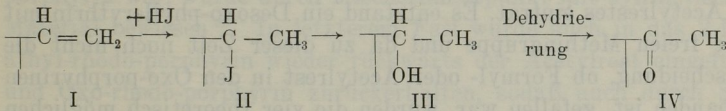
<sup>50</sup> A. 519, 1 (1935).

<sup>51</sup> A. 517, 246 (1935).

Die Konstitution dieser Körper wurde außer durch Analyse bewiesen durch Oxydation, die neben Hämatinsäure Methyl-maleinimid-cyclopropyl-carbonsäure folgender Formulierung ergab:



In gleicher Weise reagierten nun die Phorbide, Chlorine und Purpurine, z. B. Phäophorbid mit Diazoessigester und bei der Oxydation konnte Methyl-maleinimid-cyclopropyl-carbonsäure (XXII) neben Methyl-äthyl-maleinimid und Hämatinsäure erhalten werden. Hiernach mußte auch im Phäophorbid die Vinylgruppe<sup>52</sup> enthalten sein und es sei gleich darauf hingewiesen, daß die Diazoessigester-Reaktion ganz allgemein für den Nachweis der Vinylgruppe auch in den Porphyrinen brauchbar ist. So kann auch im Pseudo-verdo-porphyrin, im Phyllo- und Rhodo-chlorin die Vinylgruppe nachgewiesen werden. Die Vinylgruppe erklärt auch den Übergang zum Acetylrest der Oxo-porphyrine glatt im Sinne folgenden Schemas:



Zunächst lagert sich Jodwasserstoff an die Vinylgruppe an, das Jod tauscht sich gegen Hydroxyl aus und spontan tritt Dehydrierung zum Acetylrest ein. Die Reaktion steht in völliger Analogie zur Hämato-porphyrin-Reaktion des Hämins, nur in der letzten Phase tritt eine Abweichung ein, insofern, als beim Hämato-porphyrin der Zustand III die Endreaktion darstellt.

Auch Bromwasserstoff sowie Methylalkohol<sup>53</sup> lassen sich genau so wie beim Hämin an die Vinylgruppe der Chlorophyll-Derivate anlagern. Durch katalytische oder Eisessig-Jodwasserstoff-Reduktion läßt sich Hämin in das um vier Wasserstoffe reichere

<sup>52</sup> Vgl. auch A. 525, 262 (1936).

<sup>53</sup> A. 521, 261 (1935).

Meso-hämin überführen, eine Reaktion, die beim Bilirubin zum Meso-bilirubin führt. Genau so lassen sich auch in der Chlorophyll-Reihe die entsprechenden Meso-Derivate erhalten<sup>54</sup> und man kommt so zum Meso-phäo-phorbid, bzw. Meso-chlorin u. a. mehr. Die Meso-Derivate sind im spektroskopischen Typ noch Phorbide bzw. Chlorine, sind aber um zwei Wasserstoff-Atome reicher wie die entsprechenden Porphyrine. Es muß also bei der Überführung in das Porphyrin eine Dehydrierung erfolgen.

#### Nachweis der Vinylgruppe in 2-Stellung.

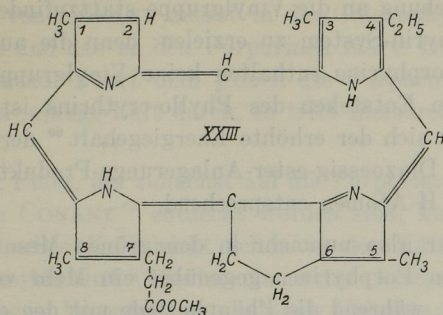
Von besonderem Interesse war es, den Ort der Vinylgruppe im Molekül festzustellen. Dies gelang zuerst<sup>55</sup> durch Behandlung des Oxo-phyllerythrins mit konzentrierter Salzsäure im Druckrohr. Hierbei entstanden zwei Porphyrine, ein Phyllo-erythrin mit freier Methingruppe und durch sekundären Abbau ein Pyrro-porphyrin, das noch eine zweite freie Methingruppe enthielt. Letzteres wurde synthetisiert<sup>56</sup>. Im Mischschmelzpunkt trat keine Depression ein. Ein weiterer Beweis wurde durch Abbau von Oxo-phyllerythrin mit Bromwasserstoff-Eisessig in Angriff genommen, wobei Reduktion der Ketogruppe des isocyclischen Ringes und Abspaltung des Acetylrestes eintrat. Es entstand ein Desoxo-phyllerythrin mit einer freien Methingruppe und da zu dieser Zeit noch nicht die Entscheidung, ob Formyl- oder Acetylrest in den Oxo-porphyrinen vorhanden ist, gefallen war, wurden die vier theoretisch möglichen Desoxo-phyllerythrine mit je einer freien Methingruppe in Stellung 1, 2, 3 oder 4 synthetisiert<sup>57</sup>, von denen eines dann mit dem analytischen Material identisch sein mußte. Der Desoxo-phyllerythrin-ester folgender Formulierung ergab mit dem analytischen Präparat im Mischschmelzpunkt keine Depression, während mit den übrigen

<sup>54</sup> Das Aufnahme-Vermögen von zwei Wasserstoff-Atomen haben in einer „vorläufigen Mitteilung“ die Herren STOLL und WIEDEMANN (Helv. Chim. Acta XVI, 191 [1932]) zuerst richtig angegeben, aber ohne experimentelle Belege. Sie nahmen Addition an einer Doppelbindung im Kernsystem an.

<sup>55</sup> A. 513, 111 (1934).

<sup>56</sup> A. 516, 177 (1935).

<sup>57</sup> A. 519, 1 (1935).



gen sich Verschiedenheit herausstellte, auch im spektroskopischen Befund. Mit dieser Feststellung war auch gleichzeitig ein definitiver Beweis für das Vorhandensein des Acetylrestes in den Oxo-porphyrinen erbracht und damit der Vinylgruppe im Ausgangsmaterial. Auch bestätigte sich wiederum damit die Anordnung der Substituenten des „natürlichen“ Hämins.

Ein dritter Beweis wurde durch Verdrängung des Acetylrestes in Oxo-rhodo-porphyrin durch Brom geliefert. Das Brom wurde durch katalytische Reduktion entfernt und es entstand ein Rhodoporphyrin mit freier Methingruppe. Daß es ein 2-Desäthyl-rhodoporphyrin war, wurde durch Mischschmelzpunkt mit synthetischem Material bewiesen<sup>58</sup>. In letzterem Fall wurde auch in das 2-Desäthyl-rhodo-porphyrin wieder rückwärts der Acetylrest eingeführt und Oxo-rhodo-porphyrin zurückerhalten, sodaß auch durch Synthese der Konstitutionsbeweis des Oxo-rhodo-porphyrins und damit der Oxo-Körper erbracht ist<sup>59</sup>.

Gleichzeitig ist damit auch der Nachweis des Acetylrestes in den Oxo-porphyrinen bestätigt. Früher hatten wir Formylreste angenommen; in 2-Stellung kann aber natürlich nur ein Äthylrest stehen.

Für die Konstitutionsauffassung des Chlorophylls und seiner Derivate war der Nachweis der Vinylgruppe grundlegend; denn jetzt erst war die leichte Isomerisation der grünen Körper zu den roten Körpern verständlich. Es brauchte also lediglich eine Was-

<sup>58</sup> A. 516, 177 (1935).

<sup>59</sup> A. 521, 261 (1935).

serstoffverschiebung an die Vinylgruppe stattzufinden, um das gesättigte Porphyrin-System zu erzielen; denn die aus Chlorophyll erhältlichen Porphyrine enthalten keine Vinylgruppe mehr. Auch das biologische Entstehen des Phyllo-erythrins ist verständlich. Ebenso erklärt sich der erhöhte Energiegehalt<sup>60</sup> der Meso-Verbindungen<sup>61</sup> und Diazoessig-ester-Anlagerungs-Produkte an die grünen Körper, 2 H-Atomen entsprechend.

Bewiesen war also nunmehr in den grünen Meso-Verbindungen den gesättigten Porphyrinen gegenüber ein Mehr von zwei Wasserstoffatomen, während die Phäophorbide mit den entsprechenden Porphyrinen isomer waren, aber genau so, wie die Meso-Verbindungen im Gerüstsystem 2 H-Atome mehr besitzen mußten (die dem Äthylrest entzogen waren) und es handelte sich nun darum, den Ort dieser Wasserstoff-Atome zu ergründen. Die Entscheidung hierüber wurde durch den Nachweis der optischen Aktivität des Rhodo-chlorins, des Phyllo-chlorins, des Pyrro-chlorins und ihrer Meso-Verbindungen erbracht.

#### Nachweis der optischen Aktivität des Chlorophylls.

Phäo-porphyrin  $a_5$  und Phäo-phorbid besitzen im Kohlenstoff-Atom 10 ein Asymmetrie-Zentrum und demgemäß konnte Chlorophyll optisch aktiv sein<sup>62</sup>. Behauptet wurde die optische Aktivität zuerst von STOLL und WIEDEMANN<sup>63</sup>, die geringe Drehungen — nahezu oder innerhalb der Fehlergrenze — beobachteten, die schnell in Inaktivierung übergingen. Wir konnten die optische Aktivität des Chlorophylls und zahlreicher Derivate bestätigen, nicht aber die leichte Inaktivierung. Selbst stundenlanges Kochen in Pyridin vermag die Inaktivierung nicht herbeizuführen, auch nicht immer die Überführung in die Leukoverbindung und Reoxydation. Chlorophyll und seine Derivate sind linksdrehend, mit Ausnahme der Körper, die mit propylalkoholischem Kali dargestellt sind, ein

<sup>60</sup> A. STERN und G. KLEBS, A. 505, 305. (1933).

<sup>61</sup> „Meso“ bedeutet in 2-Stellung Äthyl, statt Vinyl.

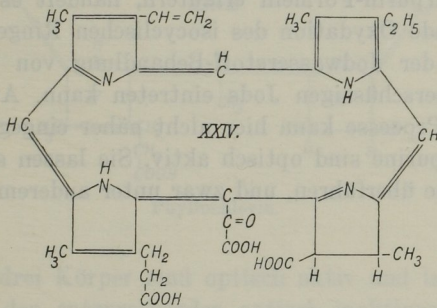
<sup>62</sup> A. 490, 55 (1931).

<sup>63</sup> Helv. Chim. Acta XVI, 307 (1933).



Reagens, das von CONANT zuerst in die Chlorophyll-Chemie eingeführt wurde und das zu den Purpurinen führt. Diese sind sämtlich rechtsdrehend. Führt man jedoch die Purpurin-Reaktion mit Hilfe von Natronlauge-Luft durch, so tritt linksdrehendes Pseudochlorin  $p_6$  auf.

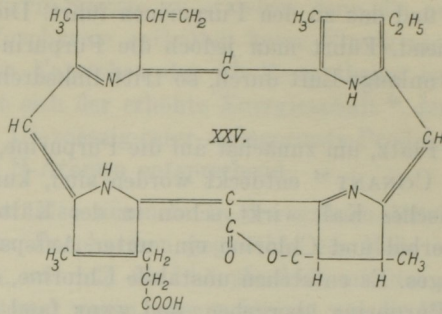
Hier ist der Platz, um zunächst auf die Purpurine, die — wie erwähnt — von CONANT<sup>64</sup> entdeckt worden sind, kurz einzugehen. Propylalkoholisches Kali wirkt schon in der Kälte auf Chlorophyll, Phäophorbid und Chlorine ein unter Aufspaltung des isocyclischen Ringes. Es entstehen instabile Chlorine, die durch Diazomethan in Purpurine übergehen, und zwar fand CONANT zwei Purpurine, Purpurin 7 und Purpurin 18. Letzteres enthält ein Kohlenstoff-Atom weniger wie Purpurin 7. Purpurin 7 entspricht folgender Formulierung (XXIV):



Daß die Vinylgruppe vorhanden ist, wurde durch die Reaktion mit Diazoessigester bewiesen und die Oxo-Reaktion und durch den Abbau zu Rhodochlorin, wobei also der Glyoxylsäurerest abgesprengt wird. Daß Rhodochlorin die Vinylgruppe enthält, geht aus seinem Übergang in 2-Vinyl-rhodo-porphyrin hervor.

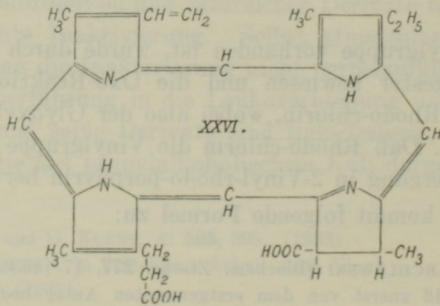
Purpurin 18 kommt folgende Formel zu:

<sup>64</sup> Nach L. MARCHLEWSKI (Biochem. Ztschr. **277**, 17 [1935]) und CONANT wurde Purpurin 18 zuerst von dem erstgenannten Autor beobachtet und als Anhydro- $\beta$ -phyllo-taonin beschrieben.

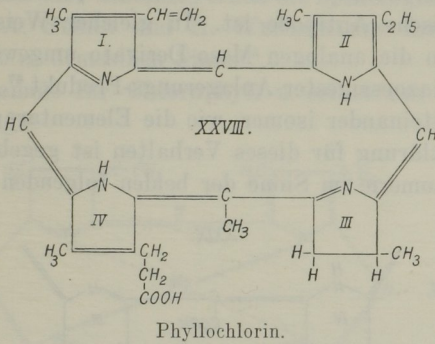
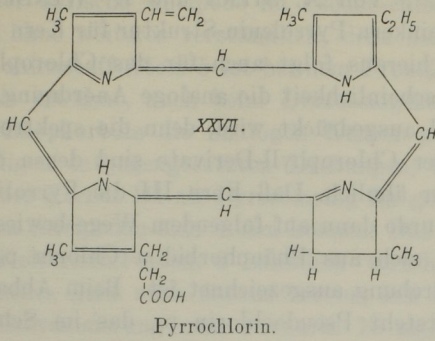


Seine Vinylgruppe ist in ähnlicher Weise, wie dies beim Purpurin 7 ausgeführt, bewiesen.

Wie die Purpurin-Formeln erläutern, handelt es sich hier um eine weitgehende Oxydation des isocyclischen Ringes, ähnlich wie sie auch bei der Jodwasserstoff-Behandlung von Chlorin e bei Gegenwart überschüssigen Jods eintreten kann. Auf die Einzelheiten dieser Prozesse kann hier nicht näher eingegangen werden. Auch die Purpurine sind optisch aktiv. Sie lassen sich in optisch aktive Chlorine überführen, und zwar unter anderem in die folgenden:



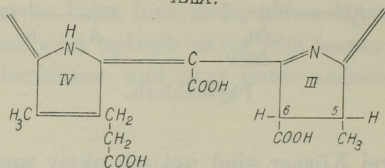
Rhodochlorin.



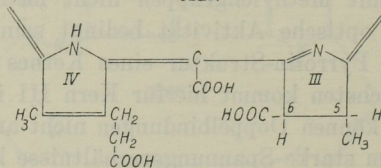
Auch diese drei Körper sind optisch aktiv und lassen sich isomerisieren zu den entsprechenden optisch inaktiven Porphyrinen. Für das Chlorophyll, die Chlorine und die Purpurine kommen hier nach Formeln mit Methylengruppen nicht mehr in Frage, weil hierdurch keine optische Aktivität bedingt sein kann. Es bleibt nur noch übrig, Pyrrolin-Struktur eines Kernes anzunehmen und am wahrscheinlichsten kommt hierfür Kern III in Frage. Im isocyclischen Ring können Doppelbindungen nicht auftreten, da sonst in diesem System starke Spannungsverhältnisse herrschen würden. Hierdurch sind die übrigen Kerne des Systems weitgehend im Sinne der bisher schon gebrachten Formeln festgelegt. Daß Kern I und II verschieden zu formulieren sind folgte bereits aus den spektroskopischen Befunden der vier synthetisierten  $\beta$ -freien Desoxo-

phyllerythrine<sup>65</sup>. Von A. STERN und H. WENDERLEIN<sup>66</sup> wurde dann im Porphinkern Pyrrolenin-Struktur für Kern I und III nachgewiesen und hieraus folgt auch für das Chlorophyll selbst mit größter Wahrscheinlichkeit die analoge Anordnung, wie sie in der obigen Formel ausgedrückt wird, denn die spektroskopischen Erscheinungen der Chlorophyll-Derivate sind denen der Porphyrine prinzipiell sehr ähnlich. Daß Kern III die Pyrrolin-Struktur besitzen muß, wurde dann auf folgendem Wege bewiesen: Wie schon erwähnt, läßt sich aus Phäophorbid a Chlorin p<sub>6</sub> erhalten, das durch Rechtsdrehung ausgezeichnet ist. Beim Abbau mit Natronlauge-Luft entsteht Pseudochlorin p<sub>6</sub>, das im Schmelzpunkt des Esters spektroskopisch und durch die entgegengesetzte Drehung — nämlich Linksdrehung — sich von Chlorin p<sub>6</sub> unterscheidet, aber nicht der optische Antipode ist. In gleicher Weise kann Meso-phäophorbid in die analogen Meso-Derivate umgewandelt werden, ebenso das Diazoessigester-Anlagerungs-Produkt<sup>67</sup>. Beide Reihen sind jedoch miteinander isomer, wie die Elementaranalyse dies beweist. Die Erklärung für dieses Verhalten ist gegeben durch Auffassung der Isomerie im Sinne der beiden folgenden Formeln:

XXIX.

Pseudochlorin p<sub>6</sub>.

XXX.

Chlorin p<sub>6</sub>.

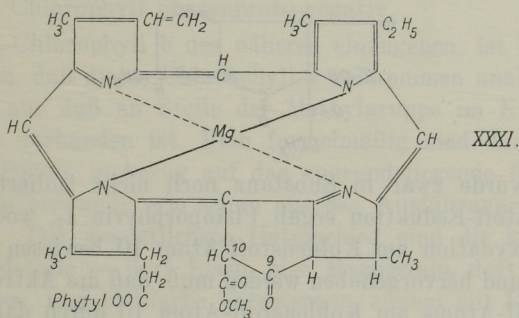
<sup>65</sup> A. 519, 16—17 (1935).

<sup>66</sup> Ztschr. physikal. Chem. (A.) 175, 405 (1936).

<sup>67</sup> A. 524, 251 (1936).

Daß nicht der optische Antipode im Pseudo-chlorin  $p_6$  vorliegt ist am Modell ohne weiteres verständlich; denn das Asymmetriezentrum am Kohlenstoff-Atom 5 ist bei dem Prozeß gar nicht beteiligt. Da, wie erwähnt, auch beim Diazoessigester- und Meso-Derivat des Phäophorbids die analogen Körper gebildet werden mit den jeweiligen entgegengesetzten Drehungen, halten wir die Formulierung des Kernes III als Pyrrolinring für gesichert, da nur so die optischen Antipoden sich bilden können. Daß die Carboxylgruppen am Kohlenstoff-Atom 6 räumlich verschiedenartig gelagert sein müssen, geht auch daraus hervor, daß in der Chlorin  $p_6$ -Reihe die Anhydrierung zum Purpurin 18 möglich ist, während in der Pseudo-Reihe sie nicht vonstatten geht. Sterische Verschiedenheit muß also bestehen. Auch die spektrographische Untersuchung von A. STERN und H. WENDERLEIN der einschlägigen Körper spricht in demselben Sinne <sup>68</sup>.

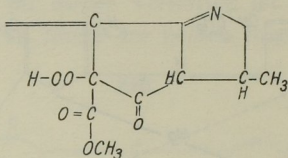
Hiernach kommt für Chlorophyll a selbst nur noch folgende Formel in Frage:



Sie ist imstande, alle Umsetzungen zu erklären und auch eine Willkür in der Anordnung der doppelten und der einfachen Bindungen ist nicht mehr möglich. Diese Konstitutionsformel besitzt am tertiären Kohlenstoffatom 10 ein Wasserstoffatom, das durch besondere Labilität ausgezeichnet sein muß, ist doch eine Carbonylgruppe und ein Carbmethoxyrest in Nachbarstellung. Und dies erklärt auch zwei wichtige Eigenschaften des Chlorophylls, die Allomerisation und die Phasenprobe (MOLISCH).

<sup>68</sup> Ztschr. physikal. Chem. (A.), Über die Lichtabsorption der Porphyrine, VII. Mttlg.

Unter Allomerisation versteht man die Tatsache, daß alkoholische Lösungen von Chlorophyll oder Chlorophylliden zur Trockene eingedampft, die Kristallisationsfähigkeit verlieren und phasenprobe-negativ werden, d. h. es entsteht sofort die grüne Phase. CONANT verdanken wir die Feststellung, daß bei diesem Prozeß 1 Mol Sauerstoff pro Chlorophyll-Molekül verschluckt wird und wir konnten zeigen, daß hierbei am C<sub>10</sub> Oxydation eintritt. Es konnte der Allomerisationsprozeß mit Chinon unter Hydrochinonbildung im alkoholischen Medium nachgeahmt werden und es wurde bei der Jodwasserstoff-Reduktion nunmehr 10-Äthoxy-, bzw. 10-Methoxy-phäoporphyrin a<sub>5</sub> isoliert. Der Prozeß geht also so vor sich, daß das Chlorophyll sich an das Chinon in 1-, 6-Stellung anlagert zum Hydro-chinon-äther (WIELAND), der dann der Alkohololyse unterliegt. Es konnte auch 10 Äthoxy-phäoporphyrin a<sub>5</sub> isoliert werden und auch 10-Äthoxy-phäophorbid a. Mit Alkohol-Luft — also bei der rein klassischen Allomerisation — muß das 10-Peroxyd-Derivat folgender Formulierung auftreten:



Dieses wurde zwar in Substanz noch nicht isoliert, aber die Jodwasserstoff-Reduktion ergab Phäoporphyrin a<sub>7</sub>, wodurch auch hier die Oxydation am Kohlenstoff-Atom 10 bewiesen ist. Interessant ist und hervorgehoben werden muß, daß die Aktivierung des Wasserstoff-Atoms am Kohlenstoff-Atom 10 durch das komplexgebundene Magnesium (ob auch andere Metalle diese Fähigkeit besitzen, ist z. Zt. in Bearbeitung) hervorgerufen wird.

Beim Phäophorbid konnte mit Jod-Alkohol der Prozeß nicht nachgemacht werden, im Gegensatz zum Chlorophyllid a und zum Phäoporphyrin a<sub>5</sub>, wo diese Umsetzungen glatt gehen. Im Phäoporphyrin a<sub>5</sub> ist also das 10-H-Atom labiler als im Phäophorbid, während es in seinem Phyllin keine erhöhte Reaktionsfähigkeit zeigt, insbesondere unempfindlich ist gegen den Sauerstoff der Luft.

Was die MOLISCH'sche Phasenprobe anlangt, so wird diese ein-

geleitet durch das Entstehen des gelben Kaliumsalzes dadurch, daß das Wasserstoff-Atom vom Kohlenstoff-Atom 10 zur Carbonylgruppe in 9 wandert. Dadurch entsteht zwischen 9 und 10 eine Doppelbindung. Der Ring ist labilisiert, wie die Konstruktion im Modell dies überzeugend dartut, und die Tendenz zur Ringspaltung ist groß. So erklärt es sich, daß die Hydrolyse nun unter dem Einfluß von methylalkoholischem Kali sich außerordentlich leicht mit enormer Reaktionsgeschwindigkeit innerhalb 30 Sekunden quantitativ vollzieht<sup>69</sup> und Chlorin e gebildet wird. Reines Chlorin e, frei von unstablen Chlorinen und Purpurinen, sind die Kennzeichen der Unversehrtheit des Chlorophylls und noch überzeugender und einfacher durchzuführen ist die Methanolyse mit Hilfe von Diazomethan, bei der bei Vorliegen von unversehrttem Chlorophyll ebenfalls nur Chlorin e-trimethyl-ester gebildet wird<sup>70</sup>. In Übereinstimmung damit geben auch die 10-Oxy-Derivate des Phäophorbids keine Phasenprobe, weil das Wasserstoff-Atom zur Bildung der Enolgruppe am C<sub>9</sub> fehlt, aus demselben Grund ist auch allomerisiertes Chlorophyll phasenprobe-negativ.

Hier auf Chlorophyll b des näheren einzugehen, ist unmöglich. Erwähnt sei, daß dieses Chlorophyll a vollkommen analog konstituiert ist, nur daß an Stelle der Methylgruppe im Kern II ein Formylrest vorhanden ist. Rein formelmäßig sind dann Chlorophyll und Hämin in bezug auf das zugrundeliegende Ringsystem relativ nahe verwandt, wie schon aus den Ausführungen Seite 83 hervorgeht. Der wesentlichste Unterschied sind die komplex-gebundenen Metalle — dort Eisen, hier Magnesium, dort freie Carboxylgruppen, hier zweifache Veresterung, einmal mit Phytol, einmal mit Methylalkohol.

Chlorophyll a ist eine Monocarbonylverbindung, b enthält zwei Carbonyle.

Entwicklungsgeschichtlich halten wir Hämin für den älteren Farbstoff. Wie die Umwandlung in Chlorophyll erfolgt, ist noch unklar. Vielleicht erfolgt zuerst Methylierung am  $\gamma$ -Kohlenstoff-Atom; denn bei unseren synthetischen Versuchen haben wir gefunden, daß Derivate des Phyllo-porphyrins mit ungesättigter Seiten-

<sup>69</sup> Vgl. auch A. 524, 269 (1936).

<sup>70</sup> A. 506, 107 (1933).

kette in 6-Stellung, bereits unter den mildesten Bedingungen, den isocyclischen Ring schließen.

Weitere Fortschritte in der Erkenntnis sind auf synthetischem Gebiete zu erwarten, aber auch auf analytischem, durch Untersuchung des Chlorophylls niederer Pflanzen. Nachdem die Schwefelbakterien ein modifiziertes Chlorophyll besitzen, in welchem an Stelle der Vinylgruppe ein Acetylrest sitzt, besteht durchaus die Möglichkeit, daß auch noch weitere, anders geartete Chlorophylle in der Natur auftreten.

Diese Untersuchungen sind in den letzten sieben Jahren am Organisch-chemischen Institut der Technischen Hochschule München durchgeführt worden.

Dank schulde ich meinen zahlreichen Mitarbeitern, deren Namen in den Veröffentlichungen in *LIEBIG'S Annalen* angeführt sind.

Weiterhin haben die Arbeiten durch die ausgezeichneten Apparate von Herrn Dr. W. NEUMANN eine große Förderung erfahren, insbesondere bedeuten die Extraktionsapparate eine außerordentliche Verbilligung und Beschleunigung der Verfahren. Die zahllosen Mikroanalysen sind von Herrn Dr. J. UNTERZAUCHER und seinen Mitarbeitern durchgeführt worden.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft), dem Stifterverband der Deutschen Forschungsgemeinschaft und der Rockefeller Foundation bin ich für pekuniäre Unterstützung zu größtem Danke verpflichtet.

---