

### 191. William Küster und Walter Heeß: Beiträge zur Kenntnis der prosthetischen Gruppe des Blutfarbstoffs.

[Aus d. Laborat. für Organ. u. pharmazeut. Chemie d. Techn. Hochschule Stuttgart.]  
(Eingegangen am 31. März 1925.)

Während das erste Paar ungesättigter Stellen im Molekül des Hämins in Gestalt von vier Methinen angenommen worden war, welche die vier in  $\beta$ -Stellung substituierten Pyrrol-Kerne in den  $\alpha$ -Stellungen verbinden und den Farbstoff-Charakter bedingen, war für das zweite Paar die Form zweier Vinyl- als Seitenketten an zweien der Pyrrol-Kerne in  $\beta$ -Stellung gewählt worden<sup>1)</sup>. Beim Übergang in Mesohämin sollte an diesen die Anlagerung von 4 Wasserstoffatomen erfolgen, bei der Bildung des Hämatoporphyrins bzw. seines Dimethyläthers außer der Herausnahme des Eisens die Addition von 2 Mol. Bromwasserstoff unter nachfolgendem Ersatz zweier Bromatome durch Hydroxyl bzw. Methoxyl eintreten, je nachdem das primäre Produkt durch Wasser oder Methylalkohol umgesetzt worden war. Somit konnte auch die Anlagerung von Halogen an die Dimethylester des Chlor- bzw. des Brom-Hämins in Chloroform-Lösung an den Vinylen erfolgt sein; doch zeigte es sich, daß bei Verwendung von Brom das Hauptprodukt ein Dibromid war<sup>2)</sup>.

Diese Tatsache könnte nun dafür sprechen, daß entgegen unseren Anschauungen das Bild des Hämins eine Brücke von zwei doppelt gebundenen Kohlenstoffatomen aufweist, welche die vier Pyrrol-Ringe verbindet, wie wir sie in den Bildern von R. Willstätter<sup>3)</sup> und H. Fischer<sup>4)</sup> denn auch vorfinden. Dann müßte sich aber durch die Addition von Brom der Farbstoff-Charakter wesentlich ändern; denn im Bilde von Willstätter wird er allein durch die Kohlenstoff-Brücke bedingt. Das ist aber nicht der Fall, wie die Gegenüberstellung der Spektren zeigt, die mit dem uns zur Verfügung stehenden Handspektroskop aufgenommen worden sind.

In Chloroform gelöst zeigt: Dimethyl-(brom)hämin folgende Streifen: I 620—640 (stark), II 535—555 (schwach), III 500—520 (schwach), Dibrom-dimethyl-(brom)hämin I 618—635 (stark), II 535—550 (schwach), III 500—515 (schwach), bei beiden Präparaten tritt ab 450 Verdunklung ein.

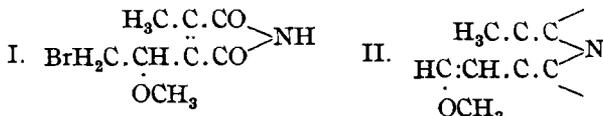
Aus diesen Beobachtungen darf also geschlossen werden, daß die Addition von Brom nicht an den ungesättigten Stellen vor sich gegangen ist, die den Farbstoff-Charakter bedingen. Sie kann aber auch nicht an einem „Vinyl“ erfolgt sein, denn dann könnte das entstandene Dibromid nicht mehr zur vollständigen Hämatoporphyrin-Bildung befähigt sein, wie es doch tatsächlich der Fall ist. Gibt doch der Dibrom-(brom)hämin-dimethylester bei der Behandlung mit Bromwasserstoff-Eisessig, soweit das Eisen aus ihm herausgenommen wird, ein Produkt, das durch nachfolgende Einwirkung von Methylalkohol in den prachtvoll krystallisierenden Dibrom-hämatoporphyrin-dimethyläther übergeht. Das angelagerte Brom bleibt also im Molekül erhalten, und trotzdem haben sich zwei Moleküle Bromwasserstoff addiert. Daraus folgt aber, daß im Hämin eine weitere

<sup>1)</sup> B. 53, 623 [1920]; H. 82, 469 [1912], 110, 93 [1920], 129, 164 [1923].

<sup>2)</sup> H. 136, 238 [1924]. Die Addition von mehr als 2 Bromatomen ist bisher nicht gelungen. Ein Überschuß von Brom bewirkt Substitution.

<sup>3)</sup> H. 87, 423 [1913].      <sup>4)</sup> H. 89, 263 [1914].

ungesättigte Stelle vorhanden sein muß. Hierfür war ein Pyrrolin-Kern in Betracht gezogen worden<sup>5)</sup>. Daß diese Vorstellung nicht haltbar ist, hat die Aboxydation des dibromierten Hämatoporphyrin-dimethyläthers erwiesen, bei welcher ein brom-haltiges Imid vom Schmp. 75<sup>0</sup> erhalten wird, dem die Formel  $C_8H_{10}O_3NBr$  zukommt. Nach allen bisherigen Erfahrungen kann ihm mit hoher Wahrscheinlichkeit die Konstitution eines Methyl- $[\beta$ -brom- $\alpha$ -methoxy-äthyl]-maleinimids (I) zugewiesen werden.



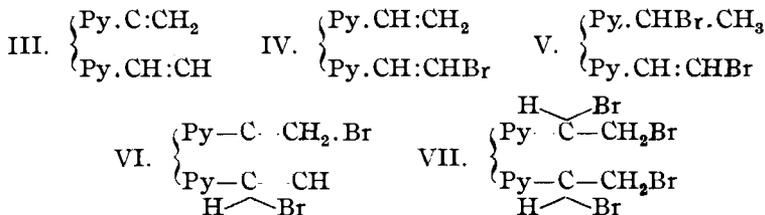
Dieses Imid wurde, auf 1 Mol. des Porphyrins berechnet, neben 2 Mol. Hämatinsäure in einer Ausbeute erhalten, die an 2 Mole heranreicht. Der das Imid liefernde Pyrrol-Kern ist also zweimal im Molekül des Porphyrins enthalten. Es sind somit zum ersten Mal auf oxydativem Wege alle 4 Pyrrol-Kerne der prosthetischen Gruppe des Blutfarbstoffs gefaßt worden, und zweitens ist festgestellt, daß die Addition von Brom an 2  $\beta$ -ständigen Seitenketten erfolgt ist, die im Hämin miteinander in Verbindung stehen müssen und nun nicht mehr in Form zweier Vinyle ( $C_4H_4$ ) formuliert werden dürfen, sondern noch um 2 Wasserstoffäquivalente ungesättigter sind ( $C_4H_4$ ), da ja, ehe es zur Porphyrin-Bildung kommt, noch 2 Mol. Bromwasserstoff angelagert werden müssen. Es ist nun zunächst interessant, daß erst durch die vollständige Absättigung mit 6 Äquivalenten Wasserstoff an den Seitenketten die Stabilisierung aller 4 Pyrrol-Kerne eingetreten ist, liefert doch das Hämin nur 2 Mol. Hämatinsäure bei der Oxydation, der Hämatoporphyrin-dimethyläther neben 2 Mol. Hämatinsäure 1 Mol. eines Imids  $C_8H_{11}O_3N$ , für das die Konstitution eines Methyl- $[\alpha$ -methoxy-äthyl]-maleinimids mit hoher Wahrscheinlichkeit bewiesen worden ist. Wie schon erwähnt, ist er nach der Addition von 2 Mol. Bromwasserstoffsäure entstanden, enthält demnach nur an dem einen Pyrrol-Kern die gesättigte Seitenkette  $CH_3.CH(OCH_3)-$ , der zweite Pyrrol-Kern weist höchstwahrscheinlich die Anordnung II, also eine noch ungesättigte Seitenkette, auf, die bei der Oxydation die Zerstörung des ganzen Pyrrol-Komplexes bewirkt, denn gerade ein Methoxyl des Hämatoporphyrin-dimethyläthers läßt sich sehr leicht verseifen, und bei der Aboxydation des nun vorliegenden Monomethyläthers wird denn auch dasselbe Imid erhalten, das der Dimethyläther liefert.

Es fragt sich nun, wie der Komplex  $C_4H_4$  zu formulieren ist. H. Fischer<sup>6)</sup>, der, was den Grad des Ungesättigtseins betrifft, zu demselben Resultat gekommen ist wie wir, glaubt eine Acetylungruppe neben einem Vinyl in Betracht ziehen zu können. Diese Vorstellung, wie erst recht die aus dem von Willstätter gegebenen Bild für das Hämin zur Hälfte übernommene Ansicht, wonach neben einem Vinyl eine von einem  $\beta$ -ständigen Kohlenstoffatom des Pyrrol-Kerns zum Stickstoff führende  $CH:CH$ -Brücke vorhanden sein soll, glauben wir nun auf Grund der geschilderten Beobachtungen ablehnen zu müssen. Denn das Entstehen von 2 Mol. des bromierten Imids zwingt zu der Annahme, daß von den je 2 Kohlenstoffatomen der Gruppen  $C_4H_4$

<sup>5)</sup> H. 186, 236 [1924].<sup>6)</sup> H. 142, 120 [1925].

zwei miteinander verbunden sind, und daß diese Bindung durch die Anlagerung von zwei Bromatomen gesprengt wird. Die weitere Anlagerung von Bromwasserstoff wird aber nach der Anlagerung von Brom in anderer Weise vor sich gehen können als im intakten Hämin. Hier wird der Bromwasserstoff selbst die Sprengung bewirken; denn eine solche scheint nötig zu sein, damit es überhaupt zur Porphyrin-Bildung kommen kann, worin also eine Beziehung des Eisens auch zu dieser ungesättigten Gruppierung involviert ist. Zum Unterschied gegenüber den farbstoffgebenden Gruppen, die ebenfalls mit dem Eisen in Beziehung stehen, deren totale Reduktion aber eine Loslösung des Eisens im Gefolge hat, braucht sich aber das Eisen bei einer Veränderung an der Gruppe  $C_4H_4$  noch nicht aus dem Molekül zu lösen, wie ja das Entstehen des Mesohämins eindringlich lehrt.

Von den möglichen Bildern, die sich nun für die Gruppe  $C_4H_4$  ergeben, möchten wir der Anordnung III den Vorzug geben. Die Anlagerung von Bromwasserstoff allein würde dann über IV zu V führen. Die Anlagerung von Brom an den Ester in Chloroform-Lösung führt zu VI, die Einlagerung von Bromwasserstoff dann zu VII.



Für die angenommene Anlagerung des Broms in 1.4-Stellung des konjugierten Systems  $C_4H_4$  spricht die Beobachtung, wonach aus dem Dibrom-(brom)häm-in-ester beim Kochen mit Methylalkohol ein Bromatom langsam herausgenommen wird. Von größter Bedeutung für unsere Auffassung wird die Oxydation des Dibrom-(brom)häm-in-esters sein. Sie ist in Angriff genommen worden und hat bereits ergeben, daß neben dem Hämatin-säure-ester ein bromhaltiges Imid entsteht. Damit ist schon erwiesen, daß durch die Brom-Anlagerung eine Umformung der Gruppe  $C_4H_4$  zustande kommt, die eine Stabilisierung bewirkt. Das bringt die gewählte Formulierung denn auch zum Ausdruck, und es wird sich vielleicht lohnen, durch eine milde Oxydation die Anlagerung von nur zwei Sauerstoffatomen zu versuchen<sup>7)</sup>.

Ob eine Addition von Brom an das Hämin selbst möglich sein wird, ist noch nicht erprobt worden, soll aber auch versucht werden. Sie kann anders verlaufen als bei den Estern, da die freien Carboxyle in anderer Beziehung zum Eisen stehen als die veresterten. Auch ist es nicht ausgeschlossen, daß  $\alpha$ - und  $\beta$ -Hämine sich verschieden verhalten werden; möglicherweise wird der neue Einblick in die Natur der Seitenketten auch die individuellen Verschiedenheiten beleuchten, die im Blutfarbstoff begründet sind und sich auf die prosthetische Gruppe erstrecken. Vor allem aber wird die Tatsache,

<sup>7)</sup> Bei der Einwirkung von Benzoylperoxyd auf den Chlor-Häm-in-dimethyl-ester findet keine Anlagerung von Sauerstoff, sondern eine Wegnahme von zwei Atomen Wasserstoff statt. Die diesbezüglichen Untersuchungen des Hrn. Dipl.-Ing. Ruff sollen demnächst veröffentlicht werden.

daß sich das unter der Einwirkung starker Basen aus Hämin entstehende Hämatin nicht mehr in Hämin zurückverwandeln läßt, und die weitere, daß das Hämatin zwar unter dem Einfluß von Eisessig-Bromwasserstoff das Eisen verliert, aber kein Porphyrin bildet, mit Umwandlungen der ungesättigten Gruppe  $C_4H_4$  unter der Wirkung des Alkalis in einem Zusammenhange stehen, dessen chemisches Wesen uns durch die neuen Erkenntnisse näher gerückt worden ist.

### Beschreibung der Versuche.

Das für die Untersuchung nötige Chlor-Hämin wurde aus dem Blut kräftiger Ochsen nach der Eisessig-Methode Schalfefeffer hergestellt und das Rohprodukt direkt in den Dimethylester überführt, dadurch daß je 4 g desselben mit einem Gemisch von 8 ccm Pyridin und 70 ccm Chloroform 10 Min. kräftig geschüttelt, die dunkelrote Lösung vom Eiweiß und ungelöst gebliebenen Hämin abgesaugt und das Filtrat in 200 ccm siedenden absol. Methylalkohol, dem 20 ccm 38-proz. Salzsäure zugefügt waren, unter Rühren eingetragen wurde. Nach 12-stdg. Stehen im Eisschrank wurde der abgesetzte Dimethylester abgesaugt und durch Waschen mit kaltem Methylalkohol von hierin löslichen Teilen befreit. Er ist dann vollständig löslich in Chloroform, und in dieser Lösung (1:30) erfolgte dann die Verdrängung des Chlors durch Brom mittels 66-proz. Bromwasserstoffsäure<sup>8)</sup>. Das Dimethyl-(brom)hämin ließ sich aus heißem Eisessig (1:30) umkrystallisieren und wurde in sternförmig gruppierten Spindeln erhalten. Es löste sich nicht in Methylalkohol, wohl aber in mit verd. Schwefelsäure angesäuertem, ist unlöslich in heißer 5-proz. Sodalösung und gab bei Zimmertemperatur so gut wie kein Brom an Soda ab<sup>9)</sup>.

Zur Gewinnung des Brom-Additionsproduktes wurden je 4 g in 80 ccm Chloroform gelöst und mit einer Lösung von 1.8 g Brom (4 Atome) in 20 ccm Chloroform 2 Stdn. geschüttelt. Man läßt dann das Chloroform bis auf ca. 10 ccm verdunsten und fällt mit nieder siedendem Petroläther, saugt ab, wäscht mit Petroläther nach und trocknet im Vakuum, wobei Spuren von Bromwasserstoff auftreten. Es war also im geringen Maße Substitution eingetreten, was auch in der Analyse zum Ausdruck kommt.

55.05 mg Sbst.: 36.53 mg AgBr. —  $C_{36}H_{34}O_4N_4FeBr_3$ . Ber. Br 27.18. Gef. Br 28.32.

Ein Umkrystallisieren aus heißem Eisessig (1:30) ist möglich, wurde aber mit der Hauptmenge nicht ausgeführt. Bei der Behandlung des Dibromids mit Soda bei Zimmertemperatur wurde so gut wie kein Brom abgespalten<sup>9)</sup>.

54.60 mg Sbst. (im Vakuum): 25.75 mg AgBr = 27.86 mg Brom.

Nach dreistündigem Kochen mit absol. Methylalkohol enthielt das Reaktionsprodukt nur noch 21.69% Brom (ber. für 2 Atome 19.18%), dafür aber fast 3 Methoxyle (gef. 3.9%, ber. 5.2%).

47.64 mg Sbst.: 24.28 mg AgBr. — 5.88 mg Sbst.: 3.58 mg AgJ.

Das eine der angelagerten Bromatome wird also allmählich durch Methoxyl ersetzt.

<sup>8)</sup> vergl. H. 91, 129 [1914].

<sup>9)</sup> Das hier vorliegende Präparat verhielt sich also gegen Soda total verschieden von dem H. 136, 237 und 238 beschriebenen, was damit zusammenhängen muß, daß Hr. Oesterlin bei der Darstellung des Bromderivats das Dimethyl-(chlor)hämin unter Zusatz von Pyridin in Chloroform gelöst hatte.

Die Darstellung des Dibrom-hämatoporphyrin-dimethyläthers wurde mit 10 g Dimethyl-dibrom-(brom)hämin ausgeführt, im übrigen nach der gegebenen Vorschrift<sup>10)</sup> verfahren. Bei der Extraktion des rohen, im Vakuum getrockneten Porphyrins mit Äther wurde es in rechteckigen Blättchen, bei der Umkrystallisation aus heißem 90-proz. Methylalkohol in Formen erhalten, die den „Teichmannschen“ Hämin-Krystallen glichen.

Zur Analyse wurde nur im Vakuum getrocknet, die etwas unscharfen Werte dürften daher auf Spuren anhaftenden Methylalkohols zurückzuführen sein.

0.1263 g Sbst.: 0.2522 g CO<sub>2</sub>, 0.0623 g H<sub>2</sub>O. — 7.09 mg Sbst.: 0.45 ccm N (19°, 748 mm). — 53.86 mg Sbst.: 25.26 mg AgBr. — 4.24 mg Sbst.: 2.27 mg AgJ.

C<sub>30</sub>H<sub>40</sub>O<sub>6</sub>N<sub>4</sub>Br<sub>2</sub> (784.38). Ber. C 55.10, H 5.14, N 7.14, Br 20.38, CH<sub>3</sub> 3.83.  
Gef. „ 54.47, „ 5.52, „ 7.30, „ 20.01, „ 3.42.

Die Säurezahl wurde zu 5.7 bestimmt. Der Eintritt des Broms hat also eine Abschwächung der basischen Eigenschaften im Gefolge (Säurezahl des Hämatoporphyrin-dimethyläthers = 4.5). Der Farbstoff löst sich in Natriumbicarbonat, in Äther wenig, reichlich in Chloroform. Beim Einleiten von Ammoniak bzw. Chlorwasserstoff in die absol. ätherische Lösung fallen orangerote bzw. rotviolette flockige Niederschläge aus, die aber den angelegerten Stoff sehr rasch wieder abgeben.

Das Spektrum der salzsauren Lösung weist 2 scharfe Streifen bei 548—582 und 588—592 auf, die Lösung in Chloroform 4 starke Streifen: I bei 492—512, II bei 528—538, III bei 560—574 und IV bei 605—620; die ätherische Lösung: I bei 494—505, II bei 525—534, III bei 563—570 und IV bei 605—620.

Die Veresterung mit siedendem Methylalkohol, der 1% Salzsäure enthält, führte zu einem alkali-unlöslichen, in langgezogenen Rhomben kristallisierten Stoff, der bei 87° sinterte und bei 147° unter Aufschäumen schmolz. Eine Prüfung auf optische Aktivität verlief negativ.

Die Oxydation des Dibrom-hämatoporphyrin-dimethyläthers wurde in Portionen von 5 g, gelöst in 320 ccm 30-proz. Schwefelsäure, mit Chromsäure (9 g 21 Atome O) bei 60° vorgenommen. Bei der üblichen Aufarbeitung wurden gewonnen: 1.9 g Hämatinsäure und 2.3 g Imid, ber. für 2 Mol. 2.33 und 3.15 g.

Das Imid ließ sich aus Petroläther (60—80°) in 4-seitigen Spießen bzw. Prismen, die vielfach kreuzweise durchwachsen sind, erhalten. In allen anderen Solvenzien ist es sehr leicht löslich, der Schmelzpunkt liegt bei 75°.

0.1791 g Sbst. (im Vakuum, dann bei 100°): 0.2546 g CO<sub>2</sub>, 0.0675 g H<sub>2</sub>O. — 9.31 mg Sbst.: 0.48 ccm N (21°, 753 mm). — 0.09746 g Sbst.: 0.0744 g AgBr. — 8.5 mg Sbst.: 7.57 mg AgJ. — 9.61 mg Sbst. geben in 5.45 g Chloroform eine Siedepunkts-Erhöhung von 0.288°.

C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>O<sub>3</sub>NBr. Ber. C 38.715, H 4.00, N 5.65, Br 32.22, CH<sub>3</sub> 6.06, Mol.-Gew. 248.05.  
Gef. „ 38.78, „ 4.20, „ 5.81, „ 32.49, „ 5.7, „ 226.

Bei der Verseifung des Imids mittels Barytwassers wurde unter Entweichen von Ammoniak ein bromfreies Bariumsalz erhalten, das in Wasser leicht löslich war, durch Fällen mit Alkohol aber isoliert werden konnte. Es erwies sich als ein Gemisch, da das Methoxyl teilweise abgespalten

<sup>10)</sup> H. 136, 239.

worden war. Eine Trennung ist bei den geringen zur Verfügung stehenden Mengen noch nicht erreicht worden.

Wir sind der Notgemeinschaft Deutscher Wissenschaft für die Zuweisung einer Unterstützung zu aufrichtigem Dank verpflichtet und möchten denselben auch an dieser Stelle zum Ausdruck bringen.

Stuttgart, am 29. März 1925.

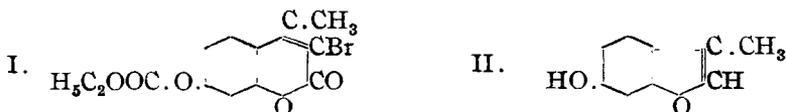
## 192. K. Fries und M. Nöhren: Über *Bz-Oxy-cumaron-Verbindungen.*

[Aus d. Chem. Institut d. Techn. Hochschule Braunschweig.]

(Eingegangen am 6. April 1925.)

Eine in diesen Berichten erschienene Mitteilung von A. Sonn und E. Patschke<sup>1)</sup> über die Darstellung von *Bz-Oxy-cumaron-Verbindungen* gibt uns Veranlassung, einige hierüber schon vor mehreren Jahren<sup>2)</sup> gewonnenen Erfahrungen bekannt zu geben.

Die Annahme, daß die zur Gewinnung einfacher Cumarone gebräuchlichen Methoden sich zur Darstellung von Oxyderivaten „nicht oder nur schlecht eignen“, ist in dieser allgemeinen Form nicht richtig. Wir fanden z. B., daß sich das schon lange bekannte Methyl-3-oxy-6-cumaron<sup>3)</sup> am einfachsten und in bester Ausbeute auf die Fittig-Ebertsche Weise herstellen läßt. Um bei der Bromierung des Methyl-4-umbelliferons Substitution im Benzolkern zu vermeiden, unterwarfen wir statt seiner den Äthylkohlsäureester<sup>4)</sup> der Einwirkung des Halogens. Aus dem hierbei entstehenden Brom-3-derivat (I) läßt sich das Methyl-3-oxy-6-cumaron (II) unmittelbar durch Kochen mit Sodalauge in einer Ausbeute von 80% d. Th. gewinnen.



v. Pechmann und Hanke<sup>5)</sup> haben schon an dem Methyl-4-chlor-3-umbelliferon die Umwandlung in das Methyl-3-oxy-6-cumaron beim Erhitzen mit Sodalösung beobachtet, und sie haben auch bereits die richtige Deutung für diese Umwandlung gegeben. Die Oxy-6-methyl-

<sup>1)</sup> B. 58, 96 [1925].    <sup>2)</sup> Dissertation Nöhren, Marburg 1920.

<sup>3)</sup> Hantzsch, B. 19, 2928 [1886]; v. Pechmann und Hanke, B. 34, 354 [1902]; Karrer und Widmer, Helv. 2, 460 [1919].

<sup>4)</sup> Die Acetylierung bietet nach unseren Erfahrungen bei keinem der Oxy-cumarine ausreichenden Schutz vor der *Bz*-Kernhalogenierung. Hierbei befinden wir uns allerdings in einem Widerspruch zu der Angabe von Karrer, Glattfelder und Widmer, Helv. 3, 353 [1920], wonach aus dem acetylierten Umbelliferon das 3,4-Dibromid leicht zu gewinnen ist. Wir halten es für möglich, daß die verschiedene Beschaffenheit des Broms (Verunreinigung durch katalytisch wirkende Stoffe) die Ursache dieser Unstimmigkeit ist.

<sup>5)</sup> a. a. O. — Die Chlorverbindung wurde unmittelbar aus Resorcin und  $\alpha$ -Chlor-acetessigester gewonnen. Angaben über die Ausbeuten fehlen. Nach unseren Beobachtungen sind sie schlecht. Das veranlaßte uns gerade, ein besseres Verfahren zur Darstellung eines 3-Halogenderivates auszuarbeiten.