

mehrmals sorgfältig mit verdünnter wäßr. Ammoniaklösung (p_H ca. 8.5) gewaschen. Die Filtrate wurden vereint (200 ccm), durch Zusatz von 15 ccm 25-proz. wäßr. Ammoniaklösung auf p_H ca. 10.3 gebracht und durch eine Säule aus Dowex-2-Formiat langsam durchlaufen gelassen (Korngröße 0.1 mm, Durchmesser 3.5 cm, Höhe 85 cm; die Säule wurde vorher mit 0.15 *n* Ammoniak bis zu leicht alkalischem Durchlauf gewaschen). Es wurde zunächst das Ätiocobalamin (mit 0.25-proz. wäßr. Ammoniaklösung) und anschließend das Nucleosid (mit Wasser) eluiert. Die bei 276 $m\mu$ absorbierenden Fraktionen wurden i. Vak. auf ca. 20 ccm eingengt und durch eine Säule aus Amberlite IRC-50 (Säureform, Korngröße 0.1 mm, Durchmesser 1.9 cm, Höhe 36 cm) durchgelassen. Die Säule wurde langsam mit ca. 2 l Wasser gewaschen und anschließend in 7 Teile zerschnitten. Der oberste Teil (Nr. 1) war rotgefärbt (Ätiocobalamin), die Teile 3--5 waren farblos und enthielten das Nucleosid.

Der Austauscher der Teile 3--5 wurde in Wasser suspendiert, der Brei mit Ammoniak auf p_H ca. 10.3 gebracht, in ein Chromatographierrohr gefüllt und mit Ammoniakwasser (p_H 10.3) eluiert. Die Eluate wurden durch Filtration (Sinterglasfritte G4) von Austauscherresten befreit und i. Vak. auf ein sehr kleines Volumen eingengt. Der krist. Rückstand wurde aus 2.5 ccm heißem Wasser umkristallisiert. Ausb. 93 mg (ca. 80% d. Th.) an feinen haarförmigen Kristallen mit Seidenglanz. Schmp. 143--145° (Kofler-Mikroschmelzpunkt-Apparat).

$C_{11}H_{15}O_4N_5 \cdot 3H_2O$ (335.3) Ber. C 39.40 H 6.32 O 33.40 N 20.88

Gef. C 39.10 H 6.39 O 33.62 N 20.53

Die i. Hochvak. bei 100° getrocknete Substanz hatte folgende Zusammensetzung:

$C_{11}H_{15}O_4N_5$ (281.3) Ber. C 46.96 H 5.37 Gef. C 47.07 H 5.40

WILLY LAUTSCH, WINFRIED GEHRMANN, RUDOLF PASEDAG und KLAUS PRATER

ÜBER DURCH PORPHYRINCARBONSÄUREN *N*-ACYLIERTE AMINOSÄUREN UND ÜBER EINIGE FUNKTIONELLE DERIVATE VON PORPHYRINEN UND PHORBINEN DER BLUT- UND BLATT-FARBSTOFFREIHE ¹⁾

Aus dem Institut für Organische Chemie der Freien Universität, Berlin-Dahlem

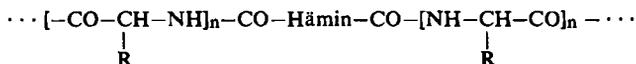
(Eingegangen am 2. November 1956)

Die Darstellung von durch Porphyrincarbonsäuren der Blut- und Blattfarbstoffreihe *N*-acylierten Aminosäuren wird beschrieben. Zum Aufbau von mit Wirkungsgruppen substituierten Polypeptiden als Fermentmodelle der Atmungskette werden die funktionellen Derivate von Porphyrinen und Phorbinnen synthetisiert.

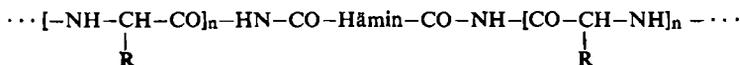
Die zum systematischen Aufbau linearer, porphyrin- und phorbinsubstituierter Polypeptide — wie sie ausgehend von bifunktionellen Anhydriden (I), bifunktionellen Säureamiden (II) bzw. monofunktionellen Säureamiden (III) erhalten werden — erforderlichen Phorbinanhydride (VII; $R = O \cdot CO_2C_2H_5$) und Porphyrinamide (V;

¹⁾ 21. Mittel.: Über Fermentmodelle, von W. LAUTSCH und Mitarbb.; 20. Mittel.: W. LAUTSCH und H.-J. KRAEGER, Chem. Ber. 89, 737 [1956].

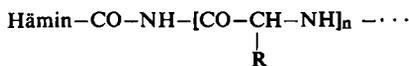
VI, R = CONH₂) werden dargestellt. Ferner werden im folgenden die zum Aufbau von Fermentmodellen aus Hämin-Polypeptidkette-Einschlußbereich^{1a)} benötigten durch Porphyrin-carbonsäuren *N*-acylierten Aminosäuren (IV) beschrieben.



I



II



III

1. Wir haben durch Porphyrincarbonsäuren *N*-acylierte Aminosäuren nach dem Azid-Verfahren, nach der Arbeitsweise von ST. GOLDSCHMIDT²⁾ sowie nach dem Säurechlorid-Verfahren³⁾ hergestellt.



IV

Überraschenderweise führt die Umsetzung von Porphyrinaziden mit Aminosäureestern unter den für die Umsetzung günstigen Bedingungen (Pyridin, 70°) zu den *N*-acylierten Aminosäuren und nicht zu den — etwa aus den intermediär gebildeten Isocyanaten erwarteten — Harnstoffderivaten⁴⁾. Die auf diese Weise hergestellten Mesoporphyrin-bis-[glycin-methylester] (IV, R = H, R' = CH₃*) bzw. der entspr. DL-Alanin-methylester (IV, R = R' = CH₃) erwiesen sich als identisch mit den nach dem Verfahren von ST. GOLDSCHMIDT und M. WICK²⁾ erhältlichen Präparaten, wie auch mit den Reaktionsprodukten des Säurechlorid-Verfahrens, welches erstmalig von K. ZEILE und P. PIUTTI³⁾ durch Umsetzung des Säurechlorids des Mesoporphyrins mit Aminosäureestern verwendet wurde.

Von den drei Verfahren liefert die Säurechlorid-Methode die besten Ausbeuten. Die von uns hergestellten Mesoporphyrin-bis-[aminosäure-methylester] (R' = CH₃), und zwar des DL-Valins (R = CH(CH₃)₂), des DL-Leucins (R = CH₂·CH(CH₃)₂), des DL-Phenylalanins (R = CH₂·C₆H₅), des DL-Isoleucins (R = CH(CH₃)·C₂H₅) sowie des L-Glutaminsäure-methylesters (R = [CH₂]₂·CO₂CH₃) wurden in 40–90-proz. Ausbeute erhalten, während die Methode von ST. GOLDSCHMIDT durch Umsetzung von freiem Mesoporphyrin mit den *N*-Carbonyl-aminosäureestern nur Ausbeuten zwischen 5–15% und das Azid-Verfahren Ausbeuten von 70–80% lieferten.

Die Mesoporphyrin-aminosäureester sind ätherlöslich; sie lassen sich deshalb mit Äther-Salzsäure fraktionieren. Die Salzsäurezahlen bei kurzketzigem Rest R liegen

1a) W. LAUTSCH und H.-J. KRAEGE, Chem. Ber. **89**, 737 [1956].

2) ST. GOLDSCHMIDT und M. WICK, Liebigs Ann. Chem. **575**, 226 [1952].

3) K. ZEILE und P. PIUTTI, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **218**, 52 [1933].

4) W. LAUTSCH, W. BIEDERMANN und W. BROSER, Naturwissenschaften **38**, 478 [1951].

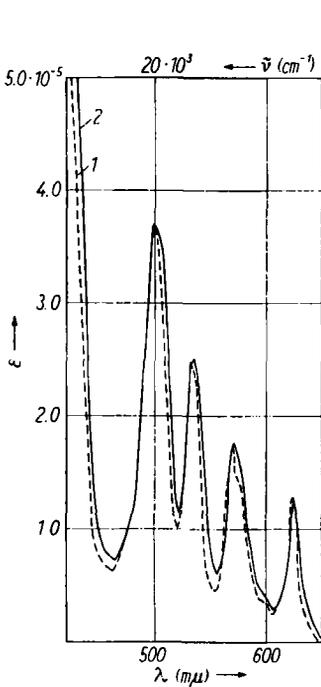
*) Bei allen dargestellten Porphyrinen handelt es sich um die natürlich vorkommenden Formen, d. h. um Proto- und Mesoporphyrin-IX bzw. um Pyrro- und Phylloporphyrin-XV.

tiefer als die des freien Mesoporphyrins ($R = H$: Salzsäurezahl 0.1; $R = CH_3$: Salzsäurezahl 0.2). Ausgesprochen organotrope Reste erhöhen die Salzsäurezahlen dagegen beträchtlich ($R = CH_2 \cdot C_6H_5$: Salzsäurezahl 5). Als besonders zweckmäßig hat sich die Aufarbeitung durch Adsorption an eine basische Aluminiumoxydsäure bewährt: Nicht umgesetztes Mesoporphyrin wird in der obersten Schicht der Säule adsorbiert, während die Reaktionsprodukte durchlaufen und meist aus dem Eluat durch einmaliges Umkristallisieren in analysenreinem Zustande gewonnen werden.

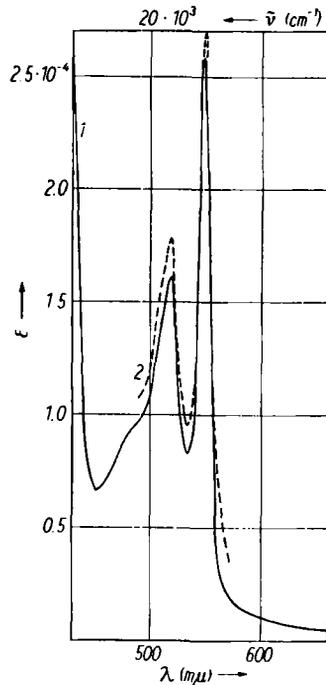
Durch Behandlung mit Eisen(II)-acetat-Eisessig können aus den Porphyrin-bis-aminosäureestern die entsprechenden, gut kristallisierenden Häminester, durch alkalische Verseifung die DL-Formen der freien Mesohämin- bzw. Mesoporphyrindiaminosäuren und durch Verseifung mit Bromwasserstoff-Eisessig die enantiomorphen Formen erhalten werden.

Die Absorptionsspektren der Mesoporphyrin-N-aminosäureester stimmen mit dem des Mesoporphyrin-dimethylesters im Hinblick auf Lage der Bandenmaxima und deren Extinktion nahezu überein (Abbild. 1).

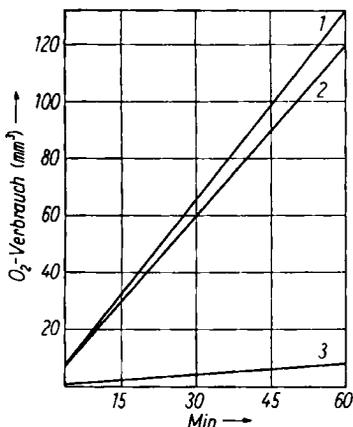
Das gleiche gilt für die Hämochromogene (Abbild. 2).



Abbild. 1. Absorptionsspektren des Mesoporphyrin-bis-[L-glutaminsäure-dimethylesters] (1) und des Mesoporphyrin-dimethylesters (2). $c = 1.0 \cdot 10^{-4}$ Mol/l, $d = 0.5$ cm, in Pyridin



Abbild. 2. Absorptionsspektren der Pyridin-hämochromogene von Mesohämin-di-L-glutaminsäure (1) und von Mesohämin (2). $c = 10^{-4}$ Mol/l, $d = 0.5$ cm, in Pyridin-Phosphatpuffer (3:7; $p_H = 7.3$) + $Na_2S_2O_4$

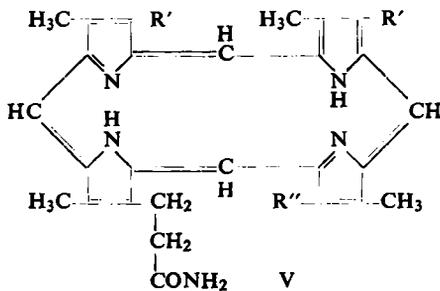


Die katalytischen Eigenschaften haben wir durch Messung der sauerstoffübertragenden Wirkung der Fe-Komplexsalze auf DL-Adrenalin mit Hilfe der Warburgschen manometrischen Methode geprüft (Abbild. 3).

Abbild. 3. Dehydrierungsgeschwindigkeit von je 20 mg DL-Adrenalin in 7.5 ccm Phosphatpuffer (p_{H} 7.3) + 0.2 ccm Pyridin bei 20° durch Mesohämamin-diaminosäuren (1) bzw. Mesohämamin (2), entspr. je 5.6 γ Fe, (3) Blindwert

Da die beschriebenen Mesohämamin-diaminosäuren keine wesentlichen Unterschiede im katalytischen Effekt erkennen ließen (absolute Dehydrierungsgeschwindigkeiten⁵⁾ in $\text{cmm} \cdot \text{Stde.}^{-1}$ für IV mit $R = \text{H}$: 124; $R = \text{CH}_3$: 122; $R = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$: 120; $R = \text{CH}_2 \cdot \text{CH}(\text{CH}_3)_2$: 122; $R = \text{CH}(\text{CH}_3) \cdot \text{C}_2\text{H}_5$: 124; $R = n\text{-C}_3\text{H}_7$: 122; $R = [\text{CH}_2]_2 \cdot \text{CO}_2\text{CH}_3$: 126), haben wir den Mittelwert (1) des Sauerstoffverbrauches gegen den von Mesohämamin (2) aufgetragen.

2. Zum Aufbau von hämainsubstituierten Polypeptiden mit ungesättigten Seitenketten⁶⁾ bzw. von hämainsubstituierten Polypeptiden, in welchen die Polypeptidkette unmittelbar über eine ungesättigte Seitenkette mit der prosthetischen Gruppe in mesomerie- bzw. tautomeriefähiger Bindungsart haftet⁷⁾, haben wir zwecks Studiums ihrer Bedeutung für die Energiefortleitung über diese Gruppen die Säureamide (V)



des Protoporphyrins ($R' = \text{CH}:\text{CH}_2$, $R'' = \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CONH}_2$), der Pyrroporphyrin-6-acrylsäure ($R' = \text{C}_2\text{H}_5$, $R'' = \text{CH}:\text{CH} \cdot \text{CONH}_2$) und — zum Vergleich — des Mesoporphyrins ($R' = \text{C}_2\text{H}_5$, $R'' = \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CONH}_2$) nach dem Verfahren von R. A. BOISSONNAS⁸⁾ hergestellt.

⁵⁾ W. LAUTSCH und Mitarbb., Kolloid-Z. 144, 82 [1955].

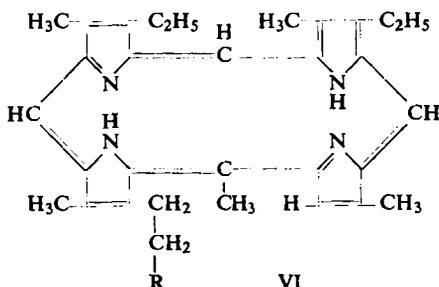
⁶⁾ Vgl. W. LAUTSCH und Mitarbb., Kolloid-Z. 144, 100 Formelbild II [1955].

⁷⁾ Vgl. W. LAUTSCH und Mitarbb., Kolloid-Z. 144, 100 Formelbild I [1955].

⁸⁾ Helv. chim. Acta 34, 874 [1951].

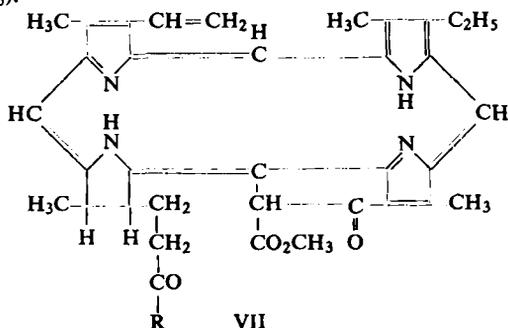
Dies erwies sich als notwendig, da die Möglichkeit, die entsprechenden Säurehydrazide⁹⁾ als Ausgangssubstanzen zu verwenden, entfiel. Es gelang uns nicht, die Säurehydrazide des Protoporphyrins bzw. der Pyrroporphyrin-6-acrylsäure herzustellen, da stets die Hydrazidbildung mit einer gleichzeitigen Aufhydrierung der ungesättigten Seitenketten verknüpft ist.

Das Säureamid des γ -Phylloporphyrins (VI; R = CONH₂) ließ sich einerseits in guter Ausbeute über das entsprechende Säurechlorid (R = COCl) herstellen, während die Reaktion des Methylesters (R = CO₂CH₃) mit Ammoniak im Bombenrohr nur zu einer geringen Menge Amid führte.



Die ausgehend von den genannten Säureamiden erhaltlichen Hämipolypeptide (II und III) lassen modellmäßig eine Elektronenfortleitung¹⁰⁾ zum komplexgebundenen Eisen über die Polypeptidkette bzw. über die ungesättigten Seitenketten zu.

Zum Aufbau von phorbinsubstituierten Polypeptiden, welche in Gestalt ihrer Magnesiumkomplexsalze als Katalysatorenmodelle für photochemische Reaktionen dienen sollen, haben wir nach der Anhydrid-Methode Phorbinpolypeptide (I) dargestellt. Die dafür benötigten Anhydride erhielten wir nach R. A. BOISSONNAS⁸⁾ durch Umsetzung von Phäophorbid-a mit Chlorameisensäure-äthylester (VII; R = O·CO₂C₂H₅).



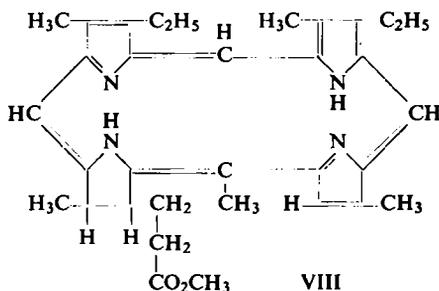
Das Phäophorbid-a-kohlensäureäthylester-anhydrid ist erstaunlich beständig, so daß man es — trotz der hohen Salzsäurezahl — mit Äther-Salzsäure fraktionieren kann; es setzt sich leicht mit Ammoniak zu dem Phäophorbid-a-amid (R = NH₂), sowie mit Aminosäureestern um.

⁹⁾ W. LAUTSCH und E. SCHROEDER, Z. Naturforsch. 9b, 277 [1954].

¹⁰⁾ W. BROSER und W. LAUTSCH, Z. Naturforsch. 11b, 453 [1956].

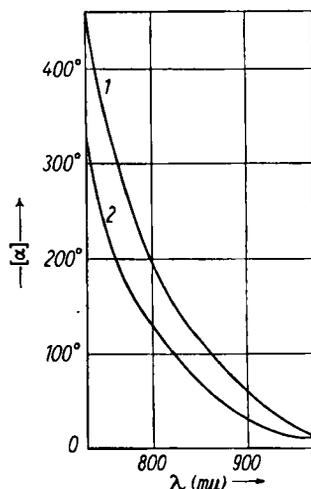
Bei der Umsetzung von Phäophorbid-a mit *N*-Carbonyl-L-leucin-methylester wird der erwartete Phäophorbid-a-L-leucin-methylester (VII; R = NH·CH(CO₂CH₃)·CH₂·CH(CH₃)₂) erhalten.

3. Zwecks Prüfung der Bedeutung des asymmetrischen Baues der Wirkungsgruppe für die sterische Spezifität unserer Fermentmodelle haben wir das Mesophyllochlorin (VIII), welches nach H. FISCHER in einer optisch aktiven¹¹⁾ (natürlich analytischen) bzw. in einer inaktiven Form¹²⁾ (durch Racemisierung bzw. durch Synthese¹³⁾) zugänglich ist, in unsere Untersuchungen miteinbezogen.



Der natürlich analytische Mesophyllochlorinester vom Schmp. 168° (nach Chromatographie an Al₂O₃) lieferte einen racem. Ester vom Schmp. 170°, während der aus γ-Phylloporphyrin erhaltene synthetische den Schmp. 173° zeigt.

Die Rotationsdispersion¹⁴⁾ (Abbild. 4) des natürlich analytischen Esters ist mit Kurve 1 wiedergegeben. Die spezif. Drehung beträgt $[\alpha]_{728}^{20}$: -460° und ist an Stelle des bisherigen, in der Literatur angegebenen¹¹⁾ Wertes ($[\alpha]_{\text{rot}}^{20}$: -619°) zu setzen.



Abbild. 4. Rotationsdispersion von natürlich analytischem Mesophyllochlorin-methylester (1)¹⁴⁾; Drehung nach 9stdg. Behandlung (2)¹⁵⁾; die Kurve der Drehung nach 14stdg. Behandlung sowie die von synthet. Mesophyllochlorin-methylester¹⁶⁾ fällt mit der Abszisse zusammen

¹¹⁾ H. FISCHER und H. ORTH, Die Chemie des Pyrrols, 2. Band, 2. Hälfte, S. 130, Akad. Verlagsges., Leipzig 1940.

¹²⁾ H. FISCHER und H. GIBIAN, Liebigs Ann. Chem. **550**, 208 [1942].

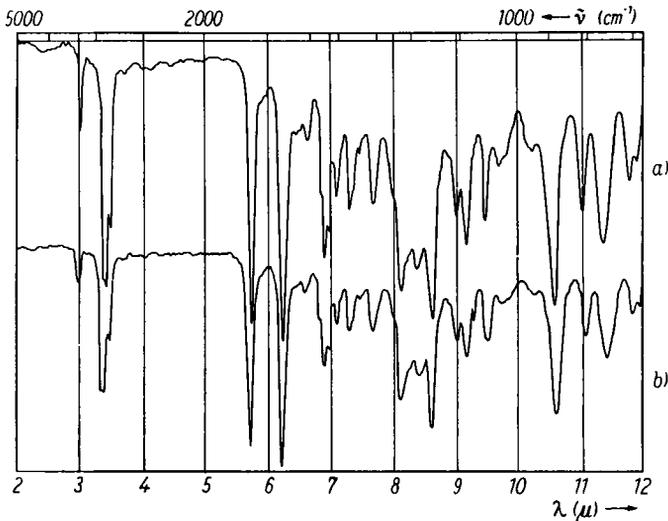
¹³⁾ H. FISCHER und O. LAUBEREAU, Liebigs Ann. Chem. **535**, 36 [1938]; vgl. dagegen Schmp. 148–150°: J. B. CONANT, J. F. HYDE, W. W. MOYER und E. M. DIETZ, J. Amer. chem. Soc. **53**, 359 [1931], sowie H. FISCHER und H. GIBIAN, Liebigs Ann. Chem. **550**, 215 [1942].

¹⁴⁾ W. BROSER und W. LAUTSCH, Z. Naturforsch. **6b**, 369 [1951].

¹⁵⁾ Auszug aus der Diplomarbeit von W. GEHRMANN, Freie Universität Berlin 1955.

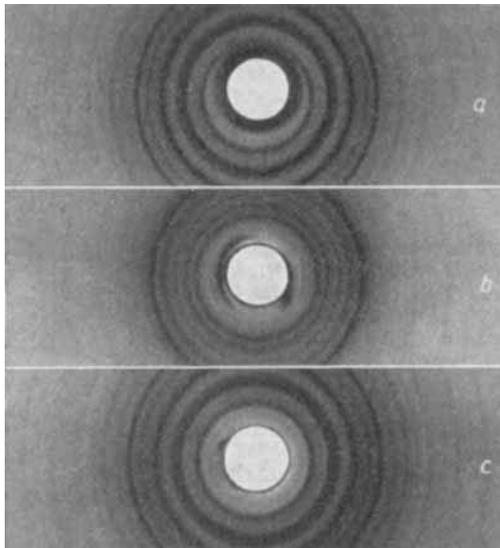
¹⁶⁾ H. FISCHER und E. HAARER, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **229**, 63 [1934].

Die Infrarotspektren des synthetischen und des racemisierten Mesophyllochlorin-methylesters zeigt Abbild. 5.



Abbild. 5. IR-Spektren. a) synthet. Mesophyllochlorin-methylester
b) racem. Mesophyllochlorin-methylester

Die Röntgenspektren des synthetischen, des natürlich analytischen und des racemisierten Mesophyllochlorin-methylesters zeigt Abbild. 6.



Abbild. 6. Debye-Scherrer-Diagramme. a) synthet., b) natürlich analytischer, c) racem. Mesophyllochlorin-methylester

Die Arbeit wurde aus Mitteln des MARSHALL-PLANS (ERP-MITTEL) und mit Spenden des FONDS DER CHEMIE ausgeführt. Den BAYER-WERKEN danken wir für die Aufnahmen der Infrarotspektren. Herrn J. WOLDT sind wir für die Röntgenspektren und Herrn Dr. E. HÖRLING für die Mikroelementaranalysen zu Dank verpflichtet.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE ^{15, 17, 18)}

1. Mesoporphyrin-di-[N-aminosäuren] (IV)

a) *Azid-Verfahren*: 400 mg frisch bereitetes, trockenes *Mesoporphyrin-diazid*¹⁶⁾ und 5 g *Glycin-methylester* bzw. *DL-Alanin-methylester*¹⁹⁾ werden in 10 ccm trockenem Pyridin gelöst und 1 Stde. auf 70° erhitzt. Darnach werden das Lösungsmittel sowie der überschüss. Aminosäureester i. Vak. abgezogen, der Rückstand in Eisessig gelöst, die Lösung in 2 l Äther gegeben und die Essigsäure durch oftmaliges Schütteln mit Wasser entfernt. Dabei fällt bereits ein Teil des Porphyrin-bis-[N-aminosäureesters] aus, der in Äther gelöste Anteil wird mit 0.15-proz. Salzsäure (im Falle des Glycins) bzw. mit 0.25-proz. Salzsäure (im Falle des Alanins) extrahiert. Die salzsauren Lösungen werden mit Natriumacetat versetzt, der dabei ausfallende flockige Niederschlag wird mit dest. Wasser gewaschen, über P₂O₅ getrocknet und aus Pyridin-Methanol umkristallisiert. Man erhält rote Nadeln vom Schmp. 261°: *Mesoporphyrin-bis-[glycin-methylester]* (IV; R=H, R'=CH₃).

C₄₀H₄₈O₆N₆ (708.8) Ber. C 67.77 H 6.83 N 11.86 OCH₃ 8.76
Gef. C 67.40, 67.50 H 6.75, 6.45 N 11.65, 11.65 OCH₃ 8.10, 8.25

Mesoporphyrin-bis-[DL-alanin-methylester] (IV; R=R'=CH₃), Schmp. 278°.

C₄₂H₅₂O₆N₆ (736.9) Ber. C 68.45 H 7.11 N 11.41 OCH₃ 8.42
Gef. C 68.75, 68.80 H 7.40, 7.39 N 11.10, 11.30 OCH₃ 8.10, 7.80

b) *Verfahren nach St. GOLDSCHMIDT*²⁾: Zu einer Lösung von 200 mg *Mesoporphyrin* in 10 ccm trockenem Pyridin werden 3 g frisch bereiteter *N-Carbonyl-glycin-äthylester* bzw. *N-Carbonyl-DL-alanin-methylester* bzw. *N-Carbonyl-DL-phenylalanin-methylester* zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird 2 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Zu Beginn wird eine schwache Gasentwicklung beobachtet. Dann werden das Lösungsmittel und der überschüssige *N-Carbonyl-aminosäureester* i. Vak. abgezogen, der Rückstand in wenig Eisessig gelöst und die Lösung in 1 l Äther gegossen. Nach Auswaschen der Essigsäure wird der *Mesoporphyrin-bis-[N-aminosäureester]* mit verd. Salzsäure extrahiert (Salzsäurezahl des *Mesoporphyrin-bis-[glycin-äthylesters]* 0.1, des *-bis-[DL-alanin-methylesters]* 0.2, des *-bis-[DL-phenylalanin-methylesters]* 5).

Aus der salzsauren Lösung werden die Reaktionsprodukte mit Natriumacetat gefällt, anschließend getrocknet und aus Pyridin-Methanol umkristallisiert. Ausb. 15%, 5%, 7%.

Mesoporphyrin-bis-[glycin-äthylester] (IV; R=H, R'=C₂H₅), Schmp. 265°.

C₄₂H₅₂O₆N₆ (736.9) Ber. C 68.45 H 7.11 N 11.41 OC₂H₅ 12.23
Gef. C 68.20 H 6.90 N 11.10 OC₂H₅ 11.95

c) *Säurechlorid-Verfahren nach K. ZEILE und P. PIUTTI*³⁾: Man führt nach K. ZEILE jeweils 200 mg *Mesoporphyrin* mit Phosphoroxchlorid in das Säurechlorid über, setzt bei 40° in Aceton nach Zugabe von 5 g des betreffenden Aminosäureesters um. Wir arbeiteten wie folgt auf: Die mit Essigsäure angesäuerte Lösung wird in 1.5 l Äther übergeführt, mit dest. Wasser

¹⁷⁾ Auszug aus der Diplomarbeit von R. PASEDAG, Freie Universität Berlin 1955.

¹⁸⁾ Auszug aus der Dissertat. von K. PRATER, Freie Universität Berlin 1955.

¹⁹⁾ G. HILLMANN, Z. Naturforsch. 1, 682 [1946].

die Essigsäure entfernt, der Äther verdampft und der Rückstand in Pyridin-Chloroform (1:6) gelöst und auf eine basische Aluminiumoxydsäule gegeben: Das nicht umgesetzte Mesoporphyrin wird in der obersten Schicht adsorbiert, das Kondensationsprodukt durchwandert die Säule. Aus dem Eluat kristallisiert nach Eindampfen und Zusatz von Methanol der *Mesoporphyrin-bis-aminosäureester* in sehr reiner Form aus.

Mesoporphyrin-bis-[DL-valin-methylester] (IV; $R = CH(CH_3)_2$, $R' = CH_3$), Schmp. 284°.

$C_{46}H_{60}O_6N_6$ (793.0)	Ber. C 69.67	H 7.63	N 10.60	OCH ₃ 7.83
	Gef. C 69.90, 70.20	H 7.47, 7.75	N 10.45, 10.35	OCH ₃ 8.15, 7.85

Mesoporphyrin-bis-[DL-leucin-methylester] (IV; $R = CH_2 \cdot CH(CH_3)_2$, $R' = CH_3$), Schmp. 279°.

$C_{48}H_{64}O_6N_6$ (821.0)	Ber. C 70.22	H 7.86	N 10.24	OCH ₃ 7.56
	Gef. C 70.40	H 7.98	N 10.25, 10.05	OCH ₃ 7.35, 7.60

Mesoporphyrin-bis-[DL-isoleucin-methylester] (IV; $R = CH(CH_3) \cdot C_2H_5$, $R' = CH_3$), Schmp. 274°.

$C_{48}H_{64}O_6N_6$ (821.0)	Ber. C 70.22	H 7.86	N 10.24	OCH ₃ 7.56
	Gef. C 70.30, 70.40	H 7.10, 8.02	N 10.60, 10.50	OCH ₃ 7.55, 7.55

Mesoporphyrin-bis-[DL-phenylalanin-methylester] (IV; $R = CH_2 \cdot C_6H_5$, $R' = CH_3$), Schmp. 234°.

$C_{54}H_{60}O_6N_6$ (889.1)	Ber. C 72.21	H 6.73	N 9.80	OCH ₃ 6.91,
	Gef. C 72.70, 72.40	H 6.82, 6.94	N 9.70, 9.75	OCH ₃ 7.10, 7.10

Mesoporphyrin-bis-[L-glutaminsäure-dimethylester] (IV; $R = [CH_2]_2 \cdot CO_2CH_3$, $R' = CH_3$), Schmp. 218°.

$C_{48}H_{60}O_{10}N_6$ (881.0)	Ber. C 65.43	H 6.87	N 9.54	OCH ₃ 14.09
	Gef. C 65.80, 65.50	H 6.97, 6.90	N 9.85, 9.70	OCH ₃ 13.70, 14.00

d) Verseifung der Estergruppe

1. *der DL-Körper*: Jeweils 100 mg *Mesoporphyrin-bis-aminosäureester* werden in 75 ccm trockenem Dioxan in der Hitze gelöst und mit 20 ccm gesätt. methanol. Kalilauge versetzt. Nach kurzem Aufkochen scheidet sich das Kaliumsalz ab, es wird in Eisessig gelöst, die Lösung in Äther übergeführt. Man entzieht mit verd. Salzsäure die Porphyrinaminosäure, fällt diese aus der salzsauren Lösung durch Zugabe von Natriumacetat aus, filtriert ab, trocknet und kristallisiert aus Pyridin-Methanol um.

2. *der optischen Antipoden*: 195 mg *Mesoporphyrin-bis-[L-glutaminsäure-methylester]* werden in 15 ccm 16-proz. HBr-Eisessig 15 Min. unter Rückfluß gekocht. Die Lösung wird dann mit dest. Wasser auf 600 ccm verdünnt, durch Zugabe von Natriumacetat flockt die Porphyrinaminosäure aus. Sie wird getrocknet und zur gleichzeitigen Umwandlung in das Hämin erneut in Eisessig gelöst, durch Zugabe einer frisch bereiteten, filtrierten Lösung von Eisen(II)-acetat-Eisessig in das Eisen(III)-Komplexsalz übergeführt. Die Eisessiglösung wird in Äther gegeben, die Essigsäure durch Waschen mit Wasser entfernt, wobei bereits die Hauptmenge des Hämins ausflockt. Der Rest des Hämins wird aus der Ätherlösung durch Verdampfen, Aufnehmen des Rückstandes in Eisessig und durch starkes Einengen und anschließenden Ätherzusatz ausgefällt. Ausb. 150 mg.

e) *Die Eisenkomplexsalze* der Mesoporphyrin-di-DL-aminosäuren gewinnt man, indem man die essigsäure Lösung der Kaliumsalze in der üblichen Weise mit Eisen(II)-acetat-Eisessig versetzt, die essigsäure Lösung in Äther gibt und mit Wasser Säure und Salz auswäscht und den Äther verdampft.

f) Die Bestimmung des komplexgebundenen Eisens erfolgte auf photometrischem Wege wie folgt: Je 2 mg des Präparates werden mit 2 ccm konz. Schwefelsäure unter Zusatz von 0.5 ccm 30-proz. Wasserstoffperoxyd bis zur vollkommenen Zerstörung des Farbstoffes behandelt, dann gibt man 5 ccm konz. Salzsäure und 20 ccm 25-proz. Ammoniumrhodanidlösung zu und füllt mit dest. Wasser auf 100 ccm auf. Die Lösung wird nach 10 Min. gegen eine Vergleichslösung (Mohrsches Salz) photometriert.

Folgende Eisengehalte wurden ermittelt:	Ber.	Gef.
Mesohämin	8.51	8.39
Mesohämin-diglycin	7.25	6.93
Mesohämin-di-DL-alanin	7.00	6.62
Mesohämin-di-DL-valin	6.54	6.80
Mesohämin-di-DL-leucin	6.33	6.81
Mesohämin-di-DL-isoleucin	6.33	6.85
Mesohämin-di-DL-phenylalanin	5.88	6.12
Mesohämin-di-L-glutaminsäure	6.11	6.16

g) Messung der katalyt. Wirksamkeit: Zur Vermessung im Warburg-Gerät wurden jeweils Einwaagen der obengenannten Mesohämin-aminosäuren, entspr. 5.58 γ Fe pro Gefäß, verwendet. Substrat: 20 mg DL-Adrenalin in 7.5 ccm Phosphatpuffer (p_H 7.3) + 0.2 ccm Pyridin. Die Berechnung des Sauerstoffverbrauchs erfolgte nach der von Warburg angegebenen Formel.

2. Derivate von Porphyrinen und Phorbinen

a) *Pyrroporphyrin-6-acrylsäure-diamid* (V ; $R' = C_2H_5$, $R'' = CH:CH \cdot CONH_2$): Die Darstellung erfolgte nach H. FISCHER und A. SCHWARZ²⁰⁾ durch Formylierung des *Pyrroporphyrins* und anschließende Kondensation mit *Malonsäure*. Aus 10 g Phäophorbid-a erhielten wir 1.2 g (14% d. Th.) *Pyrroporphyrin-methylester*, 800 mg des *Pyrroporphyrin-methylesterhämins* (70% d. Th.), 240 mg *6-Formyl-pyrroporphyrin-methylester* (34% d. Th.) und 180 mg der *Pyrroporphyrin-6-acrylsäure* (71% d. Th.). Die Gesamtausbeute auf angewandtes Phäophorbid-a beträgt demnach 1.9%.

100 mg *Pyrroporphyrin-6-acrylsäure* löst man in 40 ccm absol. Aceton unter Zusatz von 0.074 ccm Triäthylamin, fügt 0.051 ccm Chlorameisensäure-äthylester bei 10° hinzu, beläßt 20 Min. bei dieser Temperatur und sättigt dann mit trockenem *Ammoniak* unter Kühlung. Nach Abziehen des Lösungsmittels wird der Rückstand in Eisessig aufgenommen, in Äther übergeführt und die Essigsäure mit dest. Wasser ausgewaschen. Dabei fällt das Diamid an der Grenzfläche Äther/Wasser aus. Es wird aus Pyridin-Methanol umkristallisiert. Ausb. 40 mg (39% d. Th.), Prismen, Schmp. oberhalb von 360°. Das Spektrum in Pyridin-Äther ist identisch mit dem von *Pyrroporphyrin-6-acrylsäure-dimethylester*.

$C_{34}H_{38}O_2N_6$ (562.7)	Ber. C 72.57	H 6.81	N 14.94
	Gef. C 72.10, 71.80	H 6.32, 6.03	N 15.10

b) Analog erhält man aus 100 mg *Protoporphyrin* 45 mg (45% d. Th.) des *Protoporphyrin-diamids* (V ; $R' = CH:CH_2$; $R'' = CH_2 \cdot CH_2 \cdot CONH_2$). Rhombische Tafeln; Schmp. oberhalb von 360°, Salzsäurezahl 0.3. Das Spektrum ist identisch mit dem von *Protoporphyrin*.

$C_{34}H_{36}O_2N_6$ (560.7)	Ber. C 72.83	H 6.47	N 14.95
	Gef. C 72.80, 72.65	H 6.49, 6.42	N 14.45

²⁰⁾ Liebigs Ann. Chem. 512, 239 [1934].

c) *Mesoporphyrin-diamid* (*V*; $R' = C_2H_5$; $R'' = [CH_2]_2 \cdot CONH_2$): 100 mg *Mesoporphyrin* werden nach K. ZEILE und P. PIUTTI³⁾ verarbeitet. Bereits beim Auswaschen der Essigsäure fällt die Hauptmenge des Diamids an der Grenzfläche aus. Aus Pyridin-Methanol umkristallisiert, werden 80 mg (80% d. Th.) Nadeln erhalten, Schmp. oberhalb von 360°. Das Spektrum ist identisch mit dem von Mesoporphyrin.

$C_{34}H_{40}O_2N_6$ (564.7) Ber. C 72.31 H 7.15 N 14.88
Gef. C 72.20, 72.40 H 7.40, 7.70 N 14.60, 14.40

d) γ -*Phylloporphyrin-amid* (*VI*; $R = CONH_2$): α) 100 mg *Phylloporphyrin-methylester* werden mit 50 ccm einer kalt gesätt. Lösung von *Ammoniak* in Äthanol 10 Stdn. im Bombenrohr auf 120° erhitzt. Die Aufarbeitung erfolgt über Salzsäure-Äther. Ausb. 5 mg (5% d. Th.).

β) Analog *Mesoporphyrin-diamid* aus 500 mg *Phylloporphyrin*. Metallisch glänzende Kristalle, die aus Chloroform-Aceton umkristallisiert werden. Ausb. 400 mg.

$C_{32}H_{37}ON_5$ (507.7) Ber. C 57.71 H 7.35 N 13.80 Gef. C 75.45 H 7.36 N 13.80

e) Unter denselben Bedingungen erhält man das *Monoamid des Protoporphyrin-mono-methylesters* in 4-proz. Ausbeute. Prismen, Salzsäurezahl 0.9. Das Spektrum ist identisch mit dem von Protoporphyrin.

$C_{35}H_{37}O_3N_5$ (575.7) Ber. N 12.18 Gef. N 11.80, 11.95

f) *Mesoporphyrin-monomethylester-monomid*, kristallisiert in Nadeln, Ausb. 3% d. Th.

$C_{35}H_{39}O_3N_5$ (577.7) Ber. N 12.12 Gef. N 11.35

Die mögliche Isomerie der letzten beiden Verbindungen wurde bisher nicht näher untersucht.

g) *Derivate des Phäophorbids-a*

Phäophorbid-a-kohlensäureäthylester-anhydrid (*VII*; $R = O \cdot CO_2C_2H_5$): Zu einer Lösung von 600 mg *Phäophorbid-a* in 30 ccm Chloroform + 2.37 ccm Tri-n-butylamin fügt man 0.3 ccm *Chlorameisensäure-äthylester*, überführt in 2 l Äther, entzieht mit 10-proz. Salzsäure überschüss. Butylamin und mit 5-proz. Natriumcarbonatlösung nicht umgesetztes Ausgangsmaterial; beim Einengen scheiden sich 100 mg Anhydrid als dunkelgrünes Pulver ab.

Phäophorbid-a-amid (*VII*; $R = NH_2$): In eine Chloroformlösung von 100 mg des *Anhydrids* leitet man 1 Stde. einen Strom trockenen *Ammoniaks* ein und überführt in 1 l Äther, entzieht mit 5-proz. Salzsäure überschüss. Ammoniak und gebildetes Chlorin und extrahiert schließlich das Amid mit 11-proz. Salzsäure. Nach erneutem Überführen in Äther erhält man das *Phäophorbid-a-amid* nach Verdampfen des Äthers und mehrfachem Umkristallisieren aus Aceton als verfilzte Nadeln vom Schmp. 253–255°. Ausb. 60 mg.

$C_{35}H_{37}O_4N_5$ (591.7) Ber. N 11.84 OCH₃ 5.24 Gef. N 11.35 OCH₃ 5.10

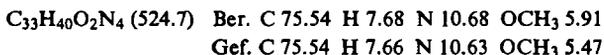
Phäophorbid-a-L-leucin-methylester (*VII*; $R = NH \cdot CH(CO_2CH_3) \cdot CH_2 \cdot CH(CH_3)_2$): 800 mg *Phäophorbid-a* werden in 10 ccm absol. Pyridin gelöst und mit 5 ccm *N-Carbonyl-L-leucin-methylester* vom Sdp.₂₉ 108–115°/9 Stdn. auf dem Wasserbad (70–90°) erhitzt. Nach Stehenlassen über Nacht gießt man in 3 l Äther ein, schüttelt mit 5-proz. Salzsäure bis zur Entfärbung der wäßrigen Phase, wäscht mit dest. Wasser, trocknet mit geglühtem Na₂SO₄, filtriert, engt auf 30–50 ccm ein und versetzt mit 50 ccm Petroläther. Nach Stehenlassen über Nacht wird der bläulichgrün schimmernde Rückstand abfiltriert, wobei der überschüssige Isocyanatester in der Mutterlauge verbleibt, in wenig Chloroform gelöst, an basischem Al₂O₃ zweimal chromatographiert, eingengt und durch Zugeben von Methanol ausgefällt; 50 mg blaue Kristalle vom Schmp. 173°.

$C_{42}H_{49}O_6N_5$ (719.9) Ber. C 70.08 H 6.86 N 9.73
Gef. C 70.20, 70.25 H 6.82, 6.60 N 10.05, 10.30

Natürlich analyt. Mesophyllochlorin-methylester: Hergestellt nach H. FISCHER, K. HERRLE und H. KELLERMANN²¹⁾ aus 2 g Mesochlorin-e₆; aus Aceton-Methanol 600 mg Prismen vom Schmp. 168°; $[\alpha]_{D}^{20}$: -460° ($c = 0.203$, in Aceton). Beschreibung der Apparatur und Aufnahmetechnik l. c. 14).

Synthet. Mesophyllochlorin-methylester

a) Hergestellt nach H. FISCHER und O. LAUBEREAU¹³⁾ aus 400 mg Phyllohämin; aus Aceton-Methanol 80–100 mg lange Nadeln vom Schmp. 173°.



b) Hergestellt nach H. FISCHER und H. GIBIAN¹²⁾ aus natürlich analyt. Ester; Schmp. 169 bis 170°. Der Misch-Schmp. mit der nach a) dargestellten Verbindung zeigte keine Depression.

Die Debye-Scherrer-Diagramme wurden in gepreßter Form im Kristalloflex II/60 (Fa. Siemens) mit $\text{CuK}\alpha$ -Strahlung von 30 KV und 18 mA in einer Zylinderkammer ($r = 57.3$ mm) hergestellt. Vergrößerungsmaßstab der Bilder: 1.63.

Die IR-Spektren wurden mit dem Meßgerät Perkin-Elmer in Tetrachlorkohlenstoff (gesätt. Lösung, NaCl-Prisma, Schichtdicke 0.15 mm) gewonnen.

REINHOLD METZE und SIEGFRIED MEYER

Über 1.2.4-Triazine, V¹⁾

SEITENKETTENOXYDATIONEN AM 1.2.4-TRIAZINRING*)

Aus dem II. Chemischen Institut der Humboldt-Universität Berlin
(Eingegangen am 19. November 1956)

Diphenyl-1.2.4-triazin-Derivate mit einer Methylgruppe in 3- bzw. 6-Stellung geben bei der Oxydation mit alkalischer Kaliumpermanganat-Lösung nicht die entsprechenden Carbonsäuren, sondern es wird die Methylgruppe durch eine Hydroxylgruppe ersetzt. — 1.2.4-Triazin-Derivate mit mehreren Methylgruppen verhalten sich unterschiedlich je nach der Zahl und Stellung der Substituenten.

Die einzige, bisher bekannt gewordene Carbonsäure in der 1.2.4-Triazinreihe ist die von P. SCHMIDT und J. DRUEY²⁾ beschriebene 5.6-Diphenyl-1.2.4-triazin-carbonsäure-(3). Sie wird hergestellt durch Verseifung ihres Äthylesters, der bei der Umsetzung von Benzil mit Oxalester-amidrazon entsteht³⁾.

Es sollten nun durch Seitenkettenoxydation methylsubstituierter 1.2.4-Triazine 5- und 6-substituierte Mono- sowie Dicarbonsäuren und die Tricarbonsäure hergestellt werden. Bei der Oxydation des 3.5.6-Trimethyl-1.2.4-triazins mit alkalischer

²¹⁾ Liebigs Ann. Chem. **524**, 249 [1936].

¹⁾ IV. Mitteil.: R. METZE und P. SCHREIBER, Chem. Ber. **89**, 2466 [1956].

^{*)} Aus der Diplomarbeit S. MEYER, Berlin 1956.

²⁾ Helv. chim. Acta **38**, 1560 [1955].

³⁾ Die Bildung des 1.2.4-Triazinringes auf diesem Wege ist eine Bestätigung der in der II. Mitteil. über 1.2.4-Triazine⁴⁾ vertretenen Auffassung vom Reaktionsmechanismus der Umsetzung der Mono-acylhydrazone von 1.2-Diketonen mit Ammoniak.