JUSTUS VON LIEBIGS ANNALEN DER CHEMIE.

350. Band.

Mittheilung aus dem chemischen Laboratorium
der Königl. Akademie der Wissenschaften zu München.

(Eingelaufen am 9. Mai 1906.)

Untersuchungen über Chlorophyll;
von *Richard Willstätter*.

I. Ueber eine Methode der Trennung
und Bestimmung von Chlorophyllderivaten;
von *Richard Willstätter* und *Walter Mieg*.

Theoretischer Theil.

Die Untersuchung des Chlorophylls, namentlich die vielen bedeutenden Arbeiten von E. Schunck und L. Marchlewski, haben über Alkachlorophyll oder über Phylloxanthin und Phyllocyanin zum Phyllotaonin und endlich zum Phylloporphyrin geführt, das mit dem Hämatoporphyrin aus dem Blutfarbstoff nahe verwandt ist. Die vorläufigen Stationen dieses Abbaus sind nicht mit gleicher Sicherheit markirt, denn es hat sich als äusserst schwierig erwiesen, die angeführten Verbindungen in reinem Zustande darzustellen, abgesehen vielleicht vom Endproduct Phylloporphyrin, dessen Reinigung ein schwer lösliches Zinksalz erleichtert hat. Phylloxanthin aber, sowie Alkachlorophyll sind überhaupt noch nicht rein erhalten worden und Phyllocyanin ist eine Substanz von zweifelhafter

Einheitlichkeit. Auch ist es unwahrscheinlich geworden, dass eine und dieselbe Verbindung, Phyllotaonin, durch die Einwirkung von Säuren und von Alkalien aus Phyllocyanin entsteht.

Diese Schwierigkeiten und Unsicherheiten werden begreiflich, wenn man einfache Umwandlungen des Chlorophylls untersucht. Bei derartigen Versuchen kamen wir zu der Erkenntniss, dass die Reactionsproducte gewöhnlich aus Gemischen bestehen, für deren Untersuchung und Trennung noch keine Methoden existiren. Als Beispiele für diese Erfahrung beschreiben wir im experimentellen Theile zwei Versuche, nämlich die gelinde Einwirkung von Alkalien auf einen chlorophyllartigen Extract und andererseits die successive Behandlung von reiner Chlorophylllösung mit Alkali und alkoholischer Chlorwasserstoffsäure. Dabei entstehen Gemenge hochmolekularer Substanzen, die theils gleiche, theils sehr ähnliche Zusammensetzung besitzen und in ihren Reactionen, ihren Farberscheinungen, sowie im Verhalten gegen Lösungsmittel grosse Uebereinstimmung zeigen. So lange die Reactionsproducte gemischt vorlagen, war ihre Krystallisation ausgeschlossen oder erschwert.

Die Methode der früheren Autoren, ihre Chlorophyllderivate zu reinigen, bestand im häufig wiederholten Ausfällen oder Umkrystallisiren. Dabei gelang es zwar mit der grössten Mühe, fettartige Beimengungen zu beseitigen, aber man lief Gefahr, aus Gemischen willkürlich irgend welche kleinen Bruchtheile herauszuholen. Als Beispiel dafür seien E. Schunck's¹⁾ Analysen der Phyllotaoninester angeführt:

Aethylphyllotaonin, mehrmals mit Alkohol

aus Chloroform gefällt	68,73 C	5,87 H	12,33 N
------------------------	---------	--------	---------

Dasselbe, weitere vier Male mit Alkohol aus

Chloroform gefällt	69,22 C	6,04 H	11,40 N
--------------------	---------	--------	---------

Methylphyllotaonin, I. Präparat

70,27 C	5,89 H	9,89 N
---------	--------	--------

Dasselbe, siebenmal mit Alkohol aus Chlo-

roform gefällt	68,82 C	6,00 H	11,93 N
----------------	---------	--------	---------

¹⁾ Proc. Roy. Soc. **55**, 352 (1894).

Hier scheint bei analoger Reinigung der Aethylester stickstoffärmer, der Methylester weit stickstoffreicher geworden zu sein.

Die übliche Untersuchungsweise derartiger Chlorophyllabbauprodukte, in den Händen vieler Forscher sogar die einzige Methode, war die Spectralanalyse, und zwar nicht die viel zu schwierige vollständige Beobachtung der Absorption, sondern nur die Feststellung der Maxima. Die Methode hat auf diesem Gebiete bekanntlich nicht vor den schwersten Irrthümern geschützt. Sie giebt, so lange die Constanten der reinen Stoffe nicht bekannt sind, wenig Aufschluss darüber, ob die Verbindungen einheitlich und rein sind oder in Gemischen vorliegen.

Wir haben deshalb versucht, zu einer von der Spectralanalyse unabhängigen Methode zu gelangen, die sich auf die eigenthümliche basische Natur vieler Chlorophyllderivate gründet. Chlorophyll selbst ist allerdings weder Base noch Säure, und sein Umwandlungsproduct, das sich bei der gelinden Einwirkung von Säure bildet (Phylloxanthin), ist nur in ganz concentrirter Säure unter Veränderung löslich; auch enthält es keine saure Gruppe. Hingegen finden wir schon bei dem mit concentrirter Säure gebildeten Abbauprodukte (Phyllocyanin) ausgeprägte basische und saure Eigenschaften.

Aehnlichen Charakter haben nun die Beispiele, an denen wir unser Verfahren erläutern wollen. Sie gehören zwei Reihen von Verbindungen an. Die einen, bestehend in Producten der Einwirkung von Alkali auf einen chlorophyllanartigen Extract und ihren durch Säure gebildeten Abkömmlingen, zeigen in indifferenten Solventien olivgrüne bis grüne, in saurer Lösung blaugrüne bis blaue Farbe. Die Glieder der zweiten Gruppe, die wir hauptsächlich aus Alkachlorophyllen bei der Behandlung mit alkoholischer Chlorwasserstoffsäure erhalten haben, zeigen zwar in saurer Lösung ähnliche blaue bis grüne Farbe, sind aber in neutralen Lösungen prächtig roth gefärbt. Für die Substanzen dieser zwei Reihen schlagen wir die Bezeich-

nung Phytochlorine und Phytorhodine vor und benennen vorläufig mit a, b, die verschiedenen Glieder, weil die Bedeutung der Einzelnen und der Zusammenhang zwischen ihnen sich noch nicht hinlänglich für eine endgültige Namensgebung beurtheilen lässt.

Die Phytochlorine und Phytorhodine sind in Wasser unlöslich, in organischen Solventien mehr oder weniger löslich. Als schwache Säuren lösen sie sich in Alkalien, auch in Ammoniak und Bicarbonat und werden von diesen aus ätherischer Lösung quantitativ aufgenommen. Sie enthalten kein Phenolhydroxyl, sondern nur eine esterificirbare saure Gruppe; ihre Ester sind alkaliunlöslich. Alle sind schwache Basen, deren Salze durch Wasser vollständig zerlegt werden. Dabei sind ihre basischen Eigenschaften ungleich differenzirter als ihre sauren und zeigen Unterschiede und Abstufungen, wie sie bei schwachen organischen Basen noch nicht beschrieben worden sind.

Um aus ätherischer Lösung in Salzsäure, die im Ueberschusse angewandt wird, überzugehen, erfordern diese Verbindungen Säure von bestimmter Concentration. Schwefelsäure und gar Phosphorsäure sind praktisch weniger gut anzuwenden, weil die nöthigen Concentrationen recht hoch sind. Für jede einzelne Substanz sind Grenzen charakteristisch, so zwar, dass Salzsäure bis zu einer gewissen Stärke der ätherischen Lösung nichts oder nur Spuren, eine etwas concentrirtere einen grossen Theil, endlich eine noch stärkere so gut wie alles bei einmaligem Durchschütteln entzieht. Natürlich rücken die Grenzen, je stärker die Basen sind, desto enger zusammen, wenn man nicht die relative Concentration der Chlorwasserstoffsäure, sondern den Procentgehalt der Salzsäure in Betracht zieht. Die Concentration der ätherischen Lösung und die Menge der Salzsäure üben selbstverständlich auf das Resultat einen gewissen Einfluss aus, den man bei der praktischen Anwendung berücksichtigen muss. Ueber die Grenzen bei den Phytochlorinen orientirt folgende Tabelle.

	Spuren gehen in Salzsäure von	Geht sehr reichlich in Salzsäure von	Geht fast voll- ständig in Salz- säure von
Phytochlorin a	3,5 pC.	6,5 pC.	7,5 pC.
„ b	1,5 pC.	3,5 pC.	5 pC.
„ c	0,5 pC.	1,5 pC.	2 pC.
„ d	0,15 pC.	0,5 pC.	1 pC.

Den Beobachtungen liegen normale Arbeitsbedingungen zu Grunde, d. h. 1—2 ccm ätherische Lösung, die 0,2—0,3 g Substanz in 100 ccm enthielt, wurden mit demselben Volumen Salzsäure durchgeschüttelt. Mit verdünnteren Lösungen haben wir für die Phytochlorine a und b die Vertheilung zwischen Aether und Salzsäure quantitativ untersucht.

Drei Portionen von je 0,1000 g Substanz wurden in je 100 ccm Aether gelöst und mit je 100 ccm Salzsäure fünf Minuten lang durchgeschüttelt. Dann trennten wir die Schichten und dunsteten die mit wenig Wasser gewaschene ätherische Lösung vorsichtig ein; der Rückstand wurde im Vacuum über Schwefelsäure zur Constanz getrocknet. Die nachstehende Tabelle verzeichnet die von den verschiedenen Salzsäuren aufgenommenen Antheile.

Phytochlorin	Procentgehalt der Salzsäure	Aufgenom- mene Substanz in Procenten
a	8	84,1
a	7	73,8
a	6	60,7
b	5,5	74,4
b	4	54,7
b	2,5	26,4

Auf der verschiedenen Stärke ihrer basischen Eigenschaft beruht die Möglichkeit der Trennung. Das Beispiel der Phytochlorine a und b diene wiederum zur Beschreibung. Wir erhielten sie gemengt mit schwächer basischen Substanzen. Schüttelt man die ätherische Lö-

sung²⁾) wiederholt mit vierprocentiger und mit siebenprocentiger Salzsäure durch und wäscht man die beiden sauren Lösungen gründlich mit Aether, um die in jedem Fall mit aufgenommenen schwächeren Basen wieder herauszuholen, so gelingt es, einen ansehnlichen Theil von a und b in ziemlich reinem Zustande zu isoliren.

Viel besser ist eine zweite Ausführungsweise der Fractionirung. Ihr Princip besteht darin, die Verbindungen in der Reihenfolge ihrer Basicität mit so schwachen Säuren zu extrahiren, dass von den nächst schwächeren Basen nur minimale Spuren gelöst werden können. Natürlich muss man die stärksten Säuren anwenden, die dieser Bedingung noch genügen. So isolirt man im gegebenen Falle Phytochlorin b mittelst dreiprocentiger Salzsäure. Da diese aber b nicht quantitativ aus dem Aether herausholt, ist es nothwendig, danach durch wiederholtes Ausschütteln mit 4,5-procentiger Säure eine Mittelfraction abzutrennen, ehe man an die Extraction von a geht. Hierfür dient nunmehr sechsprocentige Säure. Auch diesmal sind die (drei- bzw. sechsprocentigen) salzsauren Lösungen der Phytochlorine mit Aether zu waschen. Dann erhält man schon bei der einmaligen Fractionirung, die im experimentellen Theile genauer beschrieben wird, die Substanzen in reinem Zustande.

Etwas abgeändert wird das Verfahren, um die Chlorophyll-derivate vollkommen zu reinigen, wenn sie schon in ziemlich reinem Zustande vorliegen, beispielsweise so, wie sie bei der ersten, hinsichtlich der Ausbeute vortheilhafteren Art des Trennungsverfahrens erhalten wurden. So löst man Phytochlorin a in Aether auf, wäscht die Lösung wiederholt mit 4,5-procentiger Salzsäure durch und extrahirt dann die Base mit 6,5-procentiger Säure.

²⁾ Es ist natürlich nicht nothwendig, mit der Lösung des Gemisches zu arbeiten, aber die Anwendung in gepulverter Form führt viel schwerer zum Ziele.

Auf dieselbe Weise haben wir auch die schon gereinigten Substanzen wieder in Fractionen zerlegt und deren Identität bewiesen.

Anwendbar ist die Methode gerade bei diesen gefärbten Stoffen. Es ist nur hier ein Leichtes, für jeden Fall die zur Isolirung geeigneten Säuren auszuprobiren und nach der Farbintensität der Auszüge den extrahirten Antheil zu schätzen. Dabei ist es wichtig, verschiedene Auszüge einer Substanz hinsichtlich der Farbnuance zu vergleichen, um zu beurtheilen, ob sie einheitlich ist.

Eine ähnliche Trennung unserer Verbindungen mit Alkalien ist nicht möglich, da ihre Alkalisalze im Allgemeinen nicht hydrolytisch gespalten werden, aber man kann, allerdings viel weniger gut, mit Hülfe von Alkalien nach den gemeinhin üblichen Methoden fractioniren. So verfahren wir z. B. bei der Reinigung von Phytorhodin f, dem nach einer rohen Fractionirung mit Salzsäure noch recht ähnlich basische Verbindungen beigemischt waren, derart, dass wir den zur Neutralisation erforderlichen Betrag von Alkali sehr verdünnten, in eine Reihe von Portionen theilten und mit diesen successive die ätherische Lösung ausschüttelten. Dann wurden die wieder in Aether gebrachten Fractionen nach ihrer Farbe beurtheilt.

Eine solche Ergänzung der in saurer Lösung ausgeführten Fractionirung ist nur ausnahmsweise nöthig gewesen. Fast stets erhielten wir dabei die Verbindungen in einheitlichem Zustande, so dass sie ohne weitere Reinigung aus ätherischer Lösung gut krystallisirten. Die farblosen Verunreinigungen der Chlorophyllderivate, wie Fette, Wachse, die sich durch blosses Umkrystallisiren schwer abtrennen lassen, sind durch das Aufnehmen mit verdünnter Säure beseitigt.

Nicht weniger werthvoll als für die Trennung ist die Fractionierungsmethode für die qualitative Analyse, nämlich die Bestimmung der Abkömmlinge des Chlorophylls. Bei allen möglichen Reactionen, die zu einigermassen basischen Stoffen führen, kann man die Reactionsproducte schon im Reagens-

glase³⁾ untersuchen, indem man die ätherischen Lösungen mit Salzsäuren von abgestufter Concentration durchschüttelt. Man beobachtet, ob die Producte Gemische oder einheitlich sind und vermag sie nach ihrer Basicität einzuordnen.

Die geringsten Veränderungen der beschriebenen Chlorophyllderivate beim Trocknen in der Wärme oder beim Aufbewahren wurden dadurch auffällig.

Phytochlorine und Phytorhodine.

Vier Phytochlorine, die genetisch mit einander verknüpft sind, sollen beschrieben werden. Zwei von ihnen, a und b, haben wir bei der erwähnten Behandlung eines in der Hitze dargestellten modificirten Chlorophyllextractes mit Alkali erhalten, begleitet von einem Gemisch schwächerer Basen, aus dem sich eine mit tiefrother Farbe lösliche Verbindung (Phytorhodin f) isoliren liess.

Das Phytochlorin a geht bei energischer Einwirkung von alkoholischer Kalilauge vollständig in b über; beide Substanzen verändern sich beim Stehen in salzsaurer Lösung und gehen in eine Mischung über, deren Hauptbestandtheile die stärker basischen Phytochlorine c und d bilden.

Die Phytochlorine bilden hinsichtlich der Basicität eine fortlaufende Reihe und zeigen in neutraler, wie auch in saurer und alkalischer Lösung ähnliche Farberscheinungen, die bei den stärkeren Basen viel leuchtender sind. Bei diesen kommt auch zu der Fluorescenz in neutralen Lösungen, die allen gemein ist, noch starke Fluorescenz in saurer und alkalischer Lösung. Die Löslichkeit in mehreren Solventien, z. B. Alkohol und Benzol, zeigt Abstufungen in der Reihenfolge der Basicitäten. Die wichtigsten Eigenschaften erlaubt die nachstehende Tabelle zu überblicken.

³⁾ Wir verwenden Tropftrichter in Reagensglasform.

	Phyto- chlorin a	Phyto- chlorin b	Phyto- chlorin c	Phyto- chlorin d
pC.-Gehalt der Salzsäure, die sehr reichl. aus Aetherextrah.	7	4	1,5	0,5
Krystallis. aus heissem Alkohol	Nadelchen, zu Rosetten vereinigt.	Täfelchen, einseitig abgesehrt, einzeln ausgebild.	Spindelförmige Krystalle	Prismen, schief abgeschnitten, häufige Zwillingsbildung
Farbe der äther. Lösung	olivgrün	olivgrün	grün, etwas olivstichig	rein grün
Farbe der salzsauren Lösung	blautichig grün, nicht fluorescirend	blautichig grün, nicht fluorescirend	blau, fluorescirend.	violettblau, stark fluorescirend.
Löslichkeit in Methylalkohol	kalt schwer, heiss leicht löslich.	kalt ziemlich schwer, heiss recht leicht löslich	schon kalt recht leicht löslich	schon kalt sehr leicht löslich
Löslichkeit in Benzol	kalt schwer, heiss leicht löslich.	kalt recht schwer, heiss zieml. l. lösl.	kalt fast unl., heiss zieml. schwer lösl.	kalt fast unl., heiss sehr schwer lösl.

Alle diese Verbindungen wie auch die Phytorhodine sind unbeständig gegen Oxydations- und Reductionsmittel und verändern sich überaus leicht, wahrscheinlich durch Verlust von Wasser, in der Wärme und zum Theil schon beim Aufbewahren im Vacuumexsiccator.

Für die Phytorhodine gewannen wir das Ausgangsmaterial aus alkoholischen Extracten, die in der Kälte aus getrockneten Blättern erhalten waren und sich in den wesentlichen Eigenschaften als unveränderte Chlorophylllösungen erwiesen. Wir fällten mit alkoholischer Kalilauge das Kaliumsalz eines Alkchlorophylls aus und aus dem noch sehr intensiv gefärbten Filtrat mit Hilfe von alkoholischer Chlorcalciumlösung die Kalkverbindung eines zweiten Alkchlorophylls. Wir haben also ähnlich gearbeitet wie E. Guignet⁴⁾ bei der Darstellung

⁴⁾ Compt. rend. **100**, 434 (1885).

seines Chlorophyllnatronsalzes und namentlich wie W. N. Hartley⁵⁾, der in seinen ausgezeichneten Untersuchungen über das Spectrum des Chlorophylls alkoholische Extracte, allerdings aus ungetrocknetem Material, mit warm gesättigter Baryumhydroxydlösung fällte. Hartley's Auffassung, dass in seinem „blauen Chlorophyll“, das er aus dem baryumhaltigen Niederschlage mit einer Glycerin-Alkohollösung von Borsäure isolirte, unverändertes Chlorophyll vorliege, vermögen wir nicht zu theilen, ebensowenig wie Guignet's Annahme von der sauren Natur und der Salzbildung des Chlorophylls. Wir halten diese Producte vielmehr für eine Art Alkachlorophyll, wie dies auch L. Marchlewski⁶⁾ in seiner Monographie des Chlorophylls angenommen hat. Unsere Kalifällung gab bei vorsichtigem Ansäuern nach Hartley's Verfahren ein Chlorophyllderivat saurer Natur, das in den Farberscheinungen zwar dem Chlorophyll unserer getrockneten Blätter sehr ähnlich war, das sich aber im Gegensatz zu diesem in wässrigen Alkalien glatt löste. Genauere Angaben über unsere Alkachlorophylle beabsichtigen wir später zu machen. Hier sei nur hervorgehoben, dass das Kalisalz und die aus der Mutterlauge gebildete Kalkverbindung zwei verschiedene Alkachlorophylle enthalten. Sie lieferten uns nämlich zwei zwar sehr ähnliche, aber doch wohlunterschiedene Reihen von Phytorhodinen beim Erwärmen mit alkoholischer Chlorwasserstoffsäure.

Jedes dieser beiden Materialien gab uns als Hauptproduct ein Phytorhodin (a und b), und zwar zum Theil in freier Form, zum Theil als Aethylester. Daneben erhielten wir noch Gemische überwiegend stärker basischer Verbindungen von ähnlichem Habitus. Wir isolirten daraus, um auch hier das Verfahren der Fractionirung an verschiedenartigen Beispielen zu erproben, ein drittes Phytorhodin (c), das sich aus ätherischer Lösung mit dreiprocentiger Salzsäure extrahiren lässt, während

⁵⁾ Journ. chem. Soc. **59**, 106 (1891); **85**, 1607 (1904).

⁶⁾ In Roscoe-Schorlemmer's Lehrbuch, herausgegeben von Brühl, VIII. Band, 852 (1901).

a und b 6,5-, beziehungsweise 9-procentige Säure erfordern. Zwei noch stärkere Basen lagen uns nach der Fractionirung auch in krystallisirtem Zustande vor, aber noch nicht in hinreichenden Mengen für die Untersuchung. Einige in Aether schwerlösliche Phytorhodine (d und e) sind auch ohne Reinigung durch Salzsäure als Nebenproducte krystallisirt erhalten worden.

Die Phytorhodine sind in ätherischer Lösung carminroth und purpurroth und zeigen prächtige Fluorescenz. Die salzsaure Lösung des Phytorhodins (a) aus dem Kalisalz und seines Esters ist violettstichig grün mit sehr schwacher Fluorescenz, die saure Lösung des Phytorhodins (b) aus der Kalkverbindung sowie des zugehörigen Esters zeigt violettstichig blaue Farbe mit intensiver rother Fluorescenz. Die hauptsächlichen Eigenschaften der genauer untersuchten Phytorhodine sind in der folgenden Tabelle (Seite 12) zusammengestellt.

Die Analysen der beschriebenen Verbindungen bieten einige Schwierigkeiten. Sie sind sehr schwer verbrennlich, namentlich bei der Stickstoffbestimmung bilden sie oft eine ungemein schwer verbrennliche, stickstoffhaltige Kohle. Auch müssen diese hochmolekularen Stoffe mit besonderer Vorsicht für die Analyse vorbereitet werden, da sie sehr hartnäckig Lösungsmittel zurückhalten, aber Trocknung in der Wärme nicht vertragen. Da wir bei Manchen Veränderungen beim Umkrystallisiren beobachteten, haben wir es im allgemeinen vorgezogen, die Rohproducte zur Analyse zu bringen, wie sie beim Eindampfen der ätherischen Lösung im Vacuum hinterblieben.

Die erhaltenen Analysenwerthe der verschiedenen Substanzen liegen nahe beisammen. Einzelne lassen sich als isomer betrachten, wie Phytochlorin a und b, ferner Phytochlorin d und Phytorhodin a. Andere differiren nur um die Bestandtheile des Wassers, z. B. Phytochlorin a und d.

Es ist noch nicht möglich, die wahren empirischen Formeln der Verbindungen mit Sicherheit aufzustellen. Die Analysenwerthe legen uns aber den Versuch nahe, um die enge Verwandtschaft zwischen diesen Chlorophyllderivaten deutlich hervortreten zu

lassen, die Zusammensetzung aller durch Formeln auszudrücken mit drei Atomen Stickstoff.

	Phyto- rhodin a	Phyto- rhodin b	Aethyl- ester von Phyto- rhodin a	Aethyl- ester von Phyto- rhodin b	Phyto- rhodin c	Phyto- rhodin f
pC.-Gehalt der Salz- säure, die sehr reichl. aus Aether extrahirt	6,5	9	9,5	11	3	11
Krystalli- sation aus Aether	Nädelchn., büschelf. angeordn.	Täfelchen, rhomben- förmig	Prismen, schief ab- geschnitt.	Täfelchen, schief- winklig	Nadeln, zu Büscheln vereinigt	Prismen, zu Rosetten vereinigt
Farbe der ätherischen Lösung	carmin- roth	purpur- roth	carmin- roth	purpur- roth	purpur- roth	tiefroth
Farbe der salzsauren Lösung	blaustich. grün, sehr schwach fluorescir.	violett- stich. blau, fluorescir.	violett- stich. grün, s. schwach fluorescir.	violett- stich. blau, fluorescir.	violett- stich. grün- lichblau, schwach fluorescir.	leuchtend grün, nicht fluorescir.
Löslichkeit in Aether	ziemlich leicht lösl.	ziemlich leicht lösl.	recht leicht lösl.	leicht löslich	ziemlich leicht lösl.	krystallis. äusserst schwerlös- lich, geht aber aus saurer Lö- sung in Aether
Löslichkeit in kaltem Alkohol	ziemlich leicht lösl.	schwer löslich	leicht löslich	ziemlich leicht lösl.	schwer löslich	ziemlich schwer löslich

Ohne den Resultaten erheblichen Zwang anzuthun, kommt man dann fast durchweg zur Annahme von 28 Atomen Kohlenstoff. Wir möchten nur mit allem Vorbehalt diesen ersten Versuch einer Interpretation geben. In allen Fällen führen

wir auch das gefundene Verhältniss der Atome an. Die wichtigsten Substanzen erhalten dann folgende Formeln:

Phytochlorin a	$C_{28}H_{33}O_5N_3$
Phytochlorin b	$C_{28}H_{33}O_5N_3$
Phytochlorin c	$C_{28}H_{33}O_6N_3$
Phytochlorin d	$C_{28}H_{35}O_6N_3$
Phytorhodin a	$C_{28}H_{35}O_6N_3$
Aethylester aus Phytorhodin a	$C_{30}H_{37}O_8N_3$
Phytorhodin b	$C_{28}H_{33}O_4N_3$
Aethylester von Phytorhodin b	$C_{30}H_{37}O_4N_3$

Das Molekulargewicht der Verbindungen zu bestimmen, ist uns leider noch nicht gelungen. Da wir bei mehreren Versuchen mit der Siedepunkts-Methode kein brauchbares Resultat erzielen, können wir im experimentellen Theile nur einen vorläufigen Versuch anführen, das Molekulargewicht von Phytochlorin b durch die Analyse eines Cäsiumsalzes zu ermitteln. Dieser Versuch widerspricht nicht der angeführten Formel.

Wie die Arbeit überhaupt eine Untersuchung der Chlorophyllderivate nur vorbereiten sollte, so ist sie auch nach der physikalischen Seite noch unvollständig geblieben. Insbesondere beabsichtigen wir, spektralanalytische Beobachtungen nachzutragen.

Mit Chlorophyllabkömmlingen der Literatur kann keines von den neuen Derivaten identificirt werden. Zwar sind die Phytochlorine a und b E. Schunck's⁷⁾ Phyllotaonin recht ähnlich, einige Phytorhodine zeigen Aehnlichkeit mit dem Phylloporphyrin⁸⁾ von E. Schunck und L. Marchlewski und die Phytorhodinester mit den Phyllotaoninäthern, aber in allen Fällen ist die Identität, ja sogar eine nahe Beziehung durch die Analysenergebnisse ausgeschlossen, wie die folgende Zusammenstellung zeigt.

⁷⁾ Proc. Roy. Soc. **44**, 448 (1888) und **55**, 351 (1894). E. Schunck und L. Marchlewski, diese Annalen **278**, 329 (1894).

⁸⁾ Proc. Roy. Soc. **57**, 314 (1895) und diese Annalen **284**, 81 (1894).

Mittelwerthe der Analysen.

	C	H	N
Phyllotaonin	68,51	6,08	12,85
Phytochlorin a	68,64	6,78	9,07
Phylloporphyrin	75,98	7,10	11,02
Phytorhodin c ⁹⁾	69,15	6,69	8,79
Phyllotaoninäthyläther	69,22	6,04	11,40
Phytorhodinäthylester	68,99	7,04	8,09

Auch ausserdem lassen sich gewisse Unterschiede anführen; Phylloporphyrin ist eine stärkere Base wie unsere Phytorhodine und im Gegensatz zu diesen unlöslich in Alkalien. Phyllotaonin krystallisirt nicht aus warmer Lösung in Alkohol und Aether und weicht hierin von Phytochlorin a und b ab. Die Phyllotaoninäther unterscheiden sich dadurch scharf von den Phytorhodinestern, dass ihre Verseifungsproducte nicht rothe, sondern olivgrüne Farbe besitzen.

Experimenteller Theil.*Ausgangsmaterial.*

Für die zu beschreibenden Umwandlungen des Chlorophylls dienten uns zwei ganz verschiedene Arten von Extracten, die stets aus getrockneten Brennesselblättern gewonnen wurden.

Durch Ausziehen zerschnittener Blätter mit siedendem Alkohol oder Essigäther in Extractionsapparaten aus Steinzeug gewannen wir einen Extract, der das Chlorophyll nur zum geringsten Theil unverändert enthielt, vielmehr in einem Zustande, der etwa dem Chlorophyllan Hoppe-Seyler's entsprach. Einem Theile des angewandten Blättermaterials waren vor dieser Extraction gelbe Pigmente durch Auskochen mit Petroläther entzogen worden.

Ehe wir über geeignete Einrichtungen für die Extraction der Blätter verfügten, hatte die chemische Fabrik E. Merck

⁹⁾ In Zusammensetzung und Eigenschaften steht von den Phytorhodinen c dem Phylloporphyrin am nächsten.

in Darmstadt die grosse Freundlichkeit, uns Extracte aus grösseren Portionen von Blättern nach unseren Angaben herzustellen. Wir sind für diese grosse Unterstützung unserer Arbeit der Firma Merck zu aufrichtigem Danke verpflichtet.

Die Extractlösungen waren bräunlich olivfarbig und zeigten rothe Fluorescenz; sie enthielten Gemische verschiedener Chlorophyllderivate, die zum Theil leicht, zum Theil schwer in Alkohol löslich waren. Beim Behandeln mit Alkalien in der Hitze lieferten sie uns hauptsächlich die Phytochlorine.

Da die Extracte dieser ersten Art schon zu weitgehend verändert sind, um auf Alkachlorophylle verarbeitet zu werden, dienten uns für die Gewinnung der letzteren und weiterhin der Phytorodine andere, durch Extraction von Brennesselblättern in der Kälte erhaltene Lösungen von Chlorophyll. Diese besaßen in dünner Schicht tiefe und reingrüne Farbe und stärkste rothe Fluorescenz. Ueber ihre Darstellung sollen genaue Angaben in einer folgenden Abhandlung veröffentlicht werden.

Darstellung der Phytochlorine a und b.

Während Chlorophyll bei der Einwirkung von Alkalien in Salze übergeht, die sich mit intensiver chlorophyllgrüner Farbe in Wasser lösen, liefert der chlorophyllanartige Extract der ersten Art schon bei gelindem Behandeln mit alkoholischer Lauge ein Gemisch von Alkaliverbindungen, deren wässrige Lösung olivbraun getarot ist.

Wir kochten Portionen von 200 g Extract, die etwa 8,5 bis 9 kg getrockneter Brennesselblätter entsprachen, mit 2 kg 96procentigen Sprits unter Rückfluss, bis eine ziemlich klare Lösung gebildet war und fügten dann soviel alkoholische Kalilauge hinzu, dass die Flüssigkeit eine zweiprocentige Lösung von Aetzkali bildete. Sofort schlug ihre Farbe über ein helles Gelbbraun in olivbraun um. Um eine gute Ausbeute an Phytochlorin a zu erzielen, erhitzen wir nur etwa eine Viertelstunde am Rückflusskühler; energischere Einwirkung von

Alkali erhöhte den Ertrag an Phytochlorin b auf Kosten von a. Die abgekühlte Flüssigkeit wurde mit Wasser stark verdünnt und mit Salzsäure neutralisirt; die Reactionsproducte brachten wir nun, mit zwei 6-L-Scheidetrichtern arbeitend, in ätherische Lösung und befreiten diese thunlichst von Alkohol durch wiederholtes Waschen.

Zunächst wurden nun die basischen Verbindungen von den sehr schwach basischen und den vielen indifferenten Nebenproducten getrennt, die, soweit sie überhaupt von der Chlorophyllsubstanz herstammten, recht unerfreuliche Eigenschaften aufwiesen. Zu diesem Zwecke schüttelt man die ätherische Schicht ein paar Male mit je einem halben Liter 17 procentiger Salzsäure durch und verdünnt die abgelassenen sauren Lösungen auf einen Gehalt von 13 pC. Chlorwasserstoff; nun werden sie zur vollständigen Abscheidung der schwachen Basen noch einmal mit Aether gewaschen, darauf neutralisirt und ausgeäthert.

Die ätherische Lösung enthält nun hauptsächlich die olivfarbigen Phytochlorine a und b, sowie eine minder basische, mit tiefrother Farbe lösliche Verbindung (siehe unter Phytorhodin f). Um a und b rein zu isoliren, brachten wir die ätherische Flüssigkeit auf ein Volumen von drei Litern und schüttelten sie viermal (die erste Ausschüttelung ist intensiv blaugrün gefärbt, die letzte nur noch ganz dünn) mit dreiprocentiger Salzsäure durch, zuerst mit $1\frac{1}{2}$ Litern, die folgenden Male mit je einem Liter. Diese verdünnte Säure ist gerade noch stark genug, um b zu extrahiren, während sie von Phytochlorin a nur sehr geringfügige Spuren aufnimmt; überdies beseitigt man diese Spuren durch zweimaliges Ausschütteln der vereinigten salzsauren Auszüge mit je drei Viertel Litern Aether. Durch Neutralisiren der sauren Lösung und Abfiltriren der ausgeschiedenen dunklen Flocken oder Wiederaufnehmen mit Aether wird nun die Base b isolirt.

Die ätherische Mutterlauge ist noch nicht quantitativ von diesem Bestandtheile befreit und muss noch, wiewohl mit Ver-

lust von a, mehrmals mit 4,5-procentiger Salzsäure kräftig durchgeschüttelt werden, beispielsweise einmal mit einem Drittel und zweimal mit einem Sechstel ihres Volumens. Um ihr dann Phytochlorin a zu entziehen, eignet sich am besten sechsprocentige Salzsäure, welche die Substanz zwar nicht sehr leicht herausholt, aber nur minimale Mengen von rothem Nebenproduct und anderen schwächer basischen Begleitern mitnimmt. Es wird wieder dreimal mit je einem Liter Säure extrahirt, die Flüssigkeit zweimal mit je 500 ccm Aether gewaschen und endlich Phytochlorin a ebenso wie die stärkere Base isolirt.

Alle Operationen sind, namentlich beim Arbeiten im Sommer, ohne Unterbrechung möglichst rasch auszuführen, da die Phytochlorine in ätherhaltiger salzsaurer Lösung an der Luft selbst bei Lichtabschluss Veränderungen unterliegen.

Nach diesem Verfahren lassen sich die beiden Phytochlorine bei einiger Uebung in vollkommen reinem Zustande gewinnen. Mit geringeren Verlusten und rascher kann man aus der ätherischen Lösung ihres ursprünglichen Gemisches diese Phytochlorine isoliren, indem man die Lösung mehrfach zunächst mit vierprocentiger, dann mit siebenprocentiger Salzsäure ausschüttelt. Die beiden sauren Lösungen müssen, im einen Fall um a, im zweiten um die schwächeren Basen wegzuschaffen, wiederholt mit Aether gewaschen werden, ehe man die beiden getrennten Hauptproducte in Freiheit setzt.

Um die so gewonnenen, nur annähernd reinen Basen gänzlich zu reinigen, extrahirten wir sie erneut und zwar unvollständig aus ätherischer Lösung, nämlich b mit 3,5-procentiger Salzsäure, und a, das nach zwei Seiten abzutrennen ist, nach vorangehendem Waschen mit 4,5-procentiger Salzsäure, mit 6,5-procentiger Säure.

Mittelst dieser Methode überzeugten wir uns auch, indem wir die ersten und letzten Ausschüttelungen von 3,5- bzw.

6,5-procentiger Salzsäure getrennt isolirten und untersuchten, von der vollkommenen Homogenität der Präparate.

Ueber die Ausbeuten, die in Folge der willkürlichen Verluste bei der Isolirung inconstant waren, können wir nur eine vorläufige Angabe machen; aus den 200 g Extract erhielten wir 1,9 g Phytochlorin a und 3,1 g Phytochlorin b in präparativ reinem Zustande. Natürlich liefern die abfallenden ätherischen und salzsauren Waschflüssigkeiten beim Aufarbeiten noch eine beträchtliche Vermehrung dieser Ausbeuten.

Dieselben Phytochlorine gewannen wir auch durch Behandlung des Blätterextractes mit ätherischer Salzsäure und darauffolgende Erwärmung der isolirten Reactionsproducte mit alkoholischer Kalilauge.

Phytochlorin a, $C_{28}H_{33}O_5N_3$.

Beim Eindunsten seiner ätherischen Lösung im Vacuum hinterbleibt das Phytochlorin als sehr voluminöses, weiches, mikrokrySTALLINISCHES Aggregat von grünlichschwarzer Farbe. Es löst sich in Aether ziemlich leicht, 1 g in circa 100 ccm, in Aethyl- und Methylalkohol bei Siedehitze recht leicht, in der Kälte ziemlich schwer, in Benzol heiss leicht, kalt schwer, und in Chloroform, sowie in Aceton schon in der Kälte sehr leicht; in Petroläther und in hochsiedendem Ligroin ist es selbst in der Wärme so gut wie unlöslich, endlich in Wasser ganz unlöslich.

Zum Umkrystallisiren eignen sich Benzol und besonders Alkohol; daraus und auch beim langsamen Eintrocknen sehr verdünnter ätherischer Lösungen krystallisirt die Substanz in charakteristischen Rosetten, die aus feinen, in der Durchsicht olivbraunen Nadelchen bestehen (siehe Figur I, Seite 20). Die Aggregate sind hart und zeigen blauschwarze Farbe und metallischen Glanz.

Rohproducte wie vorsichtig umkrystallisirte Präparate schmelzen, nachdem sie kurz vorher zusammengesintert, bei 181—182° nicht unverändert.

Zur Analyse wurden die Präparate von dieser und den im Folgenden beschriebenen Substanzen im Vacuumexsiccator zur vollkommenen Gewichtsconstanz getrocknet, was mindestens ein paar Tage, öfters auch mehrere Wochen dauerte; die letzten Spuren der Lösungsmittel halten diese hochmolekularen Stoffe sehr hartnäckig zurück.

Für die Bestimmungen I bis III und VI dienten Rohproducte verschiedener Darstellungen, für IV¹⁰⁾, V und VII einmal aus Alkohol umkrystallisirte Präparate; die Mittelwerthe der Analysen ergeben das Verhältniss: 1 N : 1,57 O : 8,98 C : 10,71 H.

I.	0,1489 g	gaben	0,3727 CO ₂	und	0,0911 H ₂ O.
II.	0,1252 g	„	0,3142 CO ₂	„	0,0764 H ₂ O.
III.	0,1595 g	„	0,4017 CO ₂	„	0,0980 H ₂ O.
IV.	0,1270 g	„	0,3199 CO ₂	„	0,0771 H ₂ O.
V.	0,1427 g	„	0,3615 CO ₂	„	0,0836 H ₂ O.
VI.	0,1383 g	„	11,0 ccm Stickgas bei 13°	und	720,5 mm Druck.
VII.	0,0990 g	„	8,1 ccm Stickgas	„ 9,6° „	715 mm Druck.

	Berechnet für	Gefunden						
	C ₂₈ H ₃₂ O ₅ N ₂	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII
C	68,38	68,27	68,45	68,69	68,70	69,09	—	—
H	6,77	6,84	6,83	6,87	6,79	6,55	—	—
N	8,57	—	—	—	—	—	8,90	9,23

Trocknung im Toluolbade verträgt das Phytochlorin a ebensowenig wie längeres Erwärmen mit Lösungsmitteln. Bei dreimaligem Umkrystallisiren schied sich eine grössere Substanzprobe in scharf umrissenen, trapezförmigen Täfelchen und schwalbenschwanzförmigen Zwillingen aus; ihre Analyse (VIII und X) schien ebenso wie die im Toluolbade erhitzter Substanz (IX) auf den Verlust eines halben Moleküls Wasser hinzuweisen. Wahrscheinlich erklärt sich auch die Differenz der oben angeführten Bestimmung V von den anderen Werthen durch den Einfluss längeren Kochens mit Alkohol.

VIII.	0,1380 g	gaben	0,3523 CO ₂	und	0,0855 H ₂ O.
IX.	0,1186 g	„	0,3027 CO ₂	„	0,0740 H ₂ O.
X.	0,1605 g	„	13,2 ccm Stickgas bei 14°	und	707 mm Druck.

¹⁰⁾ IV dasselbe Präparat wie III, nur umkrystallisirt.

	Berechnet für $C_{28}H_{32}O_{4.5}N_3 = C_{56}H_{64}O_9N_6$	Gefunden		
		VIII.	IX.	X.
C	69,66	69,62	69,61	—
H	6,68	6,93	6,98	—
N	8,73	—	—	9,01

Die angenommene Veränderung zeigt sich recht auffällig beim anhaltenden Erhitzen mit Alkohol, indem das Phytochlorin seine Aetherlöslichkeit gänzlich einbüsst; beim Schütteln

Fig. I.

mit Aether und Wasser wird sie wieder hergestellt. Auch beobachtet man bei den durch Erwärmen modificirten Präparaten ein Ansteigen des Schmelzpunktes auf über 200° .

Die Lösungen des Phytochlorins a in Aether und in Alkohol zeigen olivgrüne Farbe und mässig starke rothe Fluorescenz, die benzolische Lösung ist olivbraun; in nicht zu geringer Schicht sind die Lösungen der verschiedenen Phytochlorine tieferroth im durchfallenden Lichte. Charakteristisch ist die prachtvoll blaue Farbe der Lösung in Eisessig, die an die violette

Lösung des Phyllotaonins von E. Schunck und L. Marchlewski¹¹⁾ erinnert; die Eisessiglösung zeigt starke rothe Fluorescenz, beim Versetzen mit Wasser bleibt ihre Farbe bis zu starker Verdünnung bestehen, wird aber violettstichiger. In concentrirter Schwefelsäure löst sich das Phytochlorin blaugrün, in Ameisensäure mit ähnlicher Farbe.

Das Phytochlorin a besitzt schwach basische und ausgeprägt saure Eigenschaften. Aus ätherischer Lösung geht es fast vollständig in achtprocentige, sehr reichlich in siebenprocentige, nur spurenweise in vierprocentige Salzsäure, dreiprocentige wird kaum angefärbt. Die salzsaure Lösung fluorescirt nicht und ist tief blautichig grün, roth in der Durchsicht; beim Erwärmen wird die Lösung, namentlich in recht verdünnter Salzsäure (4 pC.), erheblich blautichiger. Natronlauge von beliebiger Verdünnung, Ammoniak, Soda und Natriumbicarbonat nehmen das Phytochlorin quantitativ auf, auch aus ätherischer Lösung, und zwar mit olivbrauner Farbe, ohne Fluorescenz; durch einigermassen concentrirte Alkalien werden die Alkalisalze vollständig ausgefällt.

Nach vorsichtigem Schmelzen im Reagirrohre erstarrt das Phytochlorin wieder; es ist aber danach schwächer basisch und weniger löslich in Aether. Erhitzt man stärker zu völliger Zersetzung, so treten röthliche Dämpfe von tabakartigem Geruch auf; die Dämpfe der überhitzten Substanz röthen einen mit Salzsäure getränkten Fichtenspahn.

Beim Kochen mit starker methylalkoholischer Salzsäure verwandelt sich das Phytochlorin langsam in ein alkaliumlösliches Derivat von ähnlicher Basicität, wahrscheinlich einen Ester.

Von Kaliumpermanganat, das in saurer und in alkalischer Lösung leicht darauf einwirkt, wird das Phytochlorin entfärbt; auch von concentrirter Salpetersäure wird es leicht oxydirt, und zwar zu einer intensiv gelb gefärbten Verbindung von

¹¹⁾ Diese Annalen **278**, 341 (1894).

saurer Natur. Viele Reductionsmittel wie Zinkstaub oder Zinn und Salzsäure entfärben das Phytochlorin rasch.

Beim Stehen an der Luft erleidet die ätherhaltige salzsaure Lösung der Substanz namentlich in den Sommermonaten leicht Veränderungen, sie wird reiner grün und enthält dann Producte, die in indifferenten Lösungen rothe Farbe aufweisen.

Phytochlorin b, $C_{28}H_{33}O_5N_3$.

Das zweite Phytochlorin stimmt mit dem an erster Stelle beschriebenen in der Zusammensetzung und vielen Eigenschaften überein. Als Rohproduct bildet es ein mattschwarzes Pulver, das sich in Aether ziemlich leicht, in Aethyl- und Methylalkohol warm leicht, kalt ziemlich schwer, in heissem Benzol ziemlich schwer, in kaltem sehr schwer löst. In Chloroform,

Fig. II.

Aceton und Ligroin ist die Löslichkeit die nämliche wie bei Phytochlorin a, auch zeigen die Lösungen in den indifferenten Solventien dieselbe Farbe und Fluorescenz. Eisessig löst

Phytochlorin b mit schwach violettstichig blauer Farbe, sehr verdünnt erscheinen die Lösungen rein blau.

Aus den Alkoholen und Benzol lässt sich die Substanz gut umkrystallisiren. Man erhält sie in bläulichschwarzen, metallisch glänzenden Krystallmassen, die aus Säulchen und einerseits abgeschrägten Tafelchen bestehen (Figur II). Im Schmelzpunkt stimmen Rohproduct und umkrystallisirte Präparate überein; bei 168° beginnt die Substanz zusammenzusintern und schmilzt unscharf unter allmählicher Zersetzung zwischen 183° und 190° . Hingegen erweist sich das umkrystallisirte Product als äusserst wenig löslich in Aether; schüttelt man indessen eine derartig modificirte Substanz mit Aether und Wasser kurze Zeit, so geht sie wieder glatt in Lösung, besonders leicht auf Zusatz von ein wenig verdünnter Salzsäure. Wiewohl man hiernach vermuthen möchte, dass mit dem Umkrystallisiren eine Abspaltung von Wasser einhergeht, stimmen die durch Eindampfen ätherischer Lösungen isolirten Rohproducte von mehreren Darstellungen (Analysen I, II, V) mit verschiedenartig umkrystallisirten Präparaten (III, IV) in der Zusammensetzung anscheinend überein. Die Mittelwerthe der Analysen ergeben das Verhältniss 1 N: 1,55 O: 8,94 C: 10,66 H.

- I. 0,1660 g gaben 0,4185 CO_2 und 0,1025 H_2O .
 II. 0,1311 g „ 0,3284 CO_2 „ 0,0776 H_2O .
 III. 0,1431 g „ 0,3584 CO_2 (Wasserbestimmung verunglückt).
 IV. 0,1417 g „ 0,3544 CO_2 und 0,0890 H_2O .
 V. 0,1755 g „ 14,2 ccm Stickgas bei 15° und 717,5 mm Druck.

Berechnet für		Gefunden				
	$\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{O}_5\text{N}_3$	I.	II.	III.	IV.	V.
C	68,38	68,76	68,32	68,31	68,21	—
H	6,77	6,91	6,62	—	7,03	—
N	8,57	—	—	—	—	8,95

Beim Trocknen im Toluolbade erlitt das Phytochlorin b einen Gewichtsverlust von über 3 pC. und verwandelte sich zum Theil in Producte von etwas nach braun veränderter Farbe und schwächer basischer Natur. Bei stärkerem Erhitzen bläht sich die Substanz auf und zersetzt sich ähnlich wie Phytochlorin a.

Im Verhalten gegen Alkalien stimmen die Phytochlorine a und b genau überein. Hingegen unterscheiden sie sich scharf durch den etwas stärker basischen Charakter von b. Dieses wird nämlich aus ätherischer Lösung schon von zweiprocentiger Salzsäure deutlich, sehr reichlich von vier- und fast vollständig von fünfprocentiger Salzsäure aufgenommen. Die Farbe der Lösung in vierprocentiger Salzsäure ist blautichig grün, schön roth in der Durchsicht; beim Erwärmen ändert sie sich nicht (Unterschied von a), aber beim Verdünnen mit Wasser wird sie blautichiger. In heissgesättigter Oxalsäurelösung ist das Phytochlorin b (auch a) leicht löslich.

Mit gefällttem Kupferhydroxyd sättigt sich die Substanz ab unter Bildung eines in den üblichen Solventien ganz unlöslichen Kupfersalzes von dunkler Farbe.

Zur vorläufigen Orientirung über die Molekulargrösse von Phytochlorin b versuchten wir ein primäres Alkalisalz darzustellen. Eine wässrige Lösung von Cäsiumhydroxyd wurde mit einem beträchtlichen Ueberschuss von ätherischer Phytochlorinlösung geschüttelt. Die olivbraune Lösung des entstandenen Cäsiumsalzes dunsteten wir nach dem Abtrennen der ätherischen Schicht im Vacuumexsiccator ein und trockneten den Rückstand zur Gewichtsconstanz. Er enthielt 21,8 pC. Cäsium, woraus sich das Molekulargewicht des Salzes = 606 ergibt und das des Phytochlorins b = 475, wenn man die Annahme macht, dass das gebildete Cäsiumsalz primär ist, dass also auf ein Atom des Metalls ein Molekül der Säure trifft. Für die Formel $C_{28}H_{33}O_5N_3$ ist berechnet 488. In der That zeigt die Cäsiumverbindung das Verhalten eines sauren Salzes. Ihre Lösung giebt an Aether bei häufigem Durchschütteln jedesmal Phytochlorin ab, bis schliesslich ein Endzustand erreicht wird. Dabei hat sich aber unsere Erwartung nicht erfüllt, von dem primären Cäsiumsalz zu einem secundären zu gelangen und auf diese Weise eine Bestätigung für das gefundene Aequivalentgewicht zu erhalten. Als die Cäsiumsalzlösung kein Phytochlorin mehr an Aether abgab,

lieferte sie uns einen Trockenrückstand, dessen Cäsiumgehalt nur = 26,7 pC., bei einem wiederholten Versuche = 26,1 pC. gefunden wurde.

Wenn man nicht die Annahme machen will, dass eine der beiden Cäsiumverbindungen aus einer Mischung von primärem und secundärem Salz bestand, so bleibt nur die Erklärung übrig, dass das Molekulargewicht des Phytochlorins b viermal so gross ist und dass die beiden Cäsiumsalze vier und fünf Atome Cäsium enthalten.

Esterificirung des Phytochlorins b.

Bei ein- bis zweistündigem Kochen von Phytochlorin b mit concentrirter methylalkoholischer Chlorwasserstoffsäure wurde es etwa zur Hälfte in ein Derivat umgewandelt, das keinen Säurecharakter mehr zeigt. Es liess sich durch Ausschütteln seiner ätherischen Lösung mit sehr verdünnter Natronlauge von alkalilöslicher Substanz, im wesentlichen unverändertem Ausgangsmaterial, trennen und wurde beim Eindunsten der mit geglühtem Natriumsulfat getrockneten Aetherlösung als blauschwarzes, krystallinisches Pulver erhalten.

Bei langsamem Verdunsten der ätherischen Lösung hinterblieb es in concentrisch angeordneten, zweigartigen Gebilden.

Für die Analyse krystallisirten wir die Verbindung, die ohne Fractionirung einheitlich war, aus Holzgeist um und erhielten sie dadurch in stahlblau glänzenden Aggregaten von rechtwinkligen Tafelchen und Säulchen, bei grösserer Ausbildung oft in schwalbenschwanzförmigen Zwillingen. Die vacuumtrockne Substanz erfuhr beim Erhitzen im Xylolbade keine Veränderung und schmolz ziemlich scharf bei 140°. Sie enthielt kein Chlor.

I. 0,1431 g gaben 0,3665 CO₂ und 0,0891 H₂O.

II. 0,1499 g „ 12,2 ccm Stickgas bei 16,5° und 714,5 mm Druck.

	Berechnet für $[\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{O}_{4,5}\text{N}_3]_2$	Gefunden	
		I.	II.
C	70,11	69,85	—
H	6,90	6,97	—
N	8,48	—	8,89

Der Analyse zufolge, die das Verhältniss 1 N : 1,41 O : 9,19 C : 10,92 H ergibt, ist die Verbindung wahrscheinlich ein Methylester von Phytochlorin b, entstanden unter gleichzeitiger Abspaltung von einem Mol. Wasser aus zwei Mol. des Phytochlorins. In der That liefert der Ester bei kurzem Kochen mit starkem methylalkoholischem Kali ein saures Verseifungsproduct, das nach seiner basischen Eigenschaft und den Farberscheinungen seiner Lösungen mit dem Phytochlorin b identisch war.

Merkwürdigerweise ist der Methylester schwächer basisch als das Phytochlorin, obwohl dessen saure Gruppe ausgeschaltet ist; vierprocentige Salzsäure entzieht ihn der ätherischen Lösung so gut wie gar nicht, siebenprocentige zum Theil, neunprocentige grösstentheils.

Der Methylester löst sich in Aether ziemlich leicht, in Methyl- und Aethylalkohol in der Kälte schwer, leichter in der Wärme, in siedendem Benzol ziemlich leicht. Seine Lösungen in indifferenten Solventien, ferner in Eisessig und in Mineralsäure liessen in Bezug auf Farbe und Fluorescenz keinen Unterschied vom Phytochlorin erkennen.

Umwandlung von Phytochlorin a in b.

Das Phytochlorin a lässt sich durch energische Behandlung mit alkoholischer Kalilauge glatt in b überführen, ohne dass bei wiederholten Versuchen, für die allerdings nur Bruchgramme verfügbar waren, irgend ein Nebenproduct auftrat.

Die Auflösungen von a in concentrirter alkoholischer Lauge wurden über freier Flamme langsam stark eingedampft, bis sich am Rande intensive Grünfärbung zeigte, und dann noch etwa eine Viertelstunde im siedenden Wasserbade erwärmt. Die wieder isolirte Substanz stimmte in der Basicität genau mit

Phytochlorin b überein, indem sie aus ihrer olivgrünen ätherischen Lösung glatt von vierprocentiger Salzsäure aufgenommen wurde. Auch krystallisirte sie ohne weitere Reinigung aus Aether in Tafelchen, die auf einer Seite schiefwinklig begrenzt waren, so wie dies Fig. II (Seite 22) für die Krystalle von b zeigt.

Bildung der Phytochlorine c und d aus a und b mittelst concentrirter Salzsäure.

Die beschriebenen zwei Phytochlorine gehen beim Stehen in concentrirt salzsaurer Lösung in eine ganze Reihe neuer Verbindungen über, die sich vom Ausgangsmaterial durch die viel mehr grüne Farbe der ätherischen und schön blaue ihrer salzsauren Lösungen unterscheiden. Wir beschränkten uns darauf, die zwei stärkst basischen Glieder dieser Reihe — sie seien als Phytochlorine c und d bezeichnet — zu untersuchen, die den Hauptantheil der Gemische darstellten. Während wir gewöhnlich zu ihrer Gewinnung die Phytochlorine a und b ungetrennt anwandten, gingen wir zur Ermittlung der relativen Ausbeuten von den rein fractionirten Phytochlorinen a und b aus.

0,77 g Phytochlorin a liessen wir in 100 ccm concentrirter Salzsäure 25 Tage lang verschlossen und vor Licht geschützt stehen; die anfangs blaugrüne, später tiefblaue Flüssigkeit wurde dann verdünnt, neutralisirt und ausgeäthert, um das Reactionsgemisch in folgender Weise zu fractioniren.

Die auf einen Liter verdünnte ätherische Lösung schüttelten wir einmal mit 500, zweimal mit 250 ccm halbprocentiger Salzsäure durch und reinigten die gesammten salzsauren Auszüge durch zweimaliges Waschen mit je 200 ccm Aether. Der halbprocentig-salzsauren Lösung wurde durch annähernde, aber nicht vollständige Neutralisation und Ausäthern unter Zusatz von Kochsalz die Base d entzogen und weiter aus der ätherischen Mutterlauge durch ganz analoge Behandlung mit 1,5-procentiger Salzsäure Phytochlorin c isolirt.

Die ätherische Lösung enthielt noch geringe Mengen einer ähnlichen dritten Verbindung, die 2,5-procentige Salzsäure zu ihrer Extraction erforderte, und einer vierten, die in der Basicität mit dem Ausgangsmaterial übereinstimmte, hinsichtlich der Farbe der Lösungen aber so wie c und d von ihm unterschieden war.

Der nämlichen Behandlung mit concentrirter Säure unterwarfen wir 0,60 g Phytochlorin b und beobachteten in dem entstehenden Gemisch neben den analog isolirten Hauptproducten c und d noch eine neue Verbindung von etwa der Basicität des Ausgangsstoffes.

Die Ausbeuten in präparativ reinem Zustande, nämlich

	aus 0,77 g Phytochlorin a	aus 0,60 g Phytochlorin b
Phytochlorin c	0,09 g	0,03 g
Phytochlorin d	0,19 g	0,23 g

zeigen, dass b mehr von der stärksten Base (d) und viel weniger von c entstehen lässt, als das Phytochlorin a.

Für die weitere Untersuchung wurden die beiden neuen Phytochlorine wiederholter Fractionirung mit 0,5- bzw. 1,5-procentiger Salzsäure unterworfen.

Phytochlorin c, $C_{28}H_{35}O_6N_3$.

Das Phytochlorin c geht aus ätherischer Lösung schon in zweiprocentige Salzsäure zum weitaus grössten Theile, in 1,5-procentige überwiegend, in halbprocentige nur sehr wenig.

Es unterscheidet sich nicht nur durch seinen stärker basischen Charakter von den beiden ersten Phytochlorinen, sondern auch sehr wesentlich durch die Farberscheinungen seiner Lösungen. In Alkalien löst es sich auch bei grosser Verdünnung mit grüner, in verdünnten Mineralsäuren mit blauer Farbe, in beiden mit rother Fluorescenz. Noch stärker fluorescirt die schön blaue Eisessiglösung. Verdünnte Essigsäure nimmt es nicht auf, hingegen schon kalt gesättigte Oxalsäurelösung. Die ätherische und alkoholische Lösung sind olivstichig grün und

zeigen natürlich auch Fluorescenz. Verdünnt man die alkoholische Lösung mit Wasser, so schlägt die Farbe über violett in olivbraun um und die Lösung nimmt starke grünblaue Fluorescenz an.

Das Phytochlorin c ist in Aether ziemlich leicht, in Alkohol und Holzgeist schon in der Kälte recht leicht, in siedendem Benzol ziemlich schwer löslich, in kaltem fast unlöslich, in

Fig. III.

Chloroform in der Wärme recht leicht löslich, kalt ziemlich leicht, unlöslich in Ligroin. Bei langsamem Herauskommen aus methylalkoholischer Lösung bildet es spindelförmige Krystalle (Fig. III), bei raschem Krystallisiren S-ähnliche Wachstumsformen. Einen Schmelzpunkt besitzt die Substanz nicht, sie sintert langsam von etwa 180° an zusammen; schon im Toluolbade beginnt eine Zersetzung, bei der schwächer basische Producte entstehen.

Ein mit Salzsäure wiederholt fractionirtes Präparat, durch Eindunsten der ätherischen Lösung isolirt, diente zur Analyse,

aus der sich das Verhältniss $1\text{ N} : 1,81\text{ O} : 8,86\text{ C} : 10,47\text{ H}$ ableitet.

I. 0,1525 g gaben 0,3719 CO_2 und 0,0900 H_2O .

II. 0,1228 g „ 10,0 ccm Stickgas bei $21,5^\circ$ und 722,5 mm Druck.

	Berechnet für $\text{C}_{28}\text{H}_{35}\text{O}_6\text{N}_3$	Gefunden	
		I.	II.
C	66,23	66,51	—
H	6,55	6,60	—
N	8,30	—	8,78

Phytochlorin d, $\text{C}_{28}\text{H}_{35}\text{O}_6\text{N}_3$.

Das Phytochlorin d ist besonders gut charakterisirt durch die brillantesten Farberscheinungen. Es ist in dieser Reihe von Abbauprodukten des Chlorophylls die stärkste Base und schwächste Säure; am nächsten steht es in seinem Verhalten der c-Verbindung. Zum Unterschied von den übrigen Phytochlorinen wird es von Wasser aufgenommen mit prachtvoll violetter Farbe und sehr starker rother Fluorescenz. Es vertheilt sich beim Durchschütteln der ätherischen Lösung mit Wasser auf beide Lösungsmittel. Enthält aber das Wasser nur eine Spur Salzsäure, so geht die Substanz wieder ganz in den Aether über. Das Phytochlorin d scheint also in zwei Formen aufzutreten, von denen die wasserlösliche nur bei Ausschluss von Säure existirt. Andernfalls müsste ja die Gegenwart einer kleinen Säuremenge die Wasserlöslichkeit der beträchtlich basischen Verbindung erhöhen.

Alkalien, z. B. 0,01- bis 10-procentige Natronlauge, lösen das Phytochlorin d, und zwar mit grüner, in starker Schicht rothbrauner Farbe und rother Fluorescenz. Durch concentrirtere Lauge wird das Natronsalz ausgefällt. Verdünnt man die alkalische Lösung mit sehr viel Wasser, so schlägt die Farbe in violett um und das Phytochlorin kann mit Aether extrahirt werden. Eine derartige hydrolytische Dissociation findet bei den anderen Phytochlorinen nicht statt.

Einprocentige Salzsäure nimmt die Base aus ätherischer Lösung so gut wie vollständig heraus, 0,5-procentige einen sehr

grossen Theil davon. Auch in verdünnter Essigsäure und verdünnter Oxalsäurelösung ist sie reichlich löslich.

Die salzsaure Lösung ist leuchtend violettblau, in der Durchsicht geht die Farbe je nach der Dicke der Schicht von blau über violett nach roth über; die Fluorescenz dieser Lösungen, namentlich bei grosser Verdünnung, ist eine ausserordentlich starke. Dasselbe gilt für die Lösung in Eisessig, deren Farbe auch violettblau ist. Concentrirte Schwefelsäure löst blaugrün.

Das Phytychlorin d löst sich in frischem Zustande ziemlich leicht in Aether, sehr leicht in den Alkoholen und Aceton

Fig. IV.

schon in der Kälte, schwer in kaltem, ziemlich schwer in siedendem Chloroform, in Benzol in der Kälte fast gar nicht, in der Hitze sehr schwer; in Ligroïn ist es unlöslich.

Die verdünnte ätherische Lösung zeigt rein grüne Farbe, dickere Schichten sind in der Durchsicht braun.

Aus ätherischer Lösung krystallisirte die Substanz in keilförmig zugespitzten breiten Spiessen, die sich zu Büscheln vereinigten (Fig. IV, Seite 31); einzeln waren sie hellgrün in der Durchsicht. Aus alkoholischer Lösung kamen schief abgeschnittene Prismen mit häufiger Zwillingbildung heraus.

Während die Verbindung gegen Reagentien recht widerstandsfähig ist und z. B. Erhitzen mit starker alkoholischer Kalilauge verträgt, ist sie, in Substanz isolirt, sehr veränderlich. Sie neigt offenbar ausserordentlich zur Abspaltung von Wasser innerhalb ihres Moleküles. Einmal erleidet sie beim Erhitzen im Toluolbade Umwandlung in ein Gemisch schwächer basischer Phytochlorine und besitzt dementsprechend keinen eigentlichen Schmelzpunkt. Aber auch schon beim Aufbewahren im Vacuumexsiccator erfährt sie eine ähnliche Veränderung unter erheblicher Gewichtsabnahme. Dabei wurde das Product in Aether schwer löslich und ging in der Hauptmenge erst in 2,5-procentige Salzsäure. Es gelang daher nicht, das Phytochlorin in seiner primären Form zur Analyse zu bringen. Vielmehr musste dafür ein während mehr als drei Wochen zur Constanz getrocknetes Präparat dienen, das sich von den Phytochlorinen a und b durch den Mehrgehalt von einem Mol. Wasser (in Bezug auf N_3) unterschied und das Verhältniss 1 N:2,07 O:9,60 C:11,82 H aufwies.

I. 0,1272 g gaben 0,3083 CO_2 und 0,0777 H_2O .

II. 0,1225 g „ 9,2 ccm Stickgas bei 22° und 720,5 mm Druck.

	Berechnet für $C_{28}H_{35}O_6N_3$	Gefunden	
		I.	II.
C	65,96	66,10	—
H	6,92	6,83	—
N	8,29	—	8,05

Bei stärkerem Erhitzen giebt das Phytochlorin d tabakartig riechende Dämpfe, welche die Fichtenspahnreaction der Pyrrole zeigen.

Gewinnung der Phytorhodine.

Aus dem in der Kälte dargestellten (zweiten) Extract von reinem Chlorophyll gewannen wir zwei Alkachlorophylle, die beim Erwärmen mit alkoholischer Salzsäure zwei nahe verwandte, aber doch verschiedene Reihen von Phytorhodinen lieferten.

Das eine Ausgangsmaterial, ein Alkachlorophyllkaliumsalz, schied sich nach dem Versetzen der alkoholischen Extractlösung mit Aetzkali als ein grünschwarzer Niederschlag aus, der in Wasser mit rein grüner Farbe ohne jegliche Fluorescenz löslich ist. Aus dem Filtrat vom Kaliumsalz, das auch bei längerem Stehen mit mehr Kali keinen Niederschlag mehr absetzte, fällten wir den noch gelösten grossen Antheil der Chlorophyllsubstanz mit Hülfe von alkoholischer Chlorcalciumlösung als Calciumverbindung so gut wie völlig aus. Natürlich war diese nicht ganz frei zu erhalten von der Substanz des Kaliumsalzes, so dass weiterhin die Derivate des letzteren stets als Verunreinigung auftreten.

Das aus 10 kg Brennesselblättern gewonnene Kaliumsalz (92 g) erhitzen wir in fein gepulvertem Zustande mit einem Liter zwanzigprocentiger äthylalkoholischer Chlorwasserstoffsäure etwa sieben Stunden lang am Rückflusskühler. Dabei trat schon nach kurzem Kochen ein Farbumschlag von grün in olivstichiges rothbraun ein. Durch Eindunsten der Flüssigkeit bei mässiger Wärme unter vermindertem Drucke, Verdünnen mit Wasser, Neutralisiren und Ausäthern wurden die, mit Ausnahme eines kleinen Theiles (Phytorhodin d bzw. e aus der Kalkverbindung) löslichen Reactionsproducte isolirt. Wir trennten sie durch Ausschütteln der ätherischen Lösung mit sehr verdünnter Natronlauge in einen esterificirten Antheil, der keine sauren Eigenschaften besass und in alkalilösliche Substanzen, die der Esterificirung entgangen waren.

Der Phytorhodinester, dem nur etwas schwächer basische Substanz beigemischt war, liess sich leicht durch Fractionirung mit zehnprocentiger Salzsäure reinigen.

Hauptbestandtheil der alkalilöslichen Producte war die dem Aethylester entsprechende Säure Phytorhodin a, die durch Fractionirung mit Salzsäure hauptsächlich von zwei ähnlich gefärbten stärkeren Basen befreit werden musste. Von diesen — wir haben sie nicht zur Analyse gebracht — sei lediglich erwähnt, dass sie aus Aether grösstentheils in einprocentige, bezw. in dreiprocentige Salzsäure gehen, während für die Extraction und die nochmalige Reinigung von Phytorhodin a eine etwa siebenprocentige Salzsäure erforderlich war.

Als wir demselben Prozesse circa 400 g Alkachlorophyllkalkfällung unterwarfen, die aus 23 kg Blättern gewonnen waren, ergab sich ein ganz entsprechendes Resultat. Das Hauptproduct bildete ein neuer Phytorhodinester, der aus Aether in elfprocentige Salzsäure überging, also nur wenig schwächer basisch war wie der erste. Er konnte daher von einer Beimengung des Phytorhodinesters a nur mit erheblichem Verluste durch mehrmalige Ausschüttelung mit 9,5-procentiger Säure befreit werden.

Dem neuen Ester entsprach ein zweites Phytorhodin (b), das ganz ebenso vom verunreinigenden Phytorhodin a abgetrennt werden musste, indem man der ätherischen Lösung zunächst durch dreimalige Extraction mit sechsprocentiger Salzsäure a entzog und dann das etwas schwächer basische b mit Hülfe von neunprocentiger Salzsäure isolirte. Gerade in diesen Fällen hat sich die Methode der Fractionirung durch Salzsäure von verschiedenem Gehalte als unentbehrlich erwiesen.

Das Phytorhodin b war hier Hauptbestandtheil der alkalilöslichen Reactionsproducte. Ausserdem traten noch zwei stärker basische Verbindungen auf, eine, die schon in einprocentige Salzsäure ging, nur in geringem Betrage, und eine andere, mittelst 3,5-procentiger Säure isolirte, in zur Untersuchung ausreichender Menge (Phytorhodin c).

Unsere Ausbeuten an Phytorhodinen in präparativ reiner Form waren leider vorläufig sehr gering; wir erhielten aus den angegebenen Mengen von Alkachlorophyll: 0,4 g Phyto-

rhodin a und 1,2 g Ester desselben, 1,2 g Phytorhodin b und 0,9 g seines Esters, 0,6 g Phytorhodin c.

Phytorhodin a, $C_{28}H_{85}O_6N_3$.

Diese Verbindung wird, wiewohl sie einheitlich ist, schwer in gut krystallisirtem Zustande erhalten; ihre ätherische Lösung hinterlässt beim Abdampfen ein blauschwarzes Pulver, dessen dünne Schicht im durchfallenden Lichte braunroth erscheint; nur beim langsamen Eintrocknen verdünnter Lösungen bilden sich Nadelchen aus, die zu Büscheln vereinigt sind. In Aether ist das Phytorhodin ziemlich leicht, auch in Aethyl- und Methylalkohol, sowie in Benzol in der Kälte ziemlich leicht, bei Siedetemperatur leicht löslich, sehr leicht in Chloroform und Aceton, in Ligroin unlöslich. Die Lösungen in den indifferenten Solventien zeigen schöne carminrothe Farbe und schwache Fluorescenz.

Verdünnte Alkalien nehmen die Substanz auf mit braunrother, Salzsäure mit blaustichig grüner Farbe und sehr schwacher rother Fluorescenz, und zwar entzieht 3,5-procentige Salzsäure das Phytorhodin seiner ätherischen Lösung nur spurenweise, 6,5-procentige zum grössten Theile, 7,5-procentige völlig.

Auch diese Substanz verändert sich allmählich in der Wärme und schmilzt nur unscharf und allmählich zwischen 130° und 140° .

Die Analyse eines durch Eindunsten der ätherischen Lösung isolirten Präparates ergab das Verhältniss 1 N:2,03 O:9,39 C:11,17 H.

I. 0,1065 g gaben 0,2582 CO_2 und 0,0629 H_2O .

II. 0,1135 g „ 8,7 ccm Stickgas bei $21,5^{\circ}$ und 720,5 mm Druck.

	Berechnet für $C_{28}H_{85}O_6N_3$	Gefunden	
		I.	II.
C	65,96	66,12	—
H	6,92	6,61	—
N	8,29	—	8,24

Aethylester des Phytorhodins a, $C_{30}H_{37}O_5N_3$.

Der Ester ist alkaliunlöslich, enthält also keine saure Gruppe mehr. Zugleich aber ist er schwächer basisch als die zugehörige Säure; er geht nämlich aus ätherischer Lösung nur spurenweise in 6,5-procentige Salzsäure und erst in 9,5-procentige grösstentheils. Beim kurzen Kochen mit methylalkoholischer Kalilauge und bei eintägigem Stehen mit verdünnter oder mit starker Salzsäure wird er in der Hauptsache zum Phytorhodin a verseift, während die länger dauernde Einwirkung von concentrirter Säure eine weitere Umwandlung herbeiführt.

Die saure Lösung des Esters ist violettstichig grün mit sehr schwacher rother Fluorescenz, die ätherische Lösung fluorescirt stärker und ist prächtig carminroth.

In Aether und in Benzol löst sich der Phytorhodinester recht leicht, in den Alkoholen schon in der Kälte leicht, spielend in Chloroform und Aceton, ein wenig in heissem Ligroin. Die Aetherlösung hinterlässt ihn bei vorsichtigem Eindunsten (beim Abdampfen in der Wärme erleidet dieser Ester wie auch der von Phytorhodin b leicht theilweise Zersetzung) in schief abgeschnittenen, mikroskopischen Prismen krystallisirt (Fig. V). Ohne einen scharfen Schmelzpunkt zu zeigen, verflüssigen sich diese schon unter 100° und zersetzen sich bei höherem Erhitzen, hauptsächlich verkohlend; die Dämpfe röthen einen mit Salzsäure getränkten Fichtenspahn nur schwach.

Nach der Analyse, aus der das Verhältniss 1 N:1,72 O:9,97 C:12,12 H hervorgeht, ist anzunehmen, dass das Phytorhodin beim Esterificiren gleichzeitig ein Mol. Wasser verliert.

I. 0,1376 g gaben 0,3481 CO_2 und 0,0866 H_2O .

II. 0,1310 g „ 9,8 ccm Stickgas bei $20,5^{\circ}$ und 721 mm Druck.

	Berechnet für	Gefunden	
	$C_{30}H_{37}O_5N_3$	I.	II.
C	69,31	68,99	—
H	7,18	7,04	—
N	8,11	—	8,09

Phytorhodin b, $C_{28}H_{33}O_4N_8$.

Das zweite Phytorhodin unterscheidet sich vom ersten durch den weit blaustichigeren Ton seiner Lösungen; in Aether zeigt es wunderschöne purpurrothe Farbe und Fluorescenz, die sauren Lösungen sind violettstichig blau und zeichnen sich auch durch rothe Fluorescenz aus. Es ist eine schwächere Base

Fig. V.

als Phytorhodin a, indem es von sechsprocentiger Salzsäure nur in Spuren, erst von neunprocentiger grösstentheils seiner ätherischen Lösung entzogen wird.

Das Phytorhodin lässt sich aus Aether, Benzol oder Holzgeist gut umkrystallisirt erhalten und bildet scharf ausgebildete, rhombenförmige, in der Durchsicht braunrothe Täfelchen mit häufigen Zwillingsbildungen. Beim Erhitzen schmelzen sie nicht, sondern erleiden langsam Zersetzung.

Charakteristisch ist das Verhalten der Verbindung gegen Natronlauge. Schüttelt man die ätherische Lösung mit

0,01-procentiger Lauge durch, so wird fast die ganze Menge in braunen Flocken gefällt, in denen ein saures Alkalisalz vorliegt. Mit einer stärkeren, 0,1- bis gegen 1-procentigen Natronlauge entsteht nämlich ein mit schön braunrother Farbe lösliches Salz. Dieses zweite Salz ist in concentrirterer Natronlauge unlöslich, so dass es beim Versetzen der ätherischen Lösung mit etwa achtprocentiger Lauge fast vollständig ausgeschieden wird.

Das Phytorhodin b ist in Aether und Aceton ziemlich leicht, in Alkohol, Holzgeist und Benzol in der Kälte ziemlich schwer, in der Wärme leicht, in Chloroform sehr leicht löslich, in Ligroin fast unlöslich. Beim Abdampfen seiner Aetherlösung hinterbleibt gewöhnlich ein kleiner Antheil veränderten, in Aether sehr schwer löslich gewordenen Productes; die Phytorhodinester zeigen dieselbe Erscheinung.

Die Eisessiglösung ist violettstichig roth und fluorescirt.

I. 0,1270 g gaben 0,3282 CO_2 und 0,0824 H_2O .

II. 0,1521 g „ 12,4 ccm Stickgas bei $20,5^\circ$ und 717 mm Druck.

	Berechnet für $\text{C}_{82}\text{H}_{89}\text{O}_4\text{N}_3$	Gefunden	
		I.	II.
C	70,68	70,48	—
H	6,99	7,26	—
N	8,86	—	8,77

Hiernach ist das Verhältniss der Atome 1 N : 1,35 O : 9,40 C : 11,53 H.

Acetyllester des Phytorhodins b, $\text{C}_{80}\text{H}_{87}\text{O}_4\text{N}_3$.

Die indifferenten und die sauren Lösungen des Esters unterscheiden sich in Farbe und Fluorescenz nicht von denen des Phytorhodins; der basische Charakter ist etwas abgeschwächt, so dass neunprocentige Salzsäure nur sehr wenig, erst elfprocentige den grössten Theil der Substanz aufnimmt. In wässrigen Alkalien löst sich der Ester nicht.

Ausgezeichnet ist dieser Phytorhodinester durch seine

grosse Krystallisationsfähigkeit; aus erkaltender benzolischer oder beim Verdunsten der ätherischen Lösung (Fig. VI) krystallisirt er in gut ausgebildeten schiefwinkligen Tafelchen. Sie schmelzen unscharf bei ungefähr $76-80^{\circ}$ nicht ohne Zer-

Fig. VI.

setzung; die Dämpfe der verkohlenden Substanz röthen den mit Salzsäure getränkten Fichtenspahn nicht stark, aber deutlich.

In Aether löst sich der Ester leicht, in den Alkoholen und Benzol kalt ziemlich leicht, warm leicht, in Aceton, Chloroform und Eisessig sehr leicht. Die Analyse der nicht umkrystallisirten, zur Constanz getrockneten Substanz führt zu dem Verhältniss: 1 N : 1,35 O : 9,91 C : 12,22 H.

I. 0,1232 g gaben 0,3220 CO_2 und 0,0813 H_2O .

II. 0,1252 g „ 9,7 ccm Stickgas bei 20° und 722 mm Druck.

	Berechnet $C_{30}H_{37}O_4N_3$	Gefunden	
		I.	II.
C	71,52	71,28	—
H	7,41	7,38	—
N	8,37	—	8,41

Zum Phytorhodin b lässt sich der Aethylester glatt verseifen durch zwölfstündiges Digeriren mit 13-procentiger Salzsäure; hingegen wird bei längerem Stehen mit concentrirter Salzsäure ein zwar ähnlicher, aber stärker basischer Körper gebildet, beim Kochen mit alkoholischer Lauge ein dem Phytorhodin a ähnliches, nur schwächer basisches Product.

Phytorhodin c.

Unter den ätherlöslichen Nebenproducten von Phytorhodin b überwog eine ihm im wesentlichen recht ähnliche, aber beträchtlich stärker basische Verbindung. Sie wird aus ihrer ätherischen Lösung, die gefärbt ist und fluorescirt wie die von b, zum kleinen Theile von zwei-, grösstentheils von dreiprocentiger Salzsäure extrahirt; die saure Lösung ist violettstichig und zugleich etwas grünlich blau gefärbt und zeigt schwache rothe Fluorescenz.

Dieses Phytorhodin c musste durch Fractionirung sehr sorgfältig von einer noch stärkeren, auch krystallisirt erhaltenen Base befreit werden, die durch besonders schöne Farberscheinungen charakterisirt ist. Sie geht aus ihrer purpurrothen ätherischen Lösung schon in einprocentige Salzsäure und bildet eine pleochromatische Lösung, die grün, violett und roth schillert und an ätherische Orthochinonlösungen erinnert.

Von einprocentiger Natronlauge wird das Phytorhodin c mit röthlichbrauner Farbe klar gelöst, von 0,01-procentiger in Form eines primären Alkalisalzes gefällt.

In der Kälte ist es in Aether ziemlich leicht, in Alkohol schwer, in Benzol sehr schwer, in Chloroform leicht löslich, in allen reichlicher in der Wärme, in Aceton sehr leicht lös-

lich. Aus ätherischer Lösung krystallisirt es in öfters zu Büscheln vereinigten feinen Nadeln, beim Eindunsten erhält man es als violettschimmernd blauschwarze krystallinische Masse.

Die Analyse, die das Verhältniss 1 N : 1,53 O : 9,20 C : 10,60 H ergibt, sei, um die Beziehung zum Phytorhodin b auszudrücken, mit der Formel $C_{28}H_{34}O_{4,5}N_3$ (d. i. $C_{56}H_{68}O_9N_6$) interpretirt.

I. 0,1423 g gaben 0,3608 CO_2 und 0,0851 H_2O .

II. 0,1287 g „ 10,5 ccm Stickgas bei 21° und 720 mm Druck.

	Berechnet für $[C_{28}H_{34}O_{4,5}N_3]_2$	Gefunden	
		I.	II.
C	69,37	69,15	—
H	7,07	6,69	—
N	8,69	—	8,79

Phytorhodine d und e.

Die Phytorhodine a und b waren bei ihrer Isolirung von schwächer basischen Nebenproducten begleitet, die sich infolge ihrer Unlöslichkeit in Aether leicht abtrennen liessen. Die neben a auftretende und ihm in den wesentlichen Eigenschaften ähnliche Verbindung sei als Phytorhodin d, die b begleitende und ihm nahestehende als Phytorhodin e bezeichnet.

Unter einander weisen die Phytorhodine d und e viel Gemeinsames auf, nur dass die Farberscheinungen gemäss den Typen a und b divergiren. Aus Chloroform-Aetherlösung werden sie von etwa zwölfprocentiger Salzsäure überwiegend aufgenommen; dabei wird allerdings ein Theil in Form von schwer löslichen Chloriden ausgeschieden, die in reinem Chloroform mit grüner, in dicker Schicht rother Farbe löslich sind. Die salzsaure Lösung von d ist violettschillernd grün, die von e violettschillernd blau, beide roth fluorescirend. Auch aus der sauren Lösung lassen sie sich zum Unterschiede von Phytorhodin f nicht in ätherlöslicher Form gewinnen.

Beide liessen sich gut reinigen durch Aufnehmen in siedendem Chloroform und Verdünnen mit Aether, worauf sie in concentrisch angeordneten Säulchen auskrystallisirten. Gepulvert besitzen sie rothe Farbe mit violettem Schimmer. Das

Phytorrhodin e, dem wohl seiner Gewinnung nach ein wenig von d beigemischt sein konnte, wurde für die Analyse aus Chloroform umkrystallisirt, worin es, ebenso wie in den anderen üblichen Solventien, nicht unbeträchtlich schwerer löslich ist als d.

Das Phytorrhodin d ist in der Kälte in Benzol ganz wenig, in Alkohol sehr schwer, in Chloroform und Aceton schwer löslich, in allen etwas leichter in der Wärme.

0,1389 g gaben 0,3433 CO₂ und 0,0727 H₂O.

	Berechnet für [C ₃₈ H ₃₀ O _{5,5} N ₃] ₂	Gefunden
C	67,70	67,41
H	6,09	5,86

Phytorrhodin e ist in Alkohol und Benzol kalt äusserst schwer, auch beim Kochen sehr schwer löslich, etwas leichter in Chloroform und Aceton. Es steht in seiner Zusammensetzung b sehr nahe und enthält die Atome in folgendem Verhältniss: 1 N: 1,45 O: 9,69 C: 10,78 H.

I. 0,1153 g gaben 0,2991 CO₂ und 0,0681 H₂O.

II. 0,1032 g „ 8,2 ccm Stickgas bei 21,5° und 720 mm Druck.

	Berechnet für C ₂₈ H ₂₁ O ₄ N ₃	Gefunden	
		I.	II.
C	70,99	70,75	—
H	6,60	6,61	—
N	8,90	—	8,54

Phytorrhodin f.

Bei der Gewinnung der Phytochlorine a und b blieb nach der Beseitigung dieser am stärksten basischen Verbindungen in der Aetherlösung ein Gemisch zurück, dem sich eine dritte Hauptfraction mit Hülfe von elfprocentiger Salzsäure entziehen liess. In ihr überwiegt bei weitem eine Substanz, die in Betracht der tief nelkenrothen Farbe ihrer ätherischen Lösung und der leuchtend grünen Farbe, die sie in Salzsäure zeigt, nicht zu den Phytochlorinen zu stellen ist, sondern eher den beschriebenen rothen Abbauprodukten des Chlorophylls als

Phytorhodin f beigezählt sei. Da diese Verbindung in Aether ausserordentlich schwer löslich ist, krystallisirt sie leicht aus ihrer Lösung nach der Fractionirung mit Salzsäure aus.

Reiner indessen erhält man das Phytorhodin f auf andere Weise. Es zeigte sich nämlich, dass ausser dem rothen Körper in geringer Menge noch eine Reihe von ähnlich basischen anders gefärbten Producten von der Säure aufgenommen waren, die sich durch Fractionirung mit verdünnter Salzsäure nur unter zu grossem Verluste abtrennen liessen. Unterschiede in der Acidität erlaubten nun aber eine Trennung, indem sehr verdünnte Natronlauge, in kleinen Portionen zugesetzt, zuerst das Phytorhodin f aus der ätherischen Lösung extrahirte und danach Fractionen von oliv, dann braun und dann wieder oliv gefärbten Substanzen.

Nach dieser Reinigung krystallisirte aus der eingeengten ätherischen Lösung das Phytorhodin in schönen schwarzen, zu Rosetten vereinigten Prismen aus. In dünner Schicht waren die Krystalle braun, im auffallenden Lichte zeigten sie käfergrünen Metallglanz. Für die Analyse trockneten wir sie im Toluolbade, wobei sie eine Gewichtsabnahme, aber keine merkliche Veränderung ihrer Eigenschaften erlitten. Die Analyse, das Verhältniss 1 N : 1,77 O : 8,74 C : 9,43 H erweisend, stimmt für die Formel $C_{26}H_{29}O_6N_3$, ohne übrigens eine zu den Formeln der anderen Verbindungen besser passende Annahme, etwa $C_{28}H_{29}O_6N_3$, gänzlich auszuschliessen.

I. 0,1320 g gaben 0,3237 CO_2 und 0,0715 H_2O .

II. 0,1142 g „ 9,4 ccm Stickgas bei 17,5° und 715 mm Druck.

	Berechnet für		Gefunden	
	$C_{26}H_{29}O_6N_3$	$C_{28}H_{29}O_6N_3$	I.	II.
C	67,34	66,76	66,91	—
H	6,31	5,81	6,06	—
N	9,09	8,37	—	8,96

Andere Werthe, stimmend für ein Hydrat mit $1\frac{1}{2}$ Mol. Wasser, ergab die Analyse einer nur im Vacuum über Schwefelsäure getrockneten Krystallisation, die aus Chloroformlösung auf Zusatz von Aether ausgefallen war.

I. 0,1604 g gaben 0,3750 CO_2 und 0,0920 H_2O .

II. 0,1639 g „ 12,6 ccm Stickgas bei $15,5^\circ$ und 727,5 mm Druck.

	Berechnet für $\text{C}_{26}\text{H}_{26}\text{O}_6\text{N}_2 + 1\frac{1}{3}\text{H}_2\text{O}$	Gefunden	
		I.	II.
C	63,63	63,76	—
H	6,58	6,42	—
N	8,59	—	8,59

Das Phytorhodin f ist in Alkohol ziemlich leicht löslich und krystallisirt aus der warmen Lösung in oblongen Täfelchen (Fig. VII). In Chloroform löst es sich leicht, in Benzol recht schwer, in Petroläther gar nicht. Die Lösung in Eisessig ist

Fig. VII.

violettstichig roth und zeigt rothe Fluorescenz. Die alkalische Lösung ist gelblichgrün, in dicker Schicht rothbraun, ihr fehlt die Fluorescenz, ebenso wie der salzsauren Lösung.

Ungeachtet ihrer Schwerlöslichkeit in Aether lässt sich die Substanz anders wie die beiden zuletzt beschriebenen

Phytorhodine leicht in Aether bringen, indem man ihre saure Lösung mit Aether überschichtet und verdünnt.

Das Phytorhodin f zeigt grosse Beständigkeit. So bleibt es bei kurzem Kochen mit starker methylalkoholischer Kalilauge unverändert, desgleichen bei langem Digeriren mit concentrirter Salzsäure; auch alkoholische Chlorwasserstoffsäure wirkt recht träge ein.

Complexe Verbindungen mit Metallsalzen.

Die Arbeiten von E. Schunck¹²⁾, sowie von E. Schunck und L. Marchlewski¹³⁾, von A. Tschirch¹⁴⁾ u. A. enthalten eingehende interessante Angaben über die merkwürdige Eigenschaft von Derivaten des Chlorophylls, namentlich des Phyllocyanus, sich mit Schwermetallsalzen zu complexen Verbindungen zu vereinigen.

Diese Doppelsalze sind durch sehr intensive Färbung und ungleiche, zum Theil ausserordentliche Beständigkeit ausgezeichnet.

Dieselbe Eigenthümlichkeit haben wir bei allen in dieser Arbeit beschriebenen Verbindungen beobachtet. Zu dem bereits Bekannten haben wir aber neu hinzuzufügen, dass diese Chlorophyllderivate zwei Reihen solcher complexer Verbindungen bilden. Nach den älteren Angaben gewinnt man die Doppelsalze bei der Einwirkung von Metallsalzen und überschüssiger organischer Säure, z. B. von Kupferacetat und Eisessig. Die Phytochlorine und Phytorhodine liefern nun mit Metallacetaten Verbindungen, die in Aether und einigen anderen organischen Lösungsmitteln gänzlich unlöslich sind, sie werden aber durch Ueberschuss von Säure, z. B. Salzsäure oder Essigsäure, in neue ätherlösliche Doppelsalze übergeführt. Nur die Ester geben

¹²⁾ Proc. Roy. Soc. **39**, 357 (1885); **55**, 352 (1894); Annals of Botany III, 92 (1889).

¹³⁾ Diese Annalen **278**, 329 (1894).

¹⁴⁾ Das Kupfer vom Standpunkte der gerichtlichen Chemie, Toxikologie und Hygiene, 1893, Seite 25.

ohne Weiteres mit den Metallsalzen Additionsproducte der löslichen Reihe. Kupfer- und Zinksalze von Phytochlorinen und Phytorhodinen krystallisirten gut aus der ätherischen Lösung.

Unter einander zeigen die aus den unlöslichen Doppelverbindungen mit verdünnter Essigsäure und die durch Salzsäure gebildeten mit den aus Eisessiglösung entstehenden complexen Producten grosse Aehnlichkeit, ohne aber identisch zu sein. Ueberhaupt ist die Differenzirung in der ganzen Reihe complexer Salze eine geringe.

Die Farben der Kupfer- und Zinkacetatdoppelsalze unserer Verbindungen in ätherischer Lösung sind aus der nachstehenden Tabelle ersichtlich.

Alle sind sehr intensiv gefärbt, im Allgemeinen vielfach so intensiv wie die Chlorophyllderivate selbst, deren minimalste Spuren mit diesen Reactionen deutlich sichtbar gemacht werden können. Die ätherischen Lösungen der Zinkverbindungen fluoresciren sämmtlich sehr stark, die der Kupferverbindungen gar nicht. Die Zink- und Kupferdoppelsalze von Phytochlorinen und -rhodinen saurer Natur sind anscheinend unverändert löslich in sehr verdünnter Natronlauge, einzelne (Phytochlorin a) geben schwer lösliche Natronsalze. Hingegen reagiren die aus den Estern gewonnenen Producte nicht mit Alkalilauge. Ganz verschieden ist aber das Verhalten der Zinkverbindungen einerseits, der Kupferverbindungen andererseits gegen Säure. Die Zinkdoppelsalze werden von 10- bis 20-procentiger Salzsäure unter Zersetzung gelöst, indem die ursprünglichen Stoffe ganz oder grösstentheils unzersetzt regenerirt werden. Dagegen erfordern die Kupferverbindungen, von denen manche überhaupt eine fast beispiellose Beständigkeit¹⁵⁾ besitzen, zur Auflösung concentrirtere Salzsäure und werden durch diese nicht zersetzt.

¹⁵⁾ An dieser Widerstandsfähigkeit der Kupferverbindungen sahen wir zahlreiche Versuche scheitern, aus kupferhaltigen technischen Präparaten von Blattgrün Spaltungsproducte zu gewinnen, die dem Chlorophyll noch nahe stehen. Es war unmöglich, das Metall ohne allzu energische Eingriffe vollständig herauszuholen.

Die Salze der Phytochlorine gehen aus Aether sehr leicht, die der Phytorhodine a, b und c und ihrer Ester nur wenig in die concentrirte Säure.

Zur Darstellung der Doppelsalze versetzten wir die alkoholische Lösung der Chlorophyllderivate mit alkoholischer Lösung von Kupfer- oder Zinkacetat. Dabei entstand im Allgemeinen (nicht bei den Phytorhodinestern) eine Fällung, von der nur bei den Zinkverbindungen ein wenig in Folge von Zersetzung überschüssigen Acetates in Aether gebracht werden konnte. Durch Zufügen von verdünnter Essigsäure oder Salzsäure bewirkten wir die Umwandlung in die Doppelsalze der ätherlöslichen Reihe.

Farbe der complexen Salze in Aether.

	Kupferacetat	Zinkacetat
Phytochlorin a	bläulichgrün	blau
Phytochlorin b	bläulichgrün	blau
Phytochlorin c	grünblau	blau
Phytochlorin d	grünlichblau	blau
Phytorhodin a	purpurroth	violettstichig blau
Ester von Phytorhodin a	purpurroth	violettroth
Phytorhodin b	rothstichig violett	violettblau
Ester von Phytorhodin b	violett	violett
Phytorhodin c	purpurroth	violett
Phytorhodin f	blaugrün	blaustichig grün