

# Über Chlorophyll und Xanthophyll.

Von

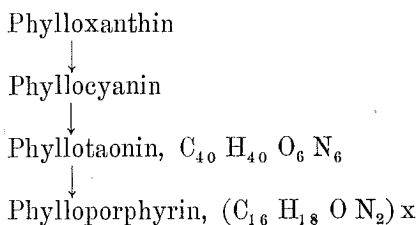
R. WILLSTÄTTER.

---

Die ältesten Versuche über Blattgrün von Pelletier und Caventou und von Berzelius haben auf die Isolierung von Chlorophyll hingeeilt, ähnlich, wie sonst pflanzliche Farbstoffe oder auch Alkaloide gewonnen werden. Die Versuche sind fehlgeschlagen, und ihr Ziel ist bis heute nicht erreicht worden. Es liegen da besondere Schwierigkeiten vor: Chlorophyll ist indifferent, es gibt keine Verbindungen; so haben wir kein chemisches Mittel, es aus dem Gemisch mit gelben Verbindungen, mit Phytosterinen, Wachsen u. a. herauszuholen, die sich in unseren Extrakten finden, und namentlich ist das Chlorophyll auch sehr zersetzlich. Sobald man Verbindungen von Chlorophyll herstellt, z. B. Salze, so hat man kein Chlorophyll mehr in Händen; so hat der Physiker Hartley bis in die jüngste Zeit eine Baryumverbindung benützt, um für die Spektralanalyse Reinchlorophyll darzustellen, sein Produkt ist aber verseiftes Chlorophyll. Deshalb muss man sich darauf beschränken, grüne Blätterextrakte durch Verteilung der gelösten Stoffe zwischen verschiedenen Lösungsmitteln zu fraktionieren; nach der Methode von G. Kraus bringt man beim Schütteln des alkoholischen Extraktes mit Benzol oder Benzin in dieses das Chlorophyll, während die gelben Begleiter im Alkohol bleiben. Ähnlich verwendet man nach Sorby Schwefelkohlenstoff. Auf diese Weise kann man Lösungen bereiten, in denen Chlorophyll noch nicht verdorben sein mag, aber auch keineswegs rein sein kann. Wenn man nun auch den reinen Stoff als Ausgangsmaterial nicht kennt, ist doch der Abbau des Chlorophylls in Angriff genommen worden in langjährigen, mühevollen Untersuchungen von Hoppe-Seyler, Tschirch und namentlich von Schunck und Marchlewski, etwa in der Zeit von 1879 bis gegen 1900. Und der Abbau hat mit einer Reihe von Ver-

bindungen, unter denen sich schöne, krystallisierende Substanzen finden, zu einem sehr merkwürdigen Resultat geführt: zur Kenntnis von Beziehungen zwischen Blatt- und Blutfarbstoff.

Chlorophyll wird durch alkoholische Chlorwasserstoffsäure in Phylloxanthin umgewandelt, dessen Zusammensetzung nicht angegeben worden ist, und weiterhin durch konzentrierte Salzsäure in Phyllocyanin; durch Alkalien wird dieses in das krystallisierte Phyllotaonin übergeführt. Daraus entstand beim Erhitzen mit alkoholischem Kali auf  $190^{\circ}$  Phylloporphyrin.



Dieses Endprodukt steht nun einem eisenfreien Abbauprodukt des Blutfarbstoffs sehr nahe, dem Hæmatoporphyrin ( $C_{16} H_{18} O_3 N_2$ )<sub>x</sub> von Hoppe-Seyler und von Nencki und Sieber. Namentlich in den Absorptionsspektren stimmen diese Porphyrine beinahe überein. Schliesslich hat im Jahre 1901 Nencki mit Zaleski und Marchlewski gemeinsam Hæmin und Phyllocyanin sogar wahrscheinlich zu identischen Produkten abbauen können, dem Hæmopyrrol, einer Pyrrolbase, der (mit der Voraussetzung, dass eine einheitliche Substanz vorliegt) die Formel  $C_8 H_{13} N$  zugeschrieben worden ist. Nach den letzten Untersuchungen von Küster liegt übrigens ein Gemisch mindestens von zwei Verbindungen im Hæmopyrrol vor, von denen die eine nur basischen, die andere auch saueren Charakter zeigt. In allen, auch in den letzten Phasen dieses Abbaus liegen noch grosse Unsicherheiten; immerhin steht das wichtige Ergebnis fest: aus Hæmatin und Chlorophyll kann man ähnliche Spaltungsprodukte erhalten.

Über die Natur des ganzen Chlorophyllmoleküles gewinnen wir aus den angeführten Umwandlungen noch kein Bild. Aber angedeutet finden wir eine Vorstellung bei Hoppe-Seyler. Sein Chlorophyllan, ein durch Säurewirkung modifiziertes Chlorophyll, enthielt 1.38 Proc. Phosphor. Anscheinend handelte es sich nicht um eine Verunreinigung, sondern es erschien wahrscheinlich, dass das Chlorophyll eine Verbindung des Lecithins oder selbst eine lecithinartige Verbindung sei. Diese Hypothese hat in den neunziger Jahren Stoklasa aufgegriffen und nachdrücklich vertreten. Er hat durch Entmischen von alkoholischen Grasextrakten mit Benzol ein Chlorophyllpräparat (Chlorolecithin) hergestellt, das fast so viel Phosphor enthielt als

Lecithin. Diese Angaben sind aber irrtümlich. Wenn man nach der Methode von Kraus, am besten durch Verteilung zwischen Holzgeist und Benzin, Chlorophyll reinigt, so findet man gar keinen Phosphor darin beim Verarbeiten getrockneter Blätter und nur Spuren bei Extrakten aus frischem Material. Und mit einer neuen Methode Chlorophylllösungen zu reinigen, findet man das Resultat bestätigt. Vermischt man alkoholische Chlorophylllösungen mit Wasser, so erhält man kolloidale Lösungen, die an Äther ohne weiteres nichts Grünes abgeben; man kann aber das Chlorophyll aussalzen und es so frei von Phosphor erhalten. Der Satz Stoklasas „ohne Phosphor kein Chlorophyll“ ist hinfällig.

So fehlt es also an einer Vorstellung von der chemischen Natur des Chlorophylls. Man sieht leicht (obwohl auch das eine vielumstrittene Frage ist), dass es weder basische noch saure Eigenschaften besitzt. Aber es wird Base und Säure bei der Hydrolyse, sei es durch Alkali oder Säure. Da handelt es sich um zwei Spaltungsreaktionen, die schon äusserlich ganz verschieden sind; Alkalien machen Chlorophyll alkalilöslich und dabei bleibt die Farbe erhalten, chlorophyllgrün; Säuren bewirken ein Umschlagen der Farbe in Olivgrün.

Was die Alkalien vom Chlorophyll wegnehmen, das können wir auffinden in den durch Säurewirkung entstehenden Umwandlungsprodukten; und was andererseits schon bei der gelindesten Einwirkung von Säure am Chlorophyll zerstört wird, das zeigt sich intakt an den in alkalischen Medien gebildeten Chlorophyllderivaten. Das ist die Methode, mit der wir an die Untersuchung des Chlorophylls herantreten, ohne das Chlorophyll selbst zu kennen.

Die Säurespaltung des Chlorophylls, wofür gewöhnlich konzentrierte wässrige oder alkoholische Salzsäure gedient hat, bewirken wir durch Versetzen der alkoholischen Extrakte mit Oxalsäure. So bekommt man leicht ein aschefreies Produkt von konstanten Eigenschaften; es ist in Alkohol fast unlöslich und kann daher gut gereinigt werden. Es erinnert an das mit Salzsäure dargestellten Phylloxanthin, aber identisch ist es nicht damit; es soll als Phæophytin bezeichnet werden (im Hinblick auf die olivenbraune Farbe seiner Lösungen). Für ein bestimmtes Pflanzenmaterial finden wir die Zusammensetzung des Phæophytins recht konstant, aber etwas differierend bei Präparaten aus verschiedenen Pflanzenklassen. Brennesseln, Platanen, Gras und Grünalgen haben als Ausgangsmaterial gedient. Ein Kilogramm trockener Blätter liefert zirka 3,5 g Phæophytin; man kann Chlorophyll mit diesem Präparat annähernd quantitativ bestimmen.

Das Phæophytin ist ein Wachs und somit zählt auch das Chlorophyll zu den Estern. Durch Lauge wird das Wachs leicht verseift und man bekommt den spezifischen Alkohol des Chlorophylls, der noch nicht bekannt ist. Er soll Phytol genannt werden.

Phæophytin aus Gras	gab	32.1	Prozent	Phytol
Platanen		30.2	"	"
Grünalgen		29.6	"	"
Brennnesseln		29.3	"	"

wir gewannen z. B. 300 g aus etwa 1100 g Phæophytin, d. i. ca. 100 g aus 100 kg trockener Blätter.

Auf den ersten Blick könnte man zweifeln, ob das Phytol wirklich zum Chlorophyll gehört und ob es nicht von beigemengtem pflanzlichem Wachs herrührt. Ähnliche Alkohole und zwar krystallisierende, die leichter isolierbar sind, hat Étard als Begleiter von Chlorophyll in vielen Pflanzen angetroffen. Der Zweifel ist aber leicht zu heben. Ein Präparat von rohem Phæophytin gab 27.70 Proc. Phytol. Dann haben wir es nochmal tagelang der Einwirkung von Oxalsäure unterworfen und wieder gab es nach der Isolierung 27.99 Proc. Phytol. Eine Portion dieses Phæophytins wurde aus Chloroform mit Alkohol und aus Alkohol allein wiederholt umgefällt und dann verseift. Wir erhielten abermals 27.76 Proc. Phytol. Das ist also sicher der Alkohol des Chlorophylls.

Phytol ist ein Öl vom spezifischen Gewicht ( $D_4^{20}$ ) = 0.864, nicht krystallisierbar, unter üblichen verminderten Drucken nur mit starker Zersetzung destillierbar, dagegen unzersetzt siedend bei 145° im Vakuum des Kathodenlichtes. Die Zusammensetzung entspricht genau der Formel  $C_{20}H_{40}O$ ; es ist ein einwertiger Alkohol und zwar ein primärer zufolge der Esterifizierungsgeschwindigkeit, die übrigens merkwürdige Abweichungen von den Regeln Menschutkins zeigt, bedingt durch besonders leicht eintretende Abspaltung von Wasser. Charakteristisch für das Phytol ist sein ätherlösliches Natriumsalz; im übrigen ist der Alkohol sehr schwierig durch Verbindungen zu charakterisieren, da seine Derivate sehr wenig Neigung zum Krystallisieren zeigen. Sein Aldehyd und dessen Oxim, seine Säure, andere Oxydationsprodukte und Abkömmlinge sind Öle; aber mit Phenylcyanat und Naphthylcyanat wurden krystallisierende Urethane erhalten. Phytol addiert ein Molekül Brom und Jodwasserstoff; es zeigt sich, dass es ein Alkohol der Olefinreihe ist.

Viel komplizierter sind die anderen, die N-haltigen Spaltungsprodukte des Phæophytins. Da entsteht nicht ein einzelnes Produkt, sondern fast unentwirrbare Scharen von schwach basischen und

zugleich saueren Verbindungen. Wir ordnen sie in zwei Reihen. Die Einen, olivgrün bis grün in indifferenten Lösungen nennen wir Phytochlorine, die Anderen, rot in Äther, Phytorhodine; beide Reihen sind in saueren Medien blau bis blaugrün oder grün. Es wäre aussichtslos gewesen, eine Untersuchung dieser Gemische zu wagen, wenn nicht die ausserordentliche Differenzierung in der basischen Natur dieser Chlorophyllderivate — dafür gibt es wohl keine Analogie — zu einer Methode der Untersuchung und Fraktionierung mit Hilfe von Salzsäure verschiedener Konzentration geführt hätte. Hierüber ist in den *Annalen der Chemie* (Band 350) schon veröffentlicht worden.

So haben wir neben Phytol aus dem Phäoophytin der Brennesseln, von Gras, von Grünalgen Phytochlorine und Phytorhodine vollkommen rein dargestellt. In der Zusammensetzung zwar ähnlich, sind doch die Spaltungsprodukte aus verschiedenen Pflanzen durchaus nicht identisch. Und bei einem und demselben Ausgangsmaterial findet man viel Variationen je nach den angewandten Methoden. So lässt es sich beweisen, dass es nicht einen einzigen bestimmten Stoff Chlorophyll gibt. Das Chlorophyll der verschiedenen Pflanzenklassen, der Dikotyledonen, Monokotyledonen, Gymnospermen und auch von Kryptogamen finden wir in genau definierten Hauptmerkmalen übereinstimmend. Aber in dem riesigen C H O N-Komplex sind nun zahlreiche Variationen nachgewiesen. Wenn wir uns erinnern, dass die wichtigsten Alkaloide, wie Chinin, Atropin, Cocaïn, Nikotin von ganzen Familien der Nebenalkaloide verwandter Konstitution begleitet werden, so wird uns der Nachweis der Variation bei dem ungleich grösseren Molekül des Chlorophylls nicht überraschen.

Phäoophytin ist dem Gewicht nach der Hauptbestandteil des Chlorophylls, aber seiner Natur nach entfernt es sich sehr weit von der Muttersubstanz. Die Phytochlorine vermögen Metallsalze komplex aufzunehmen und mit dieser Reaktion werden sie mit einem Male viel ähnlicher dem Chlorophyll, namentlich in der Farbe. Dafür findet sich die Erklärung, wenn man die Reaktion des Chlorophylls mit Alkalien betrachtet, die zu einer ganz andersartigen Reihe von Spaltungsprodukten führt. Da wird Phytol abgetrennt und es entstehen Verbindungen mit saurerer Funktion. Sie sind chlorophyllgrün und sollen Chlorophylline heissen.

Ähnliche Verbindungen kommen in der Literatur schon öfters vor und zwar gewöhnlich als Alkachlorophyll bezeichnet; aber gegenüber den älteren Angaben bestehen in analytischer Hinsicht wesentliche Abweichungen. Namentlich ist das Alkachlorophyll früherer Autoren (Schunck und Marchlewski) als aschefrei beschrieben. Die Chlorophylline enthalten hingegen als einen wesentlichen mineralischen

Bestandteil Magnesium und zwar geben sie eine Asche von etwa 3.5 Prozent Magnesia. Und es hat sich gezeigt, dass das Magnesium dem Chlorophyll von Land- und Seepflanzen der verschiedenen Klassen gemeinsam ist.

Die Chlorophylline krystallisieren leider nicht, und sie bestehen möglicherweise so wie die Derivate der Phäoophytinspaltung aus Gemischen ähnlicher Verbindungen. Immerhin gelingt es, diese komplexen Substanzen zu reinigen und dadurch sicher zu stellen, dass nicht etwa Magnesiumverbindungen anderer Art, vielleicht fettsauere Salze oder Alkoholate beigemischt sind. Man kann nach der Verseifung des Chlorophylls aus der rohen ätherischen Chlorophyllinlösung mit Dinatriumphosphat als Alkali die Chlorophylline extrahieren und sie durch vorsichtigen Zusatz von Mononatriumphosphat wieder entbinden. Fettsäuren, Alkohole und dergleichen sind nun nicht mehr beigemischt; es ist eine vortreffliche Reinigung. Aber auch hiernach erschien das Auftreten von Magnesium noch nicht genügend einwurfsfrei festgestellt, bis es endlich gelang, durch den weiteren Abbau von Chlorophyllin ganz einheitliche, gut krystallisierende komplexe Magnesiumverbindungen zu isolieren. Sie entstehen beim Erhitzen der grünen Substanz mit einem grossen Überschuss von konzentriertem alkoholischem Kali auf 100, 140 und 200°. Zuerst bilden sich prachtvoll blaugefärbte und ungeheuer fluoreszierende Verbindungen (Glaukophyllin). Dann bei gegen 200° intensiv rot gefärbte, noch ziemlich stark fluoreszierende, sehr schön krystallisierende Abbauprodukte, Rhodophylline. Mit der Untersuchung dieser Rhodophylline haben wir uns beschäftigt und zunächst eines davon ( $\alpha$ ) rein und einheitlich dargestellt. Als eine starke Säure lässt es sich mit sehr verdünntem Ammoniak von einem beigemischtem schwach saueren Rhodophyllin ( $\beta$ ) abtrennen und dann durch mehrmaliges Umkrystallisieren aus Äther vollends reinigen. Hierbei erfährt die Verbindung infolge von Wasserabspaltung wesentliche Änderungen; sie enthält dann 6 Prozent Magnesia und 8.9 Prozent Stickstoff. Charakteristisch für das Rhodophyllin  $\alpha$  ist sein prachtvolles schwer lösliches Kaliumsalz. So widerstandsfähig das Metall gegen den Angriff von Alkalien ist, so leicht wird es von Säuren herausgeholt z. B. schon von Eisessig in der Kälte. Die Entstehungsweise des Rhodophyllins stellt es nun sicher, dass das Magnesium wirklich zum Chlorophyllmolekül gehört und dass es darin komplex gebunden ist.

Die Spaltungsreaktionen des Chlorophylls verlaufen also nach zwei Richtungen: in alkalischen Medien wird der Ester verseift, in saueren das Metall eliminiert, dagegen der Ester verschont.

Kehren wir nun zu dem Abbau zurück, der von Chlorophyll zu anscheinend demselben Hämopyrrol geführt hat, das sich aus Häm in erhalten lässt. Auf dieser Tatsache fussen geistvolle Hypothesen von Nencki über die Ähnlichkeit des Blatt- und Blutfarbstoffs, die auch hindeute auf einen genetischen Zusammenhang zwischen pflanzlichem und tierischem Leben. Man hätte schon früher einwenden können, dass das Hämopyrrol doch eigentlich nur einen kleinen Bruchteil des ganzen Moleküls von Chlorophyll oder Hämoglobin bedeutet, zudem mit gewaltsamen Reaktionen herausgeschält. So können wir Eiweiss zum Indol abbauen und Indigo gleichfalls; wir denken aber nicht daran, die beiden Stammkörper in besonders enge Beziehungen zu bringen. Wichtiger als dieser Einwand ist nun aber der Beweis, dass die beiden grossen Katalysatoren verschiedenartige Metallkomplexe gebunden enthalten. Ganz ungleichartig ist die Funktion von Blatt- und Blutfarbstoff; der Funktion scheint die Natur des Metalles zu entsprechen. Das am Transport, an der Uebertragung des Sauerstoffs beteiligte Hämoglobin enthält Eisen, das in der Reduktion der Kohlensäure wirksame Chlorophyll enthält Magnesium. Wir dürfen diese hochmolekularen Komplexe mit einfacheren Analogon vergleichen. Beim gelben Blutlaugensalz finden wir die reduzierende Wirkung des zweiwertigen Eisens, im roten Blutlaugensalz die Oxydationswirkung der Ferriform. Die organischen Magnesiumverbindungen, z. B. die von Grignard, zeigen die Oxydierbarkeit des Metalles und seine Affinität zur Kohlensäure. Die Rolle des Chlorophylls in der Assimilation ist bisher nur nach der physikalischen Seite erörtert worden. Wir entfernen uns aber wohl nicht zu weit von den Tatsachen, wenn wir die Vermutung äussern, dass bei der Aufnahme von Kohlensäure in der grünen Pflanze das reaktionsfähige basische Metall sich betätigt.

Neben der Assimilation der Kohlensäure geht ein zweiter Prozess in der Pflanze einher, der weniger erheblich ist für den Kreislauf des Stoffes: die Sauerstoffatmung, welche die für die Lebenstätigkeit erforderliche Energie liefert. Auch dieser Vorgang ist chemisch noch nicht erklärt. Aber eine beachtenswerte Idee ist geäussert worden, die sich auf die Funktion der gelben Chlorophyllbegleiter in den grünen Blättern bezieht: Arnaud hat die Hypothese aufgestellt, dass diese gelben Stoffe an der Sauerstoffatmung Anteil nehmen.

Mit diesen Chlorophyllbegleitern, die man mit dem Sammelnamen Xanthophylle zusammenfassen kann, haben sich viele Chemiker beschäftigt, namentlich Arnaud und Tschirch. Arnaud hat es sehr wahrscheinlich gemacht, dass in den Blättern dieselbe gelbe Verbindung enthalten ist, wie in der gelben Rübe, das Carotin. Dieses ist schon

im Jahre 1847 von Zeise als Kohlenwasserstoff angesprochen worden. Die Ansichten haben dann geschwankt, manche Autoren fanden darin Sauerstoff, andere nicht. Arnaud hat schliesslich festgestellt, dass das Carotin wirklich ein Kohlenwasserstoff ist und hat auf Grund sehr eingehender Versuche ihm die Formel  $C_{26}H_{38}$  zugeschrieben. Merkwürdigerweise aber sind von Arnaud keine Analysen erbracht worden für das Carotin der grünen Blätter. Viel weiter ist die spektralanalytische Untersuchung geführt worden, namentlich von Monteverde, von Tschirch und von C. A. Schunck und Marchlewski, mit dem Ergebnis, dass wahrscheinlich drei, mindestens aber zwei Carotine in den grünen Blättern vorliegen.

Wir haben die Analyse der gelben Stoffe in Angriff genommen und die Angabe von Arnaud bestätigt gefunden, dass der Kohlenwasserstoff Carotin in den grünen Blättern enthalten ist. Wir haben das Carotin aus *Daucus Carota* mit dem Carotin aus Blättern direkt verglichen und analytisch identifiziert. Aber nicht richtig ist es, nach Arnaud anzunehmen, dass alles Gelbe in den Blättern oder auch nur die Hauptmenge davon wirklich Carotin ist. Eine zweite schön krystallisierende Substanz und zwar eine sauerstoffhaltige fand sich viel reichlicher: sie soll nun speziell als Xanthophyll bezeichnet werden. Wir erhielten z. B. aus einer Portion von 100 kg trockener Brennesselblätter 3.1 g Carotin, aber über 12 g Xanthophyll. Es lässt sich nun sehr leicht verstehen, dass die Analysen des Blättercarotins nicht befriedigend ausgefallen sind. Einmal beobachten wir an Carotin sowie an Xanthophyll die Fähigkeit mit sehr vielen Solventien zu krystallisieren und zwar derart, dass die Krystalllösungsmittel in manchen Fällen gar nicht entfernt werden können, und dann bekommt man eben im allgemeinen Gemische der beiden krystallisierenden gelben Stoffe. Sie sind einander sehr ähnlich im Schmelzpunkt, in der Farbe, in der Blaufärbung mit Schwefelsäure und in vielen anderen Eigenschaften. Nur ist Carotin auch in dünner Schicht mehr rot, Xanthophyll mehr orange-gelb in der Durchsicht; Carotin ist in Alkohol fast unlöslich, in Petroläther löslich, Xanthophyll umgekehrt in Petroläther unlöslich, in Alkohol löslich.

Die Analyse hat ein überraschendes Resultat gegeben. Die Formel von Arnaud (auf 1 C: 1.46 H) ist abzuändern. Carotin enthält C: H = 1: 1.40, also  $(C_{10}H_{14})_x$ , und zufolge der Bestimmung des Molekulargewichtes in Chloroformlösung nach der ebullioskopischen Methode ist die Formel  $C_{40}H_{56}$ . Und Xanthophyll ist nach Analyse, Molekulargewichtsbestimmung und Jodaddition das Oxyd des Carotins:  $C_{40}H_{56}O_2$ .



Die Hypothese von der Rolle des Carotins bei der Atmung gewinnt vielleicht an Wahrscheinlichkeit dadurch, dass das Oxyd den Kohlenwasserstoff begleitet. Arnaud hat die Hypothese dadurch gestützt, dass er zeigte, Carotin oxydiere sich leicht; bei 70° soll es 21 Prozent Sauerstoff aufnehmen. Nach unseren Beobachtungen führt die Sauerstoffaufnahme noch viel weiter. Xanthophyll addiert nämlich schon bei gewöhnlicher Temperatur, indem es ausbleicht, über 36 Prozent seines Gewichtes Sauerstoff, also das im Xanthophyll enthaltene Carotin 44.2 Prozent seines Gewichtes an Sauerstoff.

Die Untersuchung der Konstitution dieser schönen gelben Stoffe, die ja erst im Anbeginn hält, bietet eine lockende Aufgabe; insbesondere bietet es grossen Reiz, zu prüfen, ob nicht vielleicht diese stickstofffreien Begleiter des Chlorophylls mit diesem selbst genetisch verknüpft sind; ob sie nicht vielleicht hervorgegangen sind aus dem Alkohol  $C_{20}H_{40}O$  durch einen einfachen Dehydrogenisationsprozess?

---