

**191. H. Fischer und Paul Rothemund:  
Bestimmung des aktiven Wasserstoffs im Hämin, einigen Derivaten  
und in Pyrrolen (III. Mitteilung.)<sup>1)</sup>.**

[Aus d. Organ.-chem. Institut d. Techn. Hochschule München.]

(Eingegangen am 11. April 1928.)

In einer Untersuchung mit Postowsky<sup>2)</sup> hatten wir eine Reihe von einfachen Pyrrolen, Dipyrromethenen, Hämin und Gallenfarbstoff-Derivaten auf aktiven Wasserstoff nach der Methode von Zerewitinoff untersucht. Die Resultate beim Hämin waren zwar eindeutig, aber wir wollten erst dann definitive Schlüsse ziehen, wenn die untersuchten Körper der Einwirkung des Grignard-Reagens in größerem Maßstab unterworfen waren.

Kurz darnach berichteten R. Kuhn, L. Brann, C. Seyffert und M. Furter<sup>3)</sup> über die Isolierung eines Dihydro-hämins bei der katalytischen Hydrierung des Hämins, das durch 5 aktive Wasserstoffe im Gegensatz zum Hämin, das nach unseren und ihren eigenen Bestimmungen nur 3 hatte, charakterisiert war. Sie fanden dann weiter, daß die quantitative Bestimmung des aktiven Wasserstoffs und der katalytischen Wirksamkeit allein geeignet ist, das neue Hämin zu erkennen. Dihydro-hämin nimmt in 75-proz. Pyridin an der Fähigkeit, Hydroperoxyd katalytisch zu zersetzen, sehr stark zu, und die Reaktion ist außerordentlich geeignet, verschiedene Hämine zu unterscheiden<sup>4)</sup>.

Inzwischen hatten wir für Hämin schwankende Werte, 3—5 aktive Wasserstoffe, gefunden, während Kuhn<sup>5)</sup> regelmäßig Gas 3 aktiven Wasserstoffen entsprechend erhielt, so wie wir es zuerst festgestellt hatten, und zwar werden zwei aktive Wasserstoffe durch die Carboxylgruppen geliefert, während das dritte der Abspaltung von Chlorwasserstoff sein Entstehen verdankt<sup>5)</sup>.

Neuerdings nun ist die Frage nach der allgemeinen Gültigkeit der Zerewitinoff-Bestimmung durch weitere Veröffentlichungen erschüttert worden. Einmal berichtet H. Rheinboldt<sup>6)</sup> über die Einwirkung von Azobenzol auf Methylmagnesiumjodid; Azobenzol bewirkt starke Gasentwicklung, das Gas wurde analysiert, es war Äthan. Weiter finden die amerikanischen Autoren H. Gilman und R. Fothergill<sup>7)</sup> Entwicklung von Methan bei Nitro- und Nitrosoverbindungen. Ferner beobachten E. P. Kohler, J. F. Stone und R. C. Fuson<sup>8)</sup> Gasentwicklung bei Grignard-Reaktionen, die mit Oxydation und Reduktion verbunden sind. So fanden sie positive Werte bei Benzophenon, Benzil, Benzoin und anderen Körpern. Man kann also darnach von einem Stoff, wie Hämin, der starke Oxydationswirkungen ausübt, schon ein abnormes Verhalten erwarten.

Wir haben nunmehr von neuem die Zerewitinoff-Bestimmungen aufgenommen, auf alle möglichen Fehlerquellen geachtet und besonders Rücksicht auf den Blindwert genommen, worauf schon Zerewitinoff in seiner V. Abhandlung<sup>9)</sup> hinweist. Zerewitinoff stellt die Forderung auf, man

<sup>1)</sup> I. Mittlg.: Ztschr. physiol. Chem. **152**; 300 [1926]; II. Mittlg.: B. **60**, 1987 [1927].

<sup>2)</sup> Ztschr. physiol. Chem. **152**, 300 [1926].

<sup>3)</sup> B. **60**, 1151 [1927].

<sup>4)</sup> R. Kuhn, L. Brann, C. Seyffert und M. Furter, B. **60**, 1156 [1927].

<sup>5)</sup> R. Kuhn und M. Furter, B. **61**, 127 [1928].

<sup>6)</sup> Journ. prakt. Chem. [2] **118**, 2 [1928].

<sup>7)</sup> C. **1928**, I 332.

<sup>8)</sup> C. **1928**, I 796.

<sup>9)</sup> B. **47**, 2417 [1914].

solle nur mit Blindwert Null Bestimmungen durchführen. In der Tat läßt sich das Pyridin durch entsprechende Vorbehandlung<sup>10)</sup> nach Zerewitinoff zum Blindwert Null bringen, aber bereits nach 1-maligem Öffnen des Gefäßes, wenn auch sehr schnell gearbeitet wird, geht häufig der Blindwert von Null in die Höhe, und praktisch ist deshalb die Sache so, daß, wenn der Blindwert auch Null ist, auf die nun folgende Bestimmung ein höherer Blindwert einzusetzen wäre, der aber exakt nach dem Vorhergegangenen nicht bestimmbar ist. Im ganzen werden deshalb die Bestimmungen stets zu hoch ausfallen, und dieser Fehler wird sich bei den großen Molekülen, die langsamer reagieren, viel stärker bemerkbar machen als bei den kleinen Molekülen. Die besten Resultate werden zweifellos mit Blindwert Null erhalten, aber, um praktisch arbeiten zu können, wird man wohl häufig einen höheren Blindwert in Kauf nehmen müssen, wie unsere Tabelle (S. 1272 ff.) zeigt; über den Blindwert 4 sind wir nie hinausgegangen. Beim Innehalten dieser Regel haben wir die hohen Zahlen für aktiven Wasserstoff im Hämin, über die wir in der 2. Mitteilung<sup>11)</sup> berichtet haben, nicht erhalten. Wir haben auch einen Teil der damals untersuchten Präparate nochmals untersucht, es sind dies Nr. 11—13, und hierbei abnorm niedrige Werte bekommen. Hiernach scheint es nicht ausgeschlossen zu sein, daß auch das Lagern der Präparate von Einfluß ist<sup>12)</sup>. Weiter sind die Werte nur dann vergleichbar, wenn bei den Analysen innerhalb enger Grenzen gleiche Zeiten eingehalten werden und man sich in Bezug auf die Ablesung der Gasmenge genau an die Vorschrift von Zerewitinoff hält, d. h. das Minimum der Gasbildung als maßgebend für die Berechnung ansieht. Daß hierin eine gewisse Willkür liegt, wird jeder bestätigen, der einmal eine Zerewitinoff-Bestimmung durchgeführt hat. An diesen Schwierigkeiten ändert auch das Arbeiten in Stickstoff-Atmosphäre nichts. Trotzdem sind aber sämtliche Bestimmungen dieser Abhandlung in N-Atmosphäre durchgeführt. Wichtig ist die vollkommene Lösung der Körper; bei Verwendung von Hämin in Substanz ohne Pyridin wird kein Gas erhalten. Wir haben deshalb stets die Grignard-Verbindung erst dann zugegeben, wenn eine vollkommene Lösung erzielt war. Sowie man nunmehr die Grignard-Verbindung in die Lösung hinein kippt, entsteht ein starker Niederschlag, und hierdurch scheint eine weitere Fehlerquelle bedingt zu sein. Wenigstens ist die Gasmenge, die nun entwickelt wird, häufig abhängig von der Art des Durchschüttelns der Gesamtmasse. Hier wurde immer 1 Min. lang stark geschüttelt; bei den Porphyrinen war aber nach dieser Zeit die Reaktion mit Sicherheit nicht zu Ende gegangen, denn wir konnten regelmäßig spektroskopisch neben dem Phyllin-Spektrum in der Reaktionsmasse deutlich das Porphyrin-Spektrum beobachten. Die Werte für die Porphyrine sind also praktisch höher.

Angesichts der schwankenden Werte haben wir zunächst von neuem einfachere Pyrrolderivate untersucht, um die Leistungsfähigkeit der Zerewitinoff-Methode zu kontrollieren. Das schon früher untersuchte Bis-[2.4-dimethyl-3-carbäthoxy-pyrryl]-methen gab 1—1.5 (33—35) aktive Wasserstoffe gegen 2 früher in leidlicher Übereinstimmung mit der

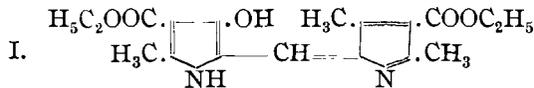
<sup>10)</sup> B. 40, 2023 [1907].

<sup>11)</sup> B. 60, 1987 [1927].

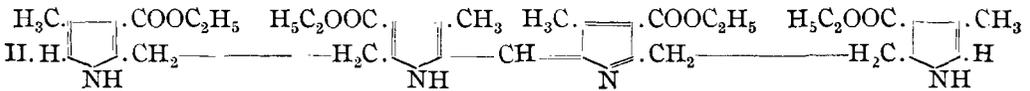
<sup>12)</sup> In der genannten Abhandlung in der Tabelle S. 1988/89 beim Cyclopentadien lies statt 0.86: 0.086. Auf der folgenden Seite in der Tabelle sind verschiedene Rechenfehler unterlaufen, die aber das Ergebnis des Ganzen nicht beeinflussen.

Theorie. Beim Bromhydrat dieses Körpers ging der aktive Wasserstoff in die Höhe auf 2.6—2.97 (42—44), also einen aktiven Wasserstoff mehr als der Theorie entspricht. Beim [2-Brom-3-carbäthoxy-4-methyl-pyrryl]-[2'.4'-dimethyl-3'-carbäthoxy-pyrryl]-methen (46) war auch der erhaltene Wert zu hoch. Ein sehr eigenartiges Resultat wurde beim Aldazin aus 2.4-Dicarbäthoxy-3-methyl-5-formyl-pyrrrol<sup>13)</sup> erzielt, über das wir vor kurzem berichtet haben, das prachtvoll krystallisiert und ein schön krystallisiertes, orangefarbenes Kupfer-Komplexsalz gibt. Hier wäre zu erwarten, daß zwischen dem Aldazin selbst und seinem Kupfersalz ein beträchtlicher Unterschied im aktiven Wasserstoff zugunsten des Aldazins zu verzeichnen wäre. Hier ergab sich nun praktisch zwischen den beiden Körpern kein Unterschied (36—41).

Aus diesen Resultaten kann man schließen, daß außer den NH-Gruppen in den Pyrrol-Derivaten auch die Methingruppen mit reagieren müssen, und auch Kuhn<sup>14)</sup> gibt beim Indyl-indolyden-methan an, daß die Methingruppe ein aktives Wasserstoffatom liefert. Erkennt man diesen Standpunkt an, so scheint die Zerewitinoff-Bestimmung für Porphyrine und Hämine prinzipiell nicht zuverlässig zu sein. Im Häm in und den Porphyrinen sind 4 Methingruppen enthalten, und wenn in einfachen synthetischen Methenen bereits die Methingruppen positiv reagieren, sind die Verhältnisse im komplizierten System nicht mehr zu übersehen. Als weiterer Beleg hierfür dient Bestimmung Nr. 53 beim [2-Methyl-3-carbäthoxy-4-oxypyrryl]-[2'.4'-dimethyl-3'-carbäthoxy-pyrryl]-methen<sup>15)</sup> (I).



Der Körper enthält 3 aktive Wasserstoffe, wenn die Methingruppe mit reagiert; dies war aber offenbar nicht der Fall, nur 2 aktive Wasserstoffe resultierten. Als kompliziertes Methen wurde dann noch die Verbindung II<sup>16)</sup> untersucht, die 3 aktive Wasserstoffe enthält, wenn man nur die der sauren Pyrrolkerne



mitrechnet. Zieht man die Methingruppe mit in Betracht, sind 4 enthalten. Gefunden wurden 2.6. Dieses Resultat erklärt sich ziemlich sicher durch Auskrystallisieren eines großen Teiles der Substanz, und wenn man diesen Körper als Maßstab für die Porphyrine benutzen will, so muß auch bei diesen der Wert immer zu niedrig ausfallen, weil einerseits sofort das Porphyrin durch die Grignard-Lösung gefällt wird, andererseits die Reaktion nicht zu Ende geht, wie das Nicht-verschwinden des Porphyrin-Spektrums beweist. Dazu kommt die Schwierigkeit mit dem Blindwert. Der Blindwert Null ist praktisch nicht erreichbar, man müßte denn nach der Bestimmung das Pyridin wiederum einige Stunden stehen lassen, und, sowie der Blindwert etwas steigt, wird die „Gasreaktion“ der Grignard-Verbindung durch

<sup>13)</sup> B. 61, 1068 [1928].<sup>14)</sup> B. 61, 119 [1928].<sup>15)</sup> Ztschr. physiol. Chem. 128, 62 [1923].<sup>16)</sup> A. 439, 187 [1924].

manche der zugesetzten Objekte mehr oder weniger katalysiert. Beide Ursachen zusammen müssen schwankende Werte erzeugen.

Wir haben trotzdem nun nochmals eine Reihe von Häminen und Porphyrinen auf den Gehalt an aktivem Wasserstoff unter Ausschaltung möglichst jeden Fehlers untersucht, aber keine konstanten Zahlen gefunden. Beim Hämin schwankten sie bei Zimmer-Temperatur zwischen 2 und 3 aktiven Wasserstoffen. Hämin-dimethylester gab einen exakten Wert auf einen aktiven Wasserstoff, ebenso Tetramethyl-hämatoporphyrin-Eisensalz.

Ein Überblick des Gesamtergebnisses dieser Bestimmungen zeigt am häufigsten für Hämin 3 aktive Wasserstoffe, so wie sie in der ersten Abhandlung veröffentlicht sind. Einzelne Werte fallen heraus, z. B. Nr. 6, ohne daß ein Grund dafür angegeben werden kann. Ein Wert mit 3 aktiven Wasserstoffen ist auch in der Abhandlung Walther angegeben (Nr. 17), und bei dieser Sachlage ist schwer zu verstehen, daß Kuhn schreibt, ich habe den Widerspruch zwischen den aktiven Wasserstoffatomen meiner alten Hämin-Formel und den alten Analysen von Postowsky durch die Erklärung zu lösen versucht, daß die veröffentlichten Analysen unrichtig sind. Nirgends ist eine solche Erklärung zu finden, und es hätte auch gar keinen Zweck gehabt, eine solche abzugeben, weil meine alte Hämin-Formel ja genau so gut und schlecht wie die Küstersche die Existenz von 3 aktiven Wasserstoffatomen erklären würde. Auf meine Formel zurückzukommen, hatte ich nicht den geringsten Grund, weil ich sie ja zurückgezogen<sup>17)</sup> hatte. Weiter schreibt Kuhn (l. c. S. 130), er habe beim Hämin 5 Mol. Methan wie wir auch unter extremen Bedingungen niemals erhalten, vergißt aber dabei, daß er bei 3 Präparaten seines „Dihydro-hämins“, das doch wohl identisch mit Hämin ist, 5 aktive Wasserstoffe gefunden hat<sup>18)</sup>, ferner beim Kupfer-Mesoporphyrin 3, während die Theorie hier auch nur 2 vorsieht. Die Porphyrine haben wieder keine konstanten Werte ergeben. Die Phylline (bei 80° getr.) ergaben etwas über einen aktiven Wasserstoff, obwohl sie theoretisch den Wert Null haben. Sie müssen aber nochmals bei 110° oder noch höherer Temperatur getrocknet werden; einige vorläufige Bestimmungen haben unter diesen Bedingungen tatsächlich den Wasserstoffwert Null ergeben, aber es bedarf noch einer besonderen Untersuchung, ob das Trocknen bei 110° an sich statthaft ist.

Uro- und Iso-uroporphyrin-ester gaben, wie aus der Tabelle unter Nr. 27—31, sowie 55 zu entnehmen ist, durchaus schwankende Ergebnisse, die keine sicheren Schlüsse zulassen. Ähnliches gilt für Oktaäthylporphin (32) und für Aceton-Pyrrol (45 u. 56).

Schließlich haben wir nochmals versucht, in unbekanntem Gebiet auf Grund der Zerewitinoff-Bestimmung Aufklärungen zu erhalten, und haben zu diesem Zweck die herrlich krystallisierenden Xanthoporphinogene herangezogen. In der Tabelle sind sie unter Nr. 18—25 angeführt. Auch hier wieder das paradoxe Resultat, daß Kaliumsalze mehr aktiven Wasserstoff oder nicht viel weniger geben als das Ausgangsmaterial. Für die Beurteilung des Ganzen konnte vielleicht der Wert von 24 wesentlich sein. Hier mußte bei 50° getrocknet werden, da der Körper bei höherer Temperatur

<sup>17)</sup> A. 457, 210 [1927]; vergl. auch B. 60, 379 [1927].

<sup>18)</sup> B. 60, 1157 [1927].

Nr.	Substanz	Bruttoformel	Molekular- gewicht
1	Hämin, aus Eisessig umkrystallisiert .....	$C_{34}H_{30}O_4N_4FeCl$	649.5
2	„	„	649.5
3	„	„	649.5
4	„	„	649.5
5	„	„	649.5
6	Hämin, aus Kollidin umkrystallisiert .....	„	649.5
7	„	„	649.5
8	Kopro-hämatin .....	$C_{36}H_{37}O_6N_4Fe$	725.1
9	Ätio-hämin, hydriert <sup>22)</sup> .....	$C_{32}H_{36}N_4FeCl$	567.8
10	„	„	567.8
11	Hämin aus Hämatin .....	$C_{34}H_{30}O_4N_4FeCl$	649.5
12	Hämin .....	„	649.5
13	„	„	649.5
14	Hämin-dimethylester .....	$C_{38}H_{34}O_4N_4FeCl$	677.5
15	Tetramethyl-hämatoporphyrin-Eisenkomplexsalz ....	$C_{38}H_{44}O_6N_4FeCl$	743.7
16	Ätio-porphyrin-Mg-Salz .....	$C_{32}H_{36}N_4Mg$	500.6
17	„	„	500.6
18	Ätio-xanthoporphinogen .....	$C_{32}H_{38}O_4N_4$	542.5
19	-monokaliumsalz .....	$C_{32}H_{37}O_4N_4K$	580.6
20	„	„	580.6
21	-dikaliumsalz .....	$C_{32}H_{36}O_4N_4K_2$	618.7
22	„ <sup>21)</sup>	„	618.7
23	Oktaäthyl-xanthoporphinogen <sup>21)</sup> .....	$C_{36}H_{46}O_4N_4$	598.4
24	Tetramethyl-tetrapropyl-xanthoporphinogen <sup>21)</sup> ....	$C_{36}H_{46}O_4N_4 \cdot 2 H_2O$	634.4
25	Koproporphyrin - tetramethylester - xanthoporphinogen <sup>21)</sup> .....	$C_{40}H_{46}O_{12}N_4$	774.4
26	Koproporphyrin-tetramethylester .....	$C_{40}H_{46}O_8N_4$	710.4
27	Uroporphyrin-ester (1.3.5.7-Tetramethyl-2.4.6.8-tetramethyl-malonsäure-ester)-porphin .....	$C_{48}H_{52}O_{16}N_4$	940.4
28	„	„	940.4
29	„	„	940.4
30	Iso - uroporphyrin - ester (1.4.5.8-Tetramethyl-2.3.6.7-tetramethyl-malonsäure-ester)-porphin .....	$C_{48}H_{52}O_{16}N_4$	940.4
31	„	„	940.4
32	Oktaäthyl-porphin <sup>21)</sup> .....	$C_{36}H_{46}N_4$	534.4
33	Bis-[2.4-dimethyl-3-carbäthoxy-pyrryl]-methen .....	$C_{19}H_{24}N_2O_4$	344.2
34	„	„	344.2
35	„	„	344.2

<sup>19)</sup> Dampftension des Pyridins (16 mm) schon abgezogen.<sup>20)</sup> Blindwert schon ab-

Trocknung	Einwage g	Druck <sup>19)</sup> mm	Temp. (°)	Gas <sup>20)</sup> ccm	Blindwert	Aktive Wasserstoffatome		Bemerkungen
						Ber.	Gef.	
74 Stdn. 60°	0.0905	713	19	9.5	0	3	2.69	Reaktion 5 bei Zimmer-Temp., 5' bei 50°, 5' bei 85° ohne Lösungsmittel
74 Stdn. 60°	0.1227	713	19	13.7	0	3	2.87	
74 Stdn. 60°	0.1178	708	20	0	0	3	—	
				0	0	3	—	
				0	0	3	—	
50 Stdn. 110°	0.1485	702	20	16.6	0	3	2.81	5' bei 85°
				20.4	0.2	3	3.46	
50 Stdn. 110°	0.0865	709	20	10.5	0	3	3.09	
107 Stdn. 60°; P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> + Paraffin	0.1555	713	19	12.6	0	3	2.08	
54 Stdn. 110° P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> + Paraffin	0.0989	708	21	11.8	0	3	3.02	5' bei 85°
				15.0	0.2		3.84	
17 Stdn. 110°	0.0307	713	19	7.8	0	5	7.26	
22 Stdn. 85°; P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> + NaOH + Paraffin	0.0788	708	23	5.3	0	1	1.47	
8 Stdn. 150°	0.0901	709	21	6.6	0	1	1.62	
56 Stdn. 110°	0.0648	698	22	5.1	3.3	3	1.96	22)
56 Stdn. 110°	0.0794	698	22	7.2	3.3	3	2.26	
44 Stdn. 110°	0.0965	692	21	5.4	2.5	3	1.38	
44 Stdn. 110°	0.1375	704	20	5.0	3.2	1	0.96	
120 Stdn. 18°	0.1385	704	20	4.3	3.2	1	0.89	
44 Stdn. 80—85°	0.1290	708	17	8.7	2.3	0	1.33	
44 Stdn. 80—85°	0.0817	696	22	6.9	2.7	0	1.61	
12 Stdn. 150° dauernd gesaugt	0.0475	708	20	10.1	1.2	2	4.50	
„	0.0509	713	20	9.8	0.8	1	4.39	
„	0.0491	713	21	9.8	0.3	—	4.53	
„	0.0472	713	21	7.6	0.8	—	3.90	
„	0.0611	713	21	9.5	0.3	—	3.76	
150° konst.	0.0585	708	20	10.6	1.2	—	4.23	
5 Stdn. 50°	0.0784	708	16	30.3	0	—	9.69	
12 Stdn. 140°	0.0349	709	20	7.8	0	2	6.75	
4 Stdn. 70°	0.0337	709	19	2.5	0	2	2.06	
44 Stdn. 110°	0.0809	704	20	4.6	3.2	2 bzw. 6	2.07	2' bei 85°
44 Stdn. 110°	0.0550	697	22	8.7	1.5	2 bzw. 6	5.67	
				11.3	6.2	2 bzw. 6	7.36	
44 Stdn. 110°	0.0316	692	21	6.9	2.5	2 bzw. 6	7.79	
44 Stdn. 110°	0.0708	696	20	7.9	2.6	2 bzw. 6	4.02	
44 Stdn. 110°	0.0398	697	23	4.9	3.7	2 bzw. 6	4.40	
30 Stdn. 110°	0.0599	707	20	3.8	2.9	2	1.32	
10 Stdn. 60°	0.0727	709	18	8.2	0	1	1.53	
10 Stdn. 60°	0.0752	707	20	5.9	2.9	1	1.05	
58 Stdn. 60°	0.0569	694	22	5.3	3.9	1	1.22	

gezogen. <sup>21)</sup> noch nicht veröffentlicht.

<sup>22)</sup> Aus früheren Hydrierungsversuchen.

Nr.	Substanz	Bruttoformel	Molekular- gewicht
36	Aldazin des 2.4-Dicarbäthoxy-3-methyl-5-formyl- pyrrols .....	$C_{24}H_{30}O_8N_4$	502.2
37	„	„	502.2
38	„	„	502.2
39	Cu-Salz des Aldazins .....	$C_{24}H_{28}O_8N_4Cu$	563.8
40	„	„	563.8
41	„	„	563.8
42	Bis-[2.4-dimethyl-3-carbäthoxy-pyrryl]-methen- Bromhydrat .....	$C_{19}H_{25}O_4N_2Br$	425.1
43	„	„	425.1
44	„	„	425.1
45	Aceton-Pyrrol .....	$C_{28}H_{36}N_4$	428.3
46	[2-Brom-3-carbäthoxy-4-methyl-pyrryl]-[2'.4'-di- methyl-3'-carbäthoxy-pyrryl]-methen .....	$C_{18}H_{21}N_2O_4Br$	409.1
47	Azobenzol <sup>23)</sup> .....	$C_{12}H_{10}N_2$	182.1
48	„	„	182.1
49	Chinon <sup>24)</sup> .....	$C_6H_4O_2$	108.0
50	„	„	108.0
51	„	„	108.0
52	Bis-[3-methyl-4-carbäthoxy-2-(3'-carbäthoxy-4'- methyl-2'-äthenyl-pyrrol)-dipyrryl]-methen .....	$C_{37}H_{46}O_8N_4$	674.4
53	[2-Methyl-3-carbäthoxy-4-oxy]-[2'.4'-dimethyl-3'-carb- äthoxy-pyrryl]-methen .....	$C_{18}H_{22}O_6N_2$	346.2
54	Azobenzol .....	$C_{12}H_{10}N_2$	182.1
55	Iso-uroporphyrin-ester .....	$C_{48}H_{62}O_{16}N_4$	940.4
56	Aceton-Pyrrol .....	$C_{28}H_{36}N_4$	428.3

Die Trocknung geschah stets im Vakuum, gewöhnlich über  $P_2O_5$ ; Ausnahmen sind an-

<sup>23)</sup> Auch Flaschenträger (Ztschr. physiol. Chem. **146**, 219 [1925]) hat das Azobenzol

<sup>24)</sup> Chinon haben wir wegen seiner dehydrierenden Eigenschaften untersucht. Hier wurde zwischen noch nicht umgesetztem Chinon und dem benzoiden Grignard-Anlagerungsprodukt)

sich zersetzt. Bei 50° sind nun zufolge der Analyse noch 2 Mol. Krystallwasser in der Verbindung enthalten. Trotz guten Blindwertes wurde hier der abnorm hohe Wert von 9.7 aktiven Wasserstoffen erhalten. Es lag nahe, für den hohen Wert den Krystallwasser-Gehalt verantwortlich zu machen; einen experimentellen Beweis konnten wir allerdings nicht erbringen.

Wir haben Azobenzol nach Zerewitinoff untersucht und in zwei Bestimmungen nur Spuren von Gas erhalten. Die abweichenden Resultate der Literatur (vergl. oben) erklären sich offenbar durch die verschiedenartigen Bedingungen. Bei der Zerewitinoff-Bestimmung wird mit Amyläther gearbeitet und dort mit Äthyläther. Als aber nun auf 85° erhitzt wurde, stellte sich heftige Gasentwicklung ein.

Trocknung	Einwage g	Druck 19) mm	Temp (°)	Gas 20) ccm	Blindwert	Aktive Wasserstoffatome		Bemerkungen
						Ber.	Gef.	
15 Stdn. 125°	0.1210	708	20	15.0	2.1	2	2.43	
nochm. 48 Stdn.	0.1040	707	20	11.0	2.3	2	2.07	
110°	0.0663	694	22	7.6	3.9	2	2.18	
15 Stdn. 125°	0.1610	708	20	18.5	2.1	0—1	2.53	
nochm. 24 Stdn.	0.0823	707	20	11.3	2.3	0—1	3.01	
110°	0.0979	694	22	11.7	3.9	0—1	2.56	
10 Stdn. 60°								
CaCl <sub>2</sub> + KOH	0.1792	707	20	28.1	2.9	2	2.59	
„	0.1702	708	21	30.6	0	2	2.97	
„	0.1729	688	23	28.0	4.3	2	2.58	
90° konst.	0.0588	697	21	10.3	0.8	4	2.87	
60° konst.	0.0593	692	21	5.7	2.5	1	1.49	
im Vakuum sublimiert	0.1109	692	21	1.2	3.3	0	0.08	
„	0.2394	689	21	3.4	2.7	0	0.1	
3-mal sublim.	0.0673	690	20	9.6	3.0	0	0.59	
„	0.0816	689	21	12.0	2.7	0	0.60	
„	0.0745	689	21	11.0	2.7	0	0.60	
8 Stdn. 110°	0.1014	697	20	10.4	3.4	3	2.65	
8 Stdn. 110°	0.0775	697	20	12.0	3.3	2	2.06	
im Vakuum destilliert	0.3650 + 0.0017 g Wasser	700	22	6.5	2.7		0.03	akt. Wasserstoff ber. nach Abzug der vom Wasser herrührenden Gasmenge
24 Stdn. 110°	0.0972	700	23	17.1	2.7	2 bzw. 6	6.31	
90° konst.	0.0586	700	23	9.9	2.7	4	2.76	
				13.5	6.0	4	3.76	5' bei 85°

gegeben. Alle Bestimmungen sind mit Pyridin als Lösungsmittel ausgeführt.

nach seiner Mikro-Zerewitinoff-Bestimmung mit negativem Erfolg untersucht. wenig Gas entwickelt; nach intermediärer Tiefblau-Färbung (wohl Chinhydrin-Bildung) wurde als Endprodukt reines Hydrochinon identifiziert.

Angesichts des hohen Wertes beim krystallwasser-haltigen Tetramethyl-tetrapropyl-xanthoporphinogen haben wir eine neue Bestimmung mit Azobenzol unter Zusatz von 1.7 mg Wasser ausgeführt. Hier war aber der Gehalt an aktivem Wasserstoff nicht wesentlich höher als dem zugesetzten Wasser entspricht. Das Wasser ist es also scheinbar nicht, das diesen katalytischen Einfluß hat.

Wir kommen zu dem Endresultat, daß unvermeidliche Katalysatoren die Gasbildung bei der Zerewitinoff-Reaktion stark beeinflussen und daß denselben Effekt komplizierte Pyrrolderivate allein ausüben können. Hier

kommt noch dazu, daß bei den Pyrrolderivaten die Methingruppen gelegentlich mit reagieren, und wir glauben, daß der vorsichtige Standpunkt, der in der I. Mitteilung bei der Beurteilung der Zerewitinoff-Werte beim Hämin eingenommen wurde, durchaus berechtigt war und ist. Auch die hohen Werte der Xanthoporphinogene können wir nur so deuten, daß diese Körper außer mit Imidgruppen auch mit Methingruppen reagieren oder als „Katalysatoren“ der Blindreaktion dienen. Sonstige katalytische Fähigkeiten haben wir bis jetzt allerdings nicht finden können; z. B. kann man bei der Blut-Benzidin-Reaktion das Wasserstoffsuperoxyd durch Ätio-xanthoporphinogen nicht ersetzen.

### 192. Karl Josephson:

#### **Bemerkung zu den Arbeiten von E. Waldschmidt-Leitz und W. Klein: Über Spezifität und Wirkungsweise von Erepsin, Trypsin und Trypsin-Kinase, sowie von E. Waldschmidt-Leitz und Gertrud Rauchalles: Zur Spezifität der Peptidasen, II.: Vergleich der Peptid-Zucker-Kondensation mit der Wirkungsweise des Erepsins.**

[Aus d. Chem. Laborat. d. Universität Stockholm.]

(Eingegangen am 19. April 1928.)

Die im April-Heft der „Berichte“ erschienenen Mitteilungen aus dem Laboratorium der Bayerischen Akademie der Wissenschaften von E. Waldschmidt-Leitz und Mitarbeitern<sup>1) 2)</sup> müssen wir mit um so größerer Freude begrüßen, als sie ausgezeichnete Bestätigungen der im hiesigen Laboratorium vorher experimentell begründeten Vorstellungen über die Art der Bindung zwischen dem Darm-Erepsin und seinen Substraten ausmachen. Die in Arbeiten von H. v. Euler und K. Josephson<sup>3)</sup> zuerst nachgewiesene, ausschlaggebende Bedeutung der freien Aminogruppe in den Dipeptiden, sowie in den einfachen Amino-säuren für die Bindung an das Darm-Erepsin und weiter die in der Mitteilung von Josephson und Euler „Über die Wirkungsweise des Darm-Erepsins“<sup>4)</sup> beschriebenen Versuche hatten es wahrscheinlich gemacht, daß die gesuchte substrat-bindende Gruppe (Affinitätsgruppe), welche die Bindung der Aminogruppe des Substrats vermittelt, „tatsächlich Aldehyd-Eigenschaften besitzt“: „Von den in Frage kommenden, in der organischen Chemie bekannten Atomgruppen dürfte die Carbonylgruppe  $>C:O$  (Aldehyd- oder Ketogruppe) oder eventuell eine in ähnlicher Weise wie bei den reduzierenden Zuckern vorkommende umgestaltete Carbonylgruppe mit den vorliegenden Erfahrungen am besten in Einklang stehen“.

Nachdem nun E. Waldschmidt-Leitz und W. Klein<sup>1)</sup> neue Erfahrungen mitteilen, welche unsere Vorstellung, „wonach es zur Wirkung des Darm-Erepsins auf ein Peptid, zu seiner Anlagerung, der Gegenwart einer freien Aminogruppe bedarf“, bestätigen, und weiter einige scheinbar gegen diese Vorstellung sprechende, früher mitgeteilte Beobachtungen erledigen, machen E. Waldschmidt-Leitz und Gertrud Rauchalles<sup>2)</sup>

1) E. Waldschmidt-Leitz und W. Klein, B. **61**, 640 [1928].

2) E. Waldschmidt-Leitz und Gertrud Rauchalles, B. **61**, 645 [1928].

3) Ztschr. physiol. Chem. **157**, 122 [1926]; B. **60**, 1341 [1927].

4) Ztschr. physiol. Chem. **162**, 85 [1926].