

Verunreinigung. Tatsächlich tritt von  $c = 1.5 \times 10^{-4}$  Mol/l ein rascher Abfall der Leitfähigkeit bei weiterer Verdünnung ein. Wird Wasser für das Auftreten der Leitfähigkeit verantwortlich gemacht, so berechnet sich seine Konzentration, entsprechend der Verdünnung des Brom-tricyanmethylen, bei welcher der Rückgang der spezif. Leitfähigkeit anfängt, zu  $1.5 \times 10^{-4}$  Mol/l = 2.7 mg/l Nitro-benzol.

## 21. Felix Haurowitz und Konrad Zirm: Über Porphyrine und ihre Metallsalze.

[Aus d. Medizin.-chem. Institut d. Dtsch. Universität in Prag.]  
(Eingegangen am 26. November 1928.)

Die Bestimmung der aktiven Wasserstoffatome nach Zerewitinoff<sup>1)</sup> hat H. Fischer<sup>2)</sup> und R. Kuhn<sup>3)</sup> zu wichtigen Schlüssen über die Konstitution der Porphyrine geführt. Die Zerewitinoffsche Methode liefert jedoch bei den Blutfarbstoff-Derivaten schwankende Resultate, die im Gegensatz zu den scharfen und eindeutigen Werten stehen, die man mit dieser Methode bei anderen Verbindungen erhält. H. Fischer<sup>2)</sup> hat als Ursache dieses eigenartigen Verhaltens die durch das große Molekulargewicht der Blutfarbstoff-Derivate veränderte Reaktionsfähigkeit angegeben.

Bei unseren Versuchen konnten wir die von H. Fischer und seinen Mitarbeitern gefundene Inkonstanz der Resultate bestätigen. Als wesentlichen Grund dieser Inkonstanz müssen wir vor allem die spontane Änderung der Zusammensetzung von Grignards Reagens ansehen. Die Stärke des Reagenses nimmt — im Einklang mit Meisenheimers<sup>4)</sup> Beobachtungen — schnell ab, wenn es mit O<sub>2</sub> in Berührung kommt. Bei den Bestimmungen nach Zerewitinoff ist diese Änderung des Titers im allgemeinen belanglos, denn die meisten organischen Verbindungen reagieren nach den Angaben von Flaschenträger<sup>5)</sup> quantitativ unter CH<sub>4</sub>-Entwicklung, solange das Reagens mindestens 0.8-normal ist. Nur krystallwasser-haltige Verbindungen benötigen nach Flaschenträger ein 1.5-n. Reagens, wenn beide H-Atome des Krystallwassers quantitativ reagieren sollen. Die Porphyrine und ihre Metallverbindungen verhalten sich ähnlich den krystallwasser-haltigen Verbindungen; sie enthalten anscheinend H-Atome, die nur mit starkem Reagens reagieren. Wir fanden beispielsweise für Cl-Hämim bei schwachem Reagens 2—3 aktive H-Atome, bei starkem Reagens 3—6 aktive H-Atome (Vers. 1—12).

Diese H-Atome können nicht Krystall-Wasser (-Alkohol, -Essigsäure) angehören, da unsere Präparate bei 110° und 12 mm über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> und Natron-

<sup>1)</sup> Zerewitinoff, B. 40, 2023 [1907].

<sup>2)</sup> H. Fischer und Postowsky, Ztschr. physiol. Chem. 152, 300 [1926]. — H. Fischer und E. Walter, B. 60, 1987 [1927]. — H. Fischer und Rothmund, B. 61, 1268 [1928].

<sup>3)</sup> R. Kuhn, L. Brann, C. Seyffert und M. Furter, B. 60, 1151 [1927], 61, 127 [1928].

<sup>4)</sup> J. Meisenheimer und W. Schlichenmayer, B. 61, 2029 [1928].

<sup>5)</sup> B. Flaschenträger, Ztschr. physiol. Chem. 146, 218 [1925].

kalk getrocknet waren und auf Grund chemischer Analysen frei von Krystall-Wasser (-Alkohol, -Essigsäure) sind. Wir dachten an eine besondere Eigenheit des an Pyrrol-N oder an C gebundenen aktiven H-Atoms gegenüber dem am häufigsten untersuchten, an O gebundenen Wasserstoff. Wir fanden jedoch weder bei Pyrrolen, noch auch bei Malonester, Fluoren und Inden wesentliche Unterschiede im Verhalten gegen starkes und schwaches Reagens (Vers. 36—46). Daß sich die Methin-H-Atome des Porphinskeletts mit MgJCH<sub>3</sub> umzusetzen vermögen, ist schon von H. Fischer und Rothemund (a. a. O.) angenommen worden. Diese H-Atome der Methin-Gruppen reagieren vermutlich mit starker und schwacher Mg-Lösung derart verschieden.

An einer größeren Reihe von Analysen gewannen wir die Erfahrung, daß Bestimmungen der aktiven H-Atome an Blutfarbstoff-Derivaten nur dann untereinander vergleichbar sind, wenn sie mit Reagens gleicher Zusammensetzung durchgeführt werden. Da aber die Zusammensetzung des Reagenses nicht nur von seiner Normalität abhängt (vergl Meisenheimer), kann man auch bei gleicher Normalität an einem und demselben Körper Resultate erhalten, die ein wenig schwanken. Es empfiehlt sich daher, die Bestimmungen an den zu vergleichenden Substanzen unter Verwendung einer einzigen Mg-Lösung und innerhalb möglichst kurzer Zeit vorzunehmen. Bei Befolgung dieses Vorgehens konnten wir jene Fragen untersuchen, die den Anlaß zu der vorliegenden Arbeit gegeben hatten. Wir fanden:

1. Bei Übergang von Cl-Hämin in Oxy-Hämin erfolgt keine Zunahme der aktiven H-Atome (Vers. 13—17); der Fe.OH-Gruppe sind daher keine sauren Eigenschaften zuzuschreiben, und die Bildung von Trikaliumsalzen des Oxy-Hämats kann im Gegensatz zur herrschenden Annahme (Willstätter<sup>6</sup>), Küster<sup>7</sup>), Hamsik<sup>8</sup>) nicht als Übergang von Fe.OH in Fe.OK aufgefaßt werden. Als dritte saure Gruppe (neben 2 COOH-Gruppen) ist vielleicht die NH-Gruppe eines Pyrrolringes anzusehen, wie der eine von uns<sup>9</sup>) früher angenommen hat.

2. Bei der Bildung komplexer Metallverbindungen mit Cu, Zn oder FeCl nimmt die Zahl der aktiven H-Atome der Porphyrine um höchstens 1 Äquivalent ab. Wir haben diese Versuche, um störende Salzbildung an den COOH-Gruppen zu vermeiden, am Dimethylester des Meso-porphyrins vorgenommen (Vers. 18—35). Die komplexen Metallverbindungen der Porphyrine entstehen also nicht etwa analog dem Pyrrol-Kalium durch einfache Salzbildung an 2 Pyrrol-H-Atomen. Das organische Porphin-Skelett muß bei Bindung der Metalle wesentlich verändert worden sein, wie bereits H. Fischer<sup>10</sup>) aus dem abweichenden Verhalten gegen Halogen geschlossen hat; darauf deutet auch das abweichende und von der Natur des Metalles (Ag, Cu, Zn, Co, Mg) wenig abhängige Spektrum.

Wir haben versucht, dem Problem der Porphyrin-Metall-Verbindungen durch Elektronen-Formulierung näherzukommen. Pyrrol ist von E. Müller<sup>11</sup>) nach I, von R. Müller<sup>12</sup>) nach II formuliert worden. Wegen ungerader und abweichender

<sup>6)</sup> R. Willstätter und M. Fischer, Ztschr. physiol. Chem. **87**, 489 [1913].

<sup>7)</sup> W. Küster, Ztschr. physiol. Chem. **66**, 179, 191 [1910].

<sup>8)</sup> A. Hamsik, Spisy lek. fakult. Masaryk. univ. Bd. A **11**, 1 [1923/24].

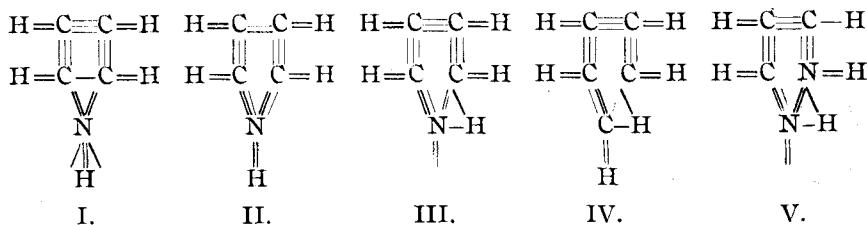
<sup>9)</sup> F. Haurowitz, Ztschr. physiol. Chem. **169**, 91 [1927].

<sup>10)</sup> H. Fischer, B. **60**, 2622 [1927].

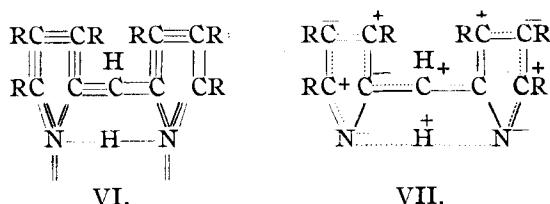
<sup>11)</sup> E. Müller, Ztschr. Elektrochem. **31**, 46, 143 [1925].

<sup>12)</sup> R. Müller, Der Aufbau d. chem. Verbindungen [1928].

Anzahl der Elektronen (25 statt 26) kann II wohl nicht zutreffen. Neben I stellen wir in Anlehnung an die Formulierung der Carbonsäuren nach Hantzsch<sup>13)</sup> und R. Müller<sup>12)</sup> Formel III als *aci*-Formel des Pyrrols zur Diskussion. Formel III vermeidet die aus Gründen der Spannungstheorie unsichere Annahme eines 2,5-Brücken-Elektrons, erklärt die Leichtigkeit des Überganges von *N*-Alkyl-pyrrolen in 2-Alkyl-pyrrole; den sauren Charakter des H-Atoms in Pyrrol (III), Cyclopentadien (IV) und Pyrazol (V), schließlich die virtuelle Tautomerie von 3- und 5-Pyrazol.



H. Fischer<sup>14)</sup> hat die Fähigkeit zur komplexen Bindung von Metallen wohl mit Recht auf die Kombination eines Pyrrol-Ringes mit einem Pyrrolen-Ring zurückgeführt. Die einfachste Form dieser Kombination findet sich im Di-pyrrolyl-methen. Die Elektronen-Formel VI der Methene bringt ihre Symmetrie zum Ausdruck, die Formel VII (nach König<sup>15)</sup>) ihren Charakter als Polymethin-*aci*-Farbstoffe mit durchgehender Konjugation.



Da die Porphyrine keine ungesättigten Stellen im Sinne aliphatischer Doppelbindungen aufweisen, ist man gezwungen, auch in ihnen einen geschlossenen Ring konjugierter Doppelbindungen anzunehmen, wie dies Kuhn<sup>16)</sup> getan hat. Es ist uns nun nicht möglich gewesen, eine der bekannten Formel VIII entsprechende Elektronen-Formel oder Konjunktions-Formel mit heteropolarer Bindung nach König aufzustellen. Denn es geht nicht an, von einem geschlossenen Ring heteropolarer Bindungen weitere Doppelbindungen zu den basischen N-Atomen abzuweigen. Sieht man von der nach H. Fischer's Synthesen unwahrscheinlichen Annahme einer C—C-Brücke ab, so gelangt man stets zu einer um 2 H reicherem Formel IX. Diese würde die tiefgriffigenden spektralen Veränderungen beim Übergang in komplexes Metallsalz X bzw. Chlorid XI verständlich machen. All dies läßt daran denken, daß die Porphyrine tatsächlich 2 H-Atome mehr enthalten als man ihnen bisher zugeschrieben hat, daß ihnen also Formel XII zukommt. Die Elementar-Analyse hat in der Frage der H-Atome der Porphyrine bekanntlich versagt. Für unsere Hypothese sprechen jedoch die hohen Werte für aktiven Wasserstoff, die wir mit starkem Reagens fanden, ferner H. Fischer's Porphyrin-Synthesen<sup>17)</sup>; denn nach der alten Formulierung ist man gezwungen anzu-

<sup>13)</sup> A. Hantzsch, Die Theorie d. ionogen. Bindung [1923].

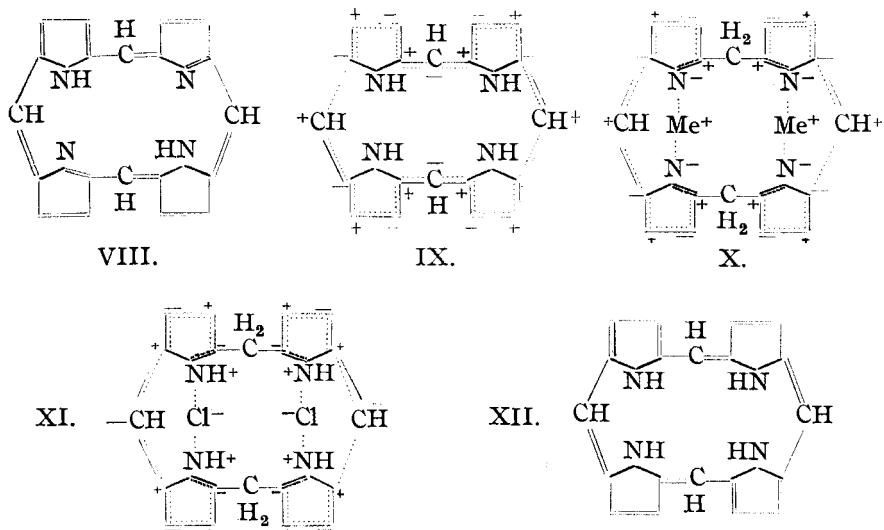
<sup>14)</sup> H. Fischer und E. Walter, a. a. O.

<sup>15)</sup> W. König, Journ. prakt. Chem. [2] **112**, 1 [1925].

<sup>16)</sup> R. Kuhn, L. Brann, C. Seyffert und M. Furter, a. a. O.

<sup>17)</sup> H. Fischer und W. Lamatsch, A. **462**, 243 [1928]; H. Fischer, Friedrich, Lamatsch und Morgenroth, A. **466**, 147 [1928].

nehmen, daß beim Zusammentritt von 2 Methenen zum Porphyrin 2 H durch Oxydation austreten. Nun gelingt<sup>17)</sup> aber die Synthese bei Abwesenheit von Oxydationsmitteln ebenso gut. H. Fischer<sup>18)</sup> hat daher als erste Phase der Synthese die Bildung eines Dihydro-porphyrins angenommen, als II. Phase Dehydrierung desselben zum Porphyrin. Auf Grund unserer Überlegungen könnte man versucht sein, anzunehmen, daß diese Dehydrierung gar nicht erfolgt und daß den Porphyrinen die Dihydro-Formel XII zukommt. — Die Seitenketten der Porphyrine sind in den Formeln als unwesentlich fortgelassen.



3) Die FeCl-Verbindung des Meso-porphyrin-esters (= Meso-hämester) enthielt ebensoviel aktive H-Atome wie das Zn- oder Cu-Salz des Esters (Vers. 25—35). Dies ließ daran denken, daß der Rest FeCl zweiwertig auftritt, das Eisen also dreiwertig als  $>\text{Fe(III).Cl}$ . Nun hat der eine von uns<sup>19)</sup> kürzlich nachgewiesen, daß Porphyrine im allgemeinen mit Ferri-salzen nicht Hämine bilden, wohl aber nach Zusatz eines Reduktionsmittels. Wir haben daher die Frage der Wertigkeit des Eisens in Häminen neuerlich aufgegriffen und untersucht, ob nicht etwa das einzuführende Fe(II) in Fe(III) übergeht, indem es das Lösungsmittel reduziert. Wir konnten jedoch weder Reduktion des Wassers zu  $\text{H}_2$ , noch auch Reduktion der Valeriansäure (zum Aldehyd oder Alkohol) nachweisen.

Wir sind dann den umgekehrten Weg gegangen und haben die Abspaltung von Fe aus Hämin durch Säuren untersucht, wobei wir uns an die bekannten Versuche W. Küsters (a. a. O.) hielten. Anstatt des Cl-Hämims haben wir Meso-hämme untersucht, um die reduzierende Wirkung der ungesättigten Seitenketten auszuschließen. Wir erhielten bei diesen Versuchen in voller Bestätigung der Küsterschen Ansicht Abspaltung von Fe(III) ohne Bildung von Fe(II).

Wir vermögen den Widerspruch zwischen Abspaltung von Fe(III) aus Häminen und Bildung der gleichen Hämine aus Porphyrinen durch Fe(II)

<sup>18)</sup> H. Fischer, B. 60, 2622 [1927].

<sup>19)</sup> F. Haurowitz, a. a. O.

(z. B. in  $H_2S$ -Atmosphäre) nicht ganz aufzuklären. Wahrscheinlich bildet sich aus Fe(II) und Porphyrin intermediär eine Fe(II)-Verbindung (= Hämochromogen?), die bei saurer Reaktion derart labil ist, daß sie selbst bei Gegenwart von  $H_2S$  in die Fe(III)-Verbindung, d. i. Häm, übergeht, indem sie das Lösungsmittel zu einem Produkt unbekannter Konstitution reduziert.

### Beschreibung der Versuche.

#### 1. Bestimmung aktiver H-Atome mit Grignards Reagens verschiedener Stärke (Haurowitz, Vers. 1—12).

Das Grignardsche Reagens wurde in Ansätzen von 5 g Mg, 15 ccm  $CH_3J$  und 50 ccm Diamyläther dargestellt, wobei wir uns im übrigen an die Vorschriften Flaschenträgers (a. a. O.) hielten. Das frisch bereitete Reagens war 1.5—1.7-normal. Stärkere Konzentrationen von 1.8—2.0-normal wurden erhalten, wenn die Darstellung in einem Strome trocknen Stickstoffes erfolgte. Die Darstellung nach Zerewitoff (a. a. O.) liefert ein wesentlich schwächeres Reagens.

Die Stärke des Reagenses wurde gasanalytisch nach Gilman<sup>20)</sup> bestimmt. Bei solchen Bestimmungen ließ sich der Einfluß des Sauerstoffes der Luft leicht verfolgen. Frisch bereitete Lösungen änderten in gut verschlossenen Kappenflaschen im Laufe von 3—6 Wochen ihren Titer von 1.6-normal auf 0.7-normal, wenn die Flasche zur Entnahme von Proben in dieser Zeit etwa 30—40-mal kurz geöffnet worden war. Die selbe Wirkung wurde durch häufigeres kurzes Öffnen in wenigen Tagen, durch Offenstehenlassen des Gefäßes in wenigen Stunden erreicht.

Zu den Bestimmungen wurde so viel Substanz genommen, daß die Gasentwicklung etwa 1—10 ccm betrug. Die Gasbürette faßte 10 ccm. Nach Mischen von 1 ccm Mg-Reagens und 2 ccm Pyridin-Lösung der Substanz und erster Ablesung wurde 5' bei Zimmer-Temperatur bzw. bei 85° im Bad von Paraffinöl gehalten, dann 7' in einem Bad von Zimmer-Temperatur gekühlt und sofort abgelesen. In allen anderen als den hier erwähnten Punkten wurde nach Flaschenträger (a. a. O.) verfahren.

Von dem entwickelten  $CH_4$  wurde das im Blindversuch entwickelte Gas abgezogen. Die Blindwerte waren bei Verwendung des gleichen Pyridins von der Stärke der Mg-Lösung abhängig. Dieselben mußten daher kurz vor und nach den Bestimmungen gemessen werden.

Die Abhängigkeit der Zahl der aktiven H-Atome von der Stärke des Reagenses zeigen die Versuche 1—12 an einem  $\alpha$ -Cl-Häm (Schalfdjew) aus Rinderblut. Zu diesen Versuchen wurde stets ein und dasselbe Pyridin verwendet, in den Versuchen 2—9 die gleiche Mg-Lösung; in Vers. 1 und 10—12 kamen andere Lösungen zur Verwendung. Die Resultate gingen, wie dieser und andere Versuche zeigten, mit dem nach Gilman ermittelten Titer nur in erster Annäherung parallel; sie waren in geringem Grade auch von anderen Faktoren abhängig, z. B. davon, ob die Herabsetzung des Titers durch längeres Stehenlassen an der Luft oder durch Verdünnen mit Diamyläther bewirkt war. Dies ist nach den Ergebnissen von Meisenheimer<sup>21)</sup> nicht überraschend, da gleicher Titer nicht gleiche Zusammensetzung bedeutet.

#### 2. Vergleich von Cl- und Oxy-Häm (Haurowitz, Vers. 13—17).

Die Vergleichs-Bestimmungen mit entsprechender Bestimmung des Blindwertes wurden hier wie bei den folgenden Versuchen innerhalb eines

<sup>20)</sup> Gilman, Wilkinson, Fischel und Myers, Journ. Amer. chem. Soc. **45**, 150 [1923]. <sup>21)</sup> Meisenheimer und Schlichenmayer, a. a. O.

## Tabelle.

Einwirkung von Grignard-Reagens verschiedener Stärke.  
(Wenn nicht anders angegeben, wurde bei Zimmer-Temperatur an Luft gearbeitet.)

Nr.	Datum (1928)	mg	Substanz (bei 110° und 12 mm über P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> und Natronkalk getrockn.)	p mm	t°	ccm CH <sub>4</sub>	Äquiv. akt. H	Stärke d. Mg-Lsg.
1	22. 4.	45.3	α-Cl-Hämin (85°, N <sub>2</sub> ) .....	740	15	2.53	1.6	0.53
2	25. 4.	26.6	" .....	750	17	5.72	5.7	1.67
3	26. 4.	41.8	" .....	744	17	5.43	3.4	1.53
4	27. 4.	51.5	" .....	747	16	6.24	3.2	1.34
5	27. 4.	15.9	" .....	747	16	1.82	3.0	1.34
6	2. 5.	33.8	" .....	739	21	3.03	2.2	1.11
7	3. 5.	30.2	" .....	739	21	2.25	1.9	0.98
8	8. 5.	36.5	" .....	734	17	0.79	0.55	0.64
9	8. 5.	36.7	" .....	734	17	0.66	0.45	0.54
10	8. 5.	36.4	" .....	734	17	4.62	3.2	1.41
11	22. 5.	19.4	" .....	742	20	2.95	3.9	1.30
12	12. 6.	37.0	" .....	750	23	7.31	5.1	1.60
13	7. 8.	30.2	Oxy-Hämin (85°, N <sub>2</sub> ) .....	753	22	2.49	2.1	0.9
14	7. 8.	32.1	α-Cl-Hämin (85°, N <sub>2</sub> ) .....	753	22	2.83	2.4	0.9
15	8. 8.	42.5	Oxy-Hämin (85°, N <sub>2</sub> ) .....	751	24	7.8	4.6	1.7
16	8. 8.	49.3	α-Cl-Hämin (85°, N <sub>2</sub> ) .....	751	24	9.6	5.1	1.7
17	8. 8.	28.1	Dimethyl-hämin (85°, N <sub>2</sub> ) .....	701	24	3.2	2.1	1.7
18	15. 5.	35.3	Dimethyl-mesoporphyrin (85°, N <sub>2</sub> )	741	19	2.46	1.6	0.9
19	15. 5.	49.8	" .....	741	19	4.52	2.2	1.5
20	15. 5.	86.2	Dimethyl-mesohämin (85°, N <sub>2</sub> ) ..	737	20	3.86	1.2	0.9
21	15. 5.	87.3	" .....	737	20	5.31	1.6	1.5
22	23. 5.	11.2	Meso-porphyrin (85°, N <sub>2</sub> ) .....	743	21	2.42	4.8	1.1
23	23. 5.	35.6	Meso-porphyrin-Cu (85°, N <sub>2</sub> ) ..	743	21	4.94	3.9	1.1
24	23. 5.	37.6	" .....	743	21	6.09	3.9	1.1
25	21. 7.	26.9	Dimethyl-mesoporphyrin-Zn ..	750	22	2.54	2.5	1.3
26	21. 7.	32.1	" .....	750	22	2.93	2.4	1.3
27	21. 7.	39.1	Dimethyl-mesohämin .....	750	26	3.61	2.5	1.3
28	21. 7.	37.3	" .....	750	26	3.61	2.6	1.3
29	21. 7.	46.3	" .....	750	26	4.12	2.4	1.3
30	8. 8.	28.2	Dimethyl-mesohämin .....	752	23	0.91	0.9	0.65
31	8. 8.	5.8	Dimethyl-mesoporphyrin-Zn ..	752	23	0.21	0.9	0.65
32	21. 10.	45.4	Dimethyl-mesohämin (80°) ..	744	17	2.01	1.22	0.84
33	21. 10.	33.3	Dimethyl-mesoporph.-Cu (80°) ..	744	17	1.42	1.13	0.84
34	22. 10.	39.3	Dimethyl-mesohämin (80°) ..	738	17	7.9	5.5	1.95
35	22. 10.	31.0	Dimethyl-mesoporph.-Cu (80°) ..	738	17	7.3	6.2	1.95
36	6. 10.	19.4	Pyrrol .....	751	15	7.59	1.1	1.5
37	6. 10.	9.7	" .....	751	15	3.10	0.9	1.5
38	6. 10.	74.5	C <sub>4</sub> NH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> *) .....	751	15	8.33	1.1	1.5
39	8. 10.	76.1	" .....	749	15	9.28	1.2	0.8
40	8. 10.	19.4	Pyrrol .....	749	15	7.38	1.0	0.8
41	15. 5.	32.0	Malonsäure-diäthylester .....	741	19	5.55	1.1	1.5
42	15. 5.	30.0	Malonsäure-diäthylester .....	741	19	5.15	1.1	0.9
43	6. 10.	53.9	Fluoren (80°) .....	751	17	1.15	0.14	1.5
44	6. 10.	40.0	Inden .....	751	17	1.27	0.15	1.5
45	19. 11.	43.0	Fluoren (80°) .....	742	16	0.22	0.03	0.8
46	19. 11.	51.2	Inden .....	742	16	0.18	0.02	0.8

\*) = 2,4-Dimethyl-3,5-dicarbäthoxyl-pyrrol.

Zeitraumes von 2—3 Stdn. vorgenommen, um Veränderungen in der Zusammensetzung des Reagens zu vermeiden. Daß Oxy-Hämin einen etwas geringeren Wert gibt als Cl-Hämin dürfte daran liegen, daß es bei der Darstellung leicht in das Oxy-Hämin-Anhydrid übergeht (Hamsik).

Darstellung von Cl-Hämin nach Schalfejew, von Oxy-Hämin nach Hamsik<sup>22)</sup>, von Dimethyl-hämin nach dem modifizierten Mörner-Küster-Verfahren<sup>23)</sup>, alle drei aus Rinderblut, mit Äther erschöpfend extrahiert.

### 3. Vergleich von Porphyrinen und ihren Metallverbindungen (Zirm, Vers. 18—35).

Die Versuche 18—24 zeigen, daß bei Eintritt des Metalls die Zahl der aktiven H-Atome um weniger als 1 abnimmt. Daß hier wie auch bei den anderen Versuchen nicht ganze Zahlen erhalten werden, liegt wohl daran, daß das Reagens im Laufe der Reaktion merklich geschwächt wird, so daß ein Teil des Substrates mit starkem, ein anderer Teil mit dem geschwächten Reagens reagiert.

Darstellung: Cl-Hämin (Schalfejew) nach Willstätter und M. Fischer<sup>24)</sup> hydriert, das so erhaltene Meso-hämin mit Methylalkohol und Dimethylsulfat verestert<sup>25)</sup> und das Dimethyl-mesohämin aus Pyridin-NaCl-Eisessig umgeschieden. Das Meso-hämin nach Fischer<sup>26)</sup> in Meso-porphyrin überführt, dieses durch Kochen mit essigsaurer Cu-Aacetat-Lösung in das Cu-Salz. Das Meso-porphyrin wurde wie oben methyliert, der Ester in möglichst wenig Pyridin gelöst und in heißen, 50 % Methylalkohol enthaltenden Eisessig gegossen. Zur Darstellung des Cu- bzw. Zn-Salzes war dem Eisessig vorher Cu- bzw. Zn-Aacetat zugesetzt worden. Der Ester, sowie das Cu- und Zn-Salz desselben wurden mit Essigsäure und Methylalkohol gewaschen, dann getrocknet. Feine, zu Büscheln vereinigte Nadelchen, braunrot (Ester), rosenrot (Cu-Salz), rotviolett (Zn-Salz).

Analysen. 12.1 (27.5) mg Dimethyl-mesoporphyrin = 3.86 (9.7) ccm  $n_{100}^{\text{D}}$ -AgNO<sub>3</sub> (Pregl-Kirpal-Bühn) = 4.8 (5.3) % CH<sub>3</sub>; ber. 5.1 %. — 24.0 mg Dimethyl-mesohämin = 7.05 ccm AgNO<sub>3</sub> = 4.4 % CH<sub>3</sub>; ber. 4.4 %. — 23.6 mg Cu-Salz des Esters = 7.05 ccm AgNO<sub>3</sub> = 4.6 % CH<sub>3</sub>; ber. 4.4 %. — 21.1 mg Zn-Salz des Esters = 5.70 ccm AgNO<sub>3</sub> = 4.0 % CH<sub>3</sub>; ber. 4.6 %. — 14.7 mg desselben = 1.68 mg ZnO = 11.4%; ber. 12.0 %.

### 4. Einwirkung von Grignard-Reagens verschiedener Stärke auf Pyrrole und Methylenverbindungen mit aktivem H-Atom (Zirm, Vers. 36—46).

Die untersuchten Verbindungen waren Präparate von Kahlbaum, die den richtigen Siedepunkt bzw. Schmelzpunkt aufwiesen. Nur das 2.4-Dimethyl-3.5-dicarbäthoxyl-pyrrol war von uns selbst nach Knorr<sup>27)</sup> bereitet worden. Fluoren reagierte auch bei 80° kaum. Grignard<sup>28)</sup> hat früher für Fluoren mit Äthyl-magnesiumbromid in Xylol volle Reaktion bei 135° gefunden.

<sup>22)</sup> A. Hamsik, Ztschr. physiol. Chem. **148**, 99 [1925].

<sup>23)</sup> F. Haurowitz, Ztschr. physiol. Chem. **173**, 118 [1928].

<sup>24)</sup> R. Willstätter und M. Fischer, a. a. O.

<sup>25)</sup> F. Haurowitz, Ztschr. physiol. Chem. **169**, 235 [1927].

<sup>26)</sup> H. Fischer und G. Hummel, Ztschr. physiol. Chem. **175**, 77 [1928].

<sup>27)</sup> L. Knorr, A. **236**, 319 [1886].

<sup>28)</sup> V. Grignard und C. Courtot, Comp. rend. Acad. Sciences **153**, 1493 [1911].

### 5. Einführung von Fe in Porphyrine (Haurowitz).

0.1 g Meso-porphyrin wurden in 5 ccm Valeriansäure gelöst, 0.2 ccm 2-n. HCl und 0.5 ccm 40-proz. NaOH zugefügt,  $\text{CO}_2$  durchgeleitet, dann 0.5 ccm 20-proz. Ferro-ammonium-sulfat zugefügt. Nach Sättigung mit  $\text{CO}_2$  wurde das Kölbchen an die Gasbürette angeschlossen und durch Ein-tauchen in ein Paraffinbad von 120° die Einführung des Fe bewirkt. Nach vollständiger Umwandlung des Porphyrins in Hämin (spektroskopische Kontrolle) wurde auf Zimmer-Temperatur abgekühlt. Es war kein Gas entwickelt worden. Nun wurde in Wasser gegossen, ausgeäthert, der Äther durch NaOH von Valeriansäure befreit und vorsichtig abdestilliert. Der verbleibende geringe, ölige Rückstand wog 5 mg, war geruchlos (kein Amylalkohol!), in Äther und Alkohol löslich, in Wasser unlöslich, reduzierte weder Fehlingsche, noch ammoniakalische Silbernitrat-Lösung, gab mit fuchsin-schwefeliger Säure keine Rotfärbung, mit Bisulfit keine Verbindung (Rücktitration mit  $n/100$ -Jodlösung) und mit Hydroxylamin kein Oxim.

### 6. Abspaltung von Fe aus Häminen (Haurowitz).

2.0 g Cl-Meso-hämin wurden nach H. Fischer<sup>29)</sup> mit 8 ccm konz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  verrieben, die Lösung auf Eis gegossen, mit NaOH unter Kühlung bis zur schwach kongosauren Reaktion versetzt und filtriert. Alle Manipulationen erfolgten in  $\text{CO}_2$ -Atmosphäre. Das Filtrat wurde auf 300 ccm verdünnt, davon 10 ccm direkt mit HCl und Rhodanammonium versetzt und colorimetrisch nach Willstätter<sup>30)</sup> 0.27 mg Fe gefunden; in 10 ccm wurde ferner nach Oxydation mit  $\text{HNO}_3$  die gleiche Bestimmung vorgenommen und 0.28 mg Fe bestimmt. Damit ist erwiesen, daß im Filtrat fast ausschließlich Ferri-Eisen vorlag. Dies ließ sich durch Titration mit  $\text{KMnO}_4$  bestätigen.

Das gleiche Ergebnis wurde bei Spaltung von 0.64 g Br-Meso-hämin nach Küster (a. a. O.) mit 20 ccm konz. HCl im Einschlußrohr bei 130° erhalten. Der Inhalt des Rohres wurde auf 100 ccm verdünnt, in  $\text{CO}_2$  filtriert und in je 5 ccm des Filtrates Fe vor und nach der Oxydation mit  $\text{HNO}_3$  mittelst Rhodanammoniums bestimmt. Wir fanden 0.075 bzw. 0.073 mg Fe. Es war also auch hier kein Ferro-Eisen gebildet worden. Das Resultat zeigt jedoch, daß die Spaltung unvollständig geblieben war, denn nur 29% des gesamten Fe fanden sich abgespalten im Filtrat.

<sup>29)</sup> H. Fischer und G. Hummel, a. a. O.

<sup>30)</sup> R. Willstätter, B. 53, 1152 [1920].