

# Ueber das Hämochromogen.

Von

**Dr. Richard von Zeynek.**

Mit drei Abbildungen.

---

(Aus dem physiologisch-chemischen Institute zu Tübingen.)

(Der Redaction zugegangen am 12. Juli 1893.)

---

Während das eisenhaltige Spaltungsprodukt des Oxyhämoglobins, das Hämatin, das sich aus jenem grossen Moleküle unter dem Einflusse von Säuren und Alkalien bildet, verhältnissmässig leicht zu isoliren und in fester Form zu gewinnen ist, lässt sich dasselbe noch nicht von dem analogen Spaltungsprodukte des Hämoglobins, das sein Entdecker Hoppe-Seyler Hämochromogen genannt hat, sagen.

Hoppe-Seyler<sup>1)</sup> hat wohl das Spectrum des in alkalischer Lösung befindlichen Hämochromogens, seine grosse Veränderlichkeit, namentlich seine auffallende Neigung, sich zu oxydiren und in saurer Lösung unter Abgabe von Eisen in Hämatoporphyrin überzugehen, genau beschrieben, desgleichen ausführlich einige Bedingungen, unter denen es entsteht. So gibt er z. B. an, dass man zur Darstellung des Hämochromogens entweder vom Hämoglobin ausgehen könne, da dieses beim Erhitzen mit Kalilauge im zugeschmolzenen Rohre allerdings Hämochromogen liefert, oder aber vom bereits fertigen Hämatin, als dessen Reductionsprodukt das Hämochromogen zu betrachten ist.

Die Isolirung des fraglichen Farbstoffs ist ihm indessen gerade wegen dessen erstaunlicher Empfindlichkeit gegenüber dem Sauerstoff und gegenüber Säuren niemals gelungen. —

Sollte eine Reindarstellung des Körpers überhaupt möglich werden, so schien es am zweckmässigsten, vom nächsten Ver-

---

<sup>1)</sup> Hoppe-Seyler, Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse, 6. Aufl., Berlin 1893, 214; ferner diese Zeitschrift XIII, S. 477.

wandten desselben auszugehen, d. h. also vom Hämatin. Es bedurfte dazu nur noch eines Reductionsmittels, das, wenn auch im Ueberschusse zu einer Hämatinlösung gefügt, sich doch leicht wieder beseitigen lässt, ohne eigene Zersetzungsprodukte zu hinterlassen, die das Hämochromogen schädigen oder verunreinigen könnten; und es bedurfte ferner wegen der ungeheuren Begierde des gelösten Hämochromogens, Sauerstoff aufzunehmen und sich damit wieder zu Hämatin zu oxydiren, besonderer Vorsichtsmaßregeln, um dem Sauerstoff jeglichen Zutritt zu seiner Lösung zu verwehren.

Ein für diesen Zweck geradezu ideales Reductionsmittel ist nach Hüfner's Beobachtungen das Hydrazinhydrat. Dasselbe bildet, mit alkalischer Hamatinlösung zusammengebracht, nahezu augenblicklich Hämochromogen und wird dabei selber in Wasser und freies Stickgas verwandelt.

Ich folgte gern der Aufforderung des Herrn Professor Hüfner, in dessen Laboratorium ich vergangenes Wintersemester arbeiten durfte, den Versuch zu machen, diese Beobachtung zur Darstellung und Isolirung des interessanten Körpers zu verwerthen.

Ich setzte mir namentlich vor: 1. zu entscheiden, ob das Hämochromogen in festem Zustande überhaupt existenzfähig ist, d. h. ob sich ein fester Körper isoliren und in trockenem Zustande unzersetzt aufbewahren lässt, der, bei Sauerstoffabschluss in alkalischer Flüssigkeit gelöst, wieder das gleiche Spectrum liefert wie die ursprüngliche Lösung, in der er durch Zusatz des Reductionsmittels unmittelbar entstanden war; 2. auf dem Wege der Verbrennungsanalyse zu ermitteln, welches die elementare Zusammensetzung des Farbstoffs ist.

Für die freundliche Anregung zu den im Folgenden beschriebenen Versuchen, wie für die lebenswürdige Förderung derselben, bitte ich Herrn Professor Hüfner auch an dieser Stelle, meinen verbindlichsten Dank entgegennehmen zu wollen.

Bekanntlich wurde das Hydrazin zur Reduction von Oxyhämoglobinlösungen zuerst von Curtius<sup>1)</sup> und zwar in der Form

1) Journal f. praktische Chemie (II). 39, 27.

des Sulfats empfohlen: erst einige Jahre später hat dann Hütner,<sup>1)</sup> um ein leichter lösliches Reagens zu benutzen und zugleich das Freiwerden von Schwefelsäure zu vermeiden, für den gleichen Zweck das Hydrat der Base angewandt, ein Präparat, von dem jetzt eine etwa 50%ige wässrige Lösung bereits im Handel zu haben ist.

Setzt man von diesem Reagens einen kleinen Ueberschuss zu einer Oxyhämoglobinlösung, so wird dadurch das Oxyhämoglobin zunächst allerdings zu freiem Hämoglobin reducirt: allein nach kurzer Zeit kann man bemerken, dass die schöne Purpurfarbe des Hämoglobins schon wieder einem neuen Farbton Platz gemacht hat: es ist dies mehr ein düsteres Kirschroth; und betrachtet man jetzt die Lösung durch das Spectroskop, so findet man in der That nicht mehr den breiten Absorptionsstreifen des Hämoglobins, sondern die beiden charakteristischen Streifen des Hämochromogens.

Glatt und auffallend rasch geht nach Zusatz von etwas Hydrazinhydrat eine ähnliche Reduction in einer ammoniakalischen Hämatinlösung vor sich. Unter Gasentwicklung und schwacher Erwärmung schlägt die braungrüne Farbe der Lösung in das erwähnte Kirschroth um, und nun enthält die Lösung ausser dem Hämochromogen nur noch Ammoniak und einen Ueberschuss von Hydrazinhydrat, beides Substanzen, die sich ohne Rückstand verflüchtigen lassen. Beim offenen Stehen an der Luft werden solche Lösungen bald wieder missfarbig, eine Erscheinung, die mit der Zurückverwandlung des Hämochromogens in Hämatin zusammenhängt: bleibt aber die Lösung sorgfältig vor dem Zutritt der atmosphärischen Luft bewahrt, so behält sie dauernd ihre kirschrothe Farbe und ist, wie es scheint, unbegrenzt haltbar.

Nun fand ich ferner, dass sich das Hämochromogen durch Zusatz eines Gemisches von Alkohol und Aether aus seiner Lösung auch ausfällen lässt und zwar so vollkommen, dass die über dem flockigen, etwa die Farbe des rothen Phosphors zeigenden Niederschlage befindliche Flüssigkeit völlig entfärbt

---

1) Archiv f. Anat. u. Physiologie 1894, Physiolog. Abth. S. 156.

erscheint. Man sieht daher, dass es jetzt nur noch darauf ankam, die Reduction in einem Apparate vorzunehmen, aus dem sorgfältig aller Sauerstoff entfernt und in welchem es ferner möglich ist, sowohl die Fällung des Reduktionsproduktes wie die Beseitigung des Lösungs- und des überschüssigen Reduktionsmittels, desgleichen auch des Aether-Alkoholgemisches, unter völliger Verhinderung des Luftzutritts zu bewerkstelligen.

Nach mehrfachen vergeblichen Versuchen, bei denen es sich immer als besonders schwierig erwies, die letzten Spuren von Wasser bei Zimmertemperatur zu entfernen, ohne die reducirte Substanz allzusehr der Gefahr einer Weiteroxydation auszusetzen, wurde ein Apparat construirt, der allerdings einigermaßen complicirt war, dafür aber den an ihm gestellten Anforderungen trefflich genügte.

Apparat und Anordnung des Versuchs seien durch nebenstehendes Schema erläutert. H stellt einen grossen Wasserstoffentwicklungsapparat vor und K, L, S drei mit Kaliumpermanganat (K),

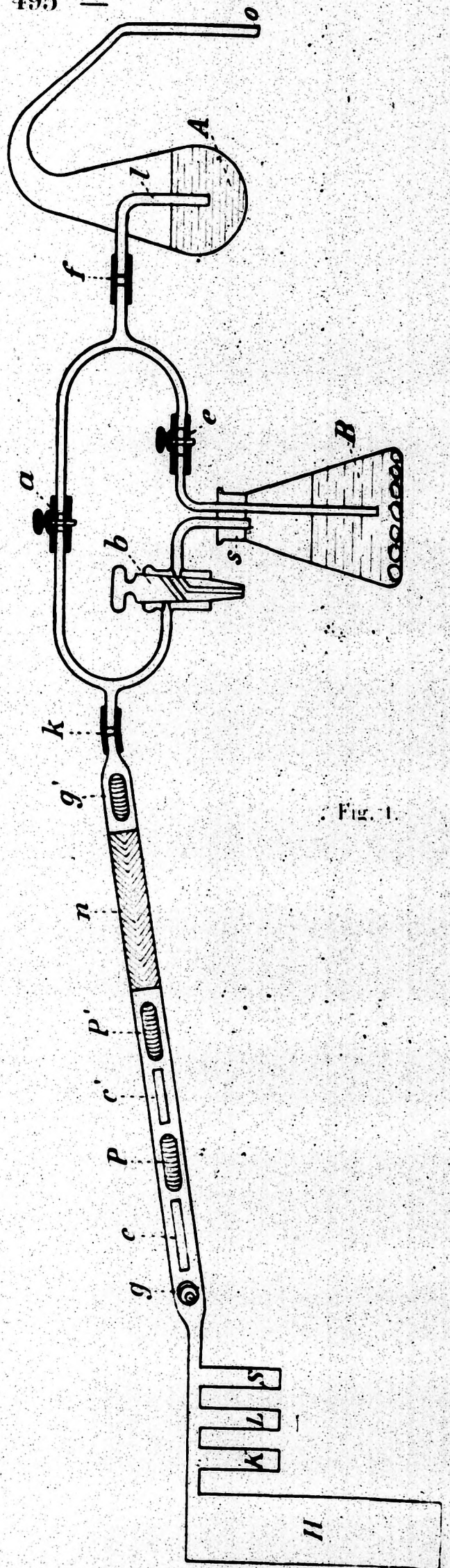


Fig. 1.

Natronlauge (L) und Schwefelsäure (S) gefüllte Waschflaschen, die der aus Zink und verdünnter Schwefelsäure entwickelte Wasserstoff nacheinander passiren musste, ehe er in das lange Verbrennungsrohr eintreten konnte, das mit zwei Glaswollpfropfen *g*, *g'*, mit den beiden Kupferspiralen *c*, *c'*, mit zwei Lagen Phosphorpentoxyd, *P* und *P'*, und endlich mit einer langen Schicht Natronkalk, *N*, beschickt war. Durch die Waschflaschen sollte das Gas zunächst von schädlichen Wasserstoffverbindungen, durch die Kupferspiralen, die durch untergesetzte Bunsenflammen zum Glühen gebracht wurden, von beigemengtem Sauerstoff, durch Phosphorpentoxyd vom gebildeten Wasser und durch den Natronkalk von etwa mitgerissenen sauren Produkten befreit werden.

An das Verbrennungsrohr war bei *K* mit Hülfe eines kurzen Kautschukschlauchs ein Gabelrohr angeschlossen, dessen einer Zweig, der den Zweiweghahn *b* trug, am Ende rechtwinklig umgebogen und luftdicht durch die eine Bohrung eines Kautschukstopfens, *s*, geführt war, der die Mündung des Kolbens *B* verschloss. Der andere Zweig war bei *a* mittelst eines dicken Kautschukrohres, das sich innerhalb einer Schraubenklemme befand, mit dem entsprechenden Zweige eines zweiten Gabelrohres verbunden. Das letztere nun stand bei *e* vermittelt eines kurzen, abermals mit einer Klemme versehenen Kautschukschlauches mit dem horizontalen Schenkel eines rechtwinklig gebogenen Glasrohres, dessen vertikales Stück durch die zweite Bohrung des Stopfens *s* bis nahe auf den Boden von *B* reichte, bei *f* aber ebenso mit einem Rohre in Verbindung, das, in die Wand der Retorte *A* eingeschmolzen, sich im Innern derselben bis einige Centimeter über dem Boden fortsetzte. Durch diese Anordnung konnte der Strom des gereinigten Wasserstoffs einmal direkt nach *A* geleitet werden, das andere Mal auf dem Umwege über *B*. — Dass allenthalben Kautschukschläuche zur Verbindung der einzelnen Glasteile dienen mussten, konnte Anfangs Bedenken erwecken: doch erwiesen sich hinterdrein alle Verbindungsstellen vollkommen sicher und vorwurfsfrei.

Die Retorte *A* diente zur Aufnahme der Hämatinlösung und des Hydrazinhydrats. Gewöhnlich wurde eine Lösung von

2 gr. Hämatin in einer möglichst geringen Menge (ca. 20 bis 30 ccm.) verdünnten wässerigen Ammoniaks neben 40 ccm. absoluten Alkohols, der vorher ausgekocht und mit einem kleinen Ueberschusse von Hydrazinhydrat versetzt worden war, in A eingesaugt, dessen Binnenraum etwa 300 ccm. betrug. Hatte man inzwischen das ganze Röhrensystem bis f mit reinem Wasserstoff gefüllt, so wurde nunmehr A dort angefügt und, während der ausgezogene Retortenhals bei o unter Quecksilber tauchte, auch alle über der Hämochromogenlösung, die bald entstanden war, befindliche Luft durch einen längeren Strom von reinem Wasserstoff verdrängt.

In dem Kolben B befand sich über blanken Natriumstücken ein grösserer Vorrath von Schwefeläther. Derselbe war vor dem Versuche vom Schwanzfortsatze des Zweiweghahnes b aus mittelst einer Saugpumpe ausgekocht worden. Wurde nun die Klemme a geschlossen, so konnte man durch geeignete Drehung von b auch Wasserstoff in den Kolben B eintreten lassen, und da das Steigrohr in B luftfrei war, so stieg der Aether, während der Wasserstoff in B eindrang, sogleich bis zur Klemme e. Zur Sicherheit wurde nun das Auspumpen des Aethers und die Füllung des Luftraumes in B mit Wasserstoff abwechselnd noch einige Male wiederholt, bis endlich nach Oeffnung von e die nöthige Aethermenge in die Retorte A hinüber gedrängt, hierauf e von Neuem geschlossen und die Verbindung von A mit dem Wasserstoffstrom über a wieder hergestellt werden konnte.

Nach einigen Stunden fand sich eine flockige rothe Masse auf dem Boden von A abgesetzt, während die überstehende Flüssigkeit nur noch wenig röthlich gefärbt erschien.

Nun wurde der Retortenhals bei o tiefer in Quecksilber eingetaucht, die Verbindung bei k gelöst, der Bauch der Retorte in heisses Wasser gesetzt und durch den Druck der im Innern entwickelten Dämpfe die Hauptmenge der über dem Niederschlage befindlichen Flüssigkeit durch das Rohr l hinausgetrieben. Nachdem sodann die Verbindung bei k wieder hergestellt und o wieder gehoben war, liess ich neuen Aether von B in A hinübertreten und später ebenso wieder durch l

entweichen, und diese Operation wurde so oft wiederholt, bis ich annehmen durfte, dass jede irgendwie nennenswerthe Wassermenge gleichzeitig mit dem Alkohol-Aether entfernt sei.

Nach der Entfernung der letzten Aetherreste wurde endlich der Quecksilberverschluss bei o beseitigt und die Substanz durch einen Strom reinen Wasserstoffs einige Stunden bei 30 bis 40° getrocknet.

Nach dieser Operation hatte die Substanz jedes Mal das Aussehen amorphem rothen Phosphors. Der austretende Wasserstoff roch jedoch stets noch schwach nach Ammoniak; auch war die fein vertheilte Masse noch ausserordentlich empfindlich gegen Luft, ein Zeichen, dass immer noch Spuren von Wasser zugegen waren.

Ich habe deshalb das Trocknen im Wasserstoffstrom noch etwa 1 Stunde länger fortgesetzt und zwar bei einer Temperatur bis zu 130°.

Dabei nahm die Masse eine mehr körnige Beschaffenheit an, und wenn sich gleich ihre Farbe mehr in braunroth umgewandelt hatte, konnte sie am Ende doch dreist an die Luft gebracht und eine Probe von ihr der Analyse unterworfen werden.

Solcher Präparate wurden verschiedene hergestellt und Proben davon haben zu den Analysen 1 bis 4 gedient, die weiter unten mitgetheilt sind.

Erst nachdem Versuche der beschriebenen Art mehrfach ausgeführt waren, machte ich die Beobachtung, dass alkoholisches Hydrazin mit Hämatin, das man in alkoholischer Ammoniaklösung suspendirt, gleichfalls Hämochromogen liefert. Macht man sich diese Beobachtung zu nutze, so ist von vornherein die lästige Beimengung des Wassers vermieden und die Darstellung des Körpers um ein Bedeutendes abgekürzt. Ein nach diesem letzteren Verfahren gewonnenes Präparat diene zu Analyse 5. —

Da der Farbenumschlag aus roth in braun, den die Präparate beim allmählichen Erhitzen im Wasserstoffstrom auf 130° erlitten, den Verdacht erwecken konnte, dass das ursprünglich reine Hämochromogen auf Kosten noch vor-

handener Spuren von Wasser theilweise wieder in Hämatin zurückverwandelt worden sei, so habe ich, um hierüber ins Klare zu kommen, jedes Mal ein einfaches experimentum crucis ausgeführt.

Wenn es nämlich gelang, etwas von dem Präparat unter Ausschluss von Luft in wässrigem Ammoniak zu lösen, so musste die Lösung, falls das Präparat noch intact war, wieder die Farbe und das Spectrum des reinen Hämochromogens zeigen.

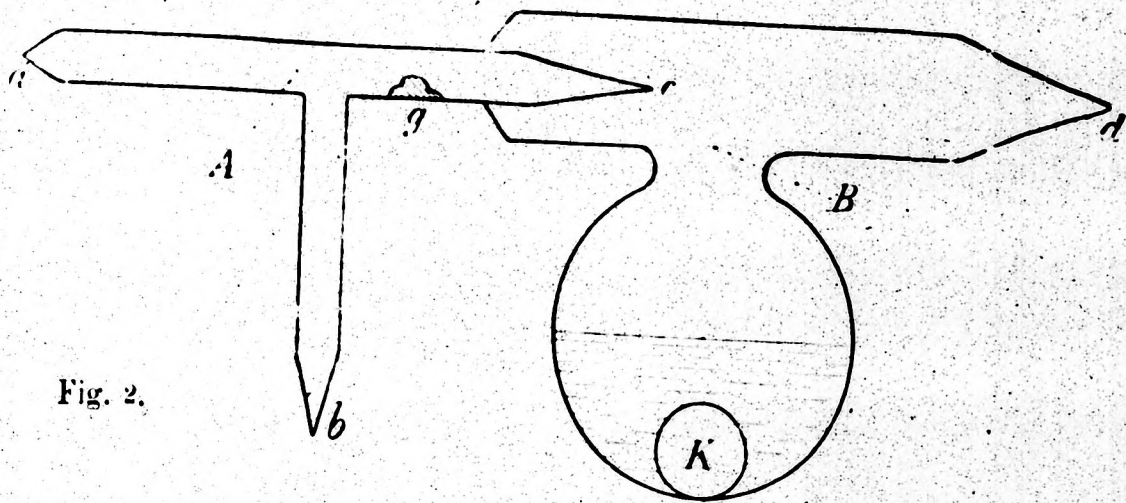


Fig. 2.

Dazu diente der kleine in Fig. 2 abgebildete Apparat, der aus 2 gläsernen Theilen, dem engen T-Rohr A und dem weiteren Kugelrohr B, so zusammengeschmolzen war, dass, wie aus der Zeichnung ersichtlich, die zugeschmolzene Spitze des T-Rohres, c, frei in das Kugelrohr hineinragte. Die zu prüfende Substanz befand sich vor dem entscheidenden Versuch im T-Rohre, etwa bei g, die Ammoniakflüssigkeit in der Kugel von B. A war nach der Beschickung mit Substanz durch einen anhaltenden Strom von trockenem Wasserstoff, der bei a ein- und bei b wieder austreten konnte, B aber durch längeres Kochen der Ammoniakflüssigkeit von aller Luft befreit und dann zugeschmolzen worden. Zertrümmerte man nun mit Hilfe der soliden Glaskugel K, die sich frei beweglich in B befand, die feine Spitze c, so konnte nachher leicht etwas Flüssigkeit aus B nach A hinübergeholt und die feste Substanz gelöst werden. Die gebildete Lösung zeigt in der That jedes Mal die eigenthümlich rothe Farbe und das charakteristische Spectrum des Hämochromogens.



## Resultate der Elementaranalysen.

### Kohlenstoff-, Wasserstoff- und Eisenbestimmung.

#### Präparat I.

0,1644 gr. Substanz gaben 0,3825 gr.  $\text{CO}_2$ , 0,0832 gr.  $\text{H}_2\text{O}$  und 0,0220 gr.  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ .

#### Präparat II.

0,2296 gr. Substanz gaben 0,5366 gr.  $\text{CO}_2$ , 0,1137 gr.  $\text{H}_2\text{O}$  und 0,0297 gr.  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ .

#### Präparat III.

0,2195 gr. Substanz gaben 0,5105 gr.  $\text{CO}_2$ , 0,1090 gr.  $\text{H}_2\text{O}$  und 0,0286 gr.  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ .

#### Präparat IV.

0,1621 gr. Substanz gaben 0,3803 gr.  $\text{CO}_2$ , 0,0880 gr.  $\text{H}_2\text{O}$  und 0,0219 gr.  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ .

#### Präparat V.

0,1688 gr. Substanz gaben 0,3971 gr.  $\text{CO}_2$  und 0,0855 gr.  $\text{H}_2\text{O}$ .

Das Eisenoxyd erwies sich in allen einzelnen Fällen als frei von Phosphorsäure.

Stickstoffbestimmungen (sämmtlich nach Dumas).

#### Präparat I.

0,3252 gr. Substanz lieferten 33,5 ccm. Stickgas von 12° und 742 mm. Quecksilberdruck.

#### Präparat II.

0,1527 gr. Substanz gaben 14,8 ccm. Stickgas von 10° und 745 mm. Quecksilberdruck.

#### Präparat III.

0,1820 gr. Substanz gaben 17,2 ccm. Stickgas von 10° und 741 mm. Quecksilberdruck.

#### Präparat IV.

0,1682 gr. Substanz gaben 17,0 ccm. Stickgas von 11° und 732 mm. Druck.

Hieraus ergeben sich folgende procentische Werthe:

	I.	II.	III.	IV.	V.	Mittel
C	63,44	63,72	63,83	63,99	64,16	63,83
H	5,62	5,50	5,52	6,02	5,63	5,66
Fe	9,37	9,06	9,11	9,46	—	9,25
N	11,93	11,37	11,03	11,60	—	11,48
O	—	—	—	—	—	9,78
						100,00

Bei Betrachtung der vorstehenden Resultate fällt vor Allem der hohe Stickstoffgehalt auf.

Will man diesen erklären, so ist dies nur durch die Annahme möglich, dass ich statt des Hämochromogens selbst seine Ammoniakverbindung isolirt und analysirt hatte. Ich brachte, um die Richtigkeit dieser Annahme zu prüfen, eine Probe eines der Präparate in ausgekochte Natronlauge und fand, dass ein über die Lösung gehaltenes feuchtes rothes Lakmuspapier in der That sofort gebläut wurde.

Bedauerlicher Weise differiren die bisher für das Hämatin selbst aufgestellten Formeln noch immer derart, dass in Folge dessen auch die Deutung der hier vorliegenden Resultate entsprechend erschwert ist.

Der folgenden Betrachtung ist die Nencki'sche Hämatin-formel zu Grunde gelegt.

Nimmt man an, dass das Molekül des Hämochromogens um 1 Atom Sauerstoff ärmer als das des Hämatins ist, so fordert das Hämochromogenammonium von der Formel  $C_{32}H_{35}FeN_5O_3$  folgende procentische Zusammensetzung gegenüber der gefundenen:

	gefordert:	gefunden:
C <sub>32</sub>	64.76 %	63.83 %
H <sub>35</sub>	5.90 %	5.66 %
Fe	9.44 %	9.25 %
N <sub>5</sub>	11.80 %	11.48 %
O <sub>3</sub>	8.09 %	9.78 %

Die gefundenen Procentzahlen zeigen, dass diese Annahme für meine Substanz nicht zutrifft. Nimmt man dagegen an, dass bei der Reduktion des Hämatins zu Hämochromogen der Verlust an Sauerstoff nicht 1 Atom des letzteren auf je 1 Molekül Hämatin, sondern 1 Atom Sauerstoff auf 2 Moleküle Hämatin beträgt, dass ferner das so entstandene Reductionsprodukt aus 2 Hämatinresten besteht, die etwa noch durch 1 Atom Sauerstoff zusammengehalten werden, so wird, wie die nachstehende Zusammenstellung zeigt, die Uebereinstimmung der gefundenen mit den geforderten Zahlen eine recht befriedigende:

Nach Formel  $C_{64}H_{70}Fe_2N_{10}O_7$ :

	Gefordert :	Gefunden :
$C_{64}$ . . . . .	63,89 %	63,83 %
$H_{70}$ . . . . .	5,82 %	5,66 %
$Fe_2$ . . . . .	9,25 %	9,25 %
$N_{10}$ . . . . .	11,65 %	11,47 %
$O_7$ . . . . .	9,25 %	9,78 %
	<hr/> 100,00 %	<hr/> 100,00 %

Zum Vergleiche sei hier noch die procentische Zusammensetzung des Hämatinammoniums mitgetheilt, die aus der Formel  $C_{32}H_{35}FeN_5O_4$  berechnet ist.

$C_{32}$ . . . . .	63,05 %
$H_{35}$ . . . . .	5,75 %
$Fe$ . . . . .	9,20 %
$N_5$ . . . . .	11,49 %
$O_4$ . . . . .	10,51 %
	<hr/> 100,00 %

Eine weitergehende Discussion der hier mitgetheilten analytischen Resultate kann natürlich erst dann zu einem sicheren Schlusse führen, wenn eine definitive Hämatinformel vorliegen wird.

Das für die beschriebenen Versuche benutzte Hämatin war aus Hämin gewonnen, das ich mir selbst nach der von Schallejew<sup>1)</sup> angegebenen Methode zum Theil direkt aus Rinderblut, zum Theil aus Oxyhämoglobinkrystallen vom Rinde selber dargestellt hatte. Bei der Verwendung des letzteren Materials wurde eine gute Ausbeute an Hämin erhalten, wenn die Blutkrystalle mit 0,6%iger Kochsalzlösung erst zu einem Brei angerieben und dieser dann mit der nämlichen Salzlösung so weit verdünnt wurde, dass der Hämoglobingehalt der Lösung etwa dem des sonst verwendeten Blutes gleichkam.

1) Ber. d. deutsch. chem. Ges. 18. 232 Ref.

Das so gewonnene Hämin sah unter dem Mikroskope vollkommen einheitlich aus;<sup>1)</sup> doch wurde es noch wiederholt durch Decantation mit destillirtem Wasser gewaschen. Zur Darstellung von Hämatin wurde es bei Zimmertemperatur in einer Stöpselflasche mit verdünnter Natronlauge gelöst, dann filtrirt und das Filtrat mit verdünnter Schwefelsäure versetzt. Der dadurch erzeugte voluminöse Niederschlag wurde auf einem Filter gesammelt, mit heissem Wasser bis zum Verschwinden der sauren Reaction ausgewaschen und vor der Pumpe möglichst trocken gesaugt. Zum Schlusse wurde das Präparat bei 105—107° im Toluolbade und im Wasserstoffstrome getrocknet.

Die Elementaranalyse lieferte folgende Resultate:

- 1) 0,2072 gr. Substanz gaben 0,4934 gr. CO<sub>2</sub>, 0,0971 gr. H<sub>2</sub>O und 0,0280 gr. Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.<sup>2)</sup>
- 2) 0,3022 gr. Substanz gaben 22,1 ccm. Stickstoff bei 8,5° und 736,4 mm. Druck.
- 3) 0,2158 gr. Substanz gaben 0,5106 gr. CO<sub>2</sub>, 0,1028 gr. H<sub>2</sub>O und 0,0274 gr. Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.<sup>2)</sup>
- 4) 0,2400 gr. Substanz gaben 20,1 ccm. Stickgas bei 11° und 732 mm. Druck.

Hieraus berechnen sich folgende procentische Werthe:

	I.	II.	III.	IV.	Mittel.	Berechnet nach Nencki.
C	64,96%	—	64,53%	—	64,75%	64,86%
H	5,21 »	—	5,29 »	—	5,25 »	5,40 »
Fe	9,46 »	—	8,88 »	—	9,17 »	9,46 »
N	—	8,53%	—	9,61 »	9,07 »	9,46 »
O	—	—	—	—	11,76 »	10,82 »
					100,00%	100,00%

1) Nachdem sich die Hauptmenge des Hämins aus der essigsäuren Lösung abgesetzt hatte, versuchte ich es in einigen Fällen, den noch suspendirten Rest durch Verdünnen der Lösung mit Wasser schneller zum Sinken zu bringen. Dabei schied sich an der Oberfläche der Flüssigkeit eine weisse atlasglänzende Masse ab, die aus mikroskopisch kleinen farblosen Nadeln bestand. Dieselben gaben intensive Cholesterinreactionen und stellen vielleicht einen Essigsäurecholesterinester vor. Eine nähere Untersuchung dieser Masse steht noch aus.

2) Ich bemerke, dass auch hier das rückständige Eisenoxyd frei von Phosphorsäure war.

Wird eine ammoniakalische Hämochromogenlösung mit verdünnter Essigsäure neutralisirt, so erhält man eine flockige braunrothe Fällung, die, von ihrer Farbe abgesehen, dem auf gleiche Weise erhaltenen Hämatinniederschlage ähnelt. Beide Niederschläge sind so voluminös, dass wenige Gramme Substanz leicht die 10fache Gewichtsmenge vortäuschen können. Dieselbe Erfahrung hatte ich auch mit dem Niederschlage gemacht, der in einer Hämochromogenlösung durch Zusatz von Alkohol-Aether erzeugt worden war.

Eine Abspaltung von Eisen unter Bildung von Hämatoporphyrin konnte ich bei der Neutralisation mit Essigsäure nicht beobachten: im Gegentheil zeigte die Lösung, die nach Zusatz von Ammoniak oder Lauge von Neuem auftrat, wieder deutlich das Spectrum des Hämochromogens. Indessen haben meine Versuche, auf Grund dieser Beobachtungen das freie Hämochromogen zu isoliren, bisher noch zu keinem befriedigenden Resultate geführt. Sie sollen aber fortgesetzt werden, ebenso wie andere Versuche, die den Zweck hatten, Verbindungen des Hämochromogens mit Metallen darzustellen.

Es ist bemerkenswerth, dass ich bei allen Versuchen, das Hämatin mit Hydrazinhydrat zu reduciren, als einziges Reductionsprodukt bisher immer nur Hämochromogen erhalten habe, so dass es scheint, als ob die Wirkung des Hydrazins mit der Bildung des Hämochromogens zu Ende sei.

Anders verhalten sich dagegen Lösungen des Oxyhämoglobins und des Methämoglobins. Diese beiden werden durch einen Ueberschuss des Reagens noch weiter zerstört. Nachdem, wie sich mit dem Spectroskope verfolgen lässt, in beiden Fällen zuerst Hämoglobin, dann Hämochromogen gebildet worden, tritt nach einiger Zeit — in einem Zwischenstadium hat die Flüssigkeit die Farbe faulen Fleisches — eine fast vollständige Entfärbung ein. Es müssen sich also während der Loslösung der Farbstoffgruppe vom Eiweiss an dem farbigen Complexe noch andere Angriffspunkte für das Reagens bieten, als am bereits fertigen und vollständig isolirten Hämatin — Angriffspunkte, von denen aus eine tiefere Zerstörung des Farbstoffs möglich ist.

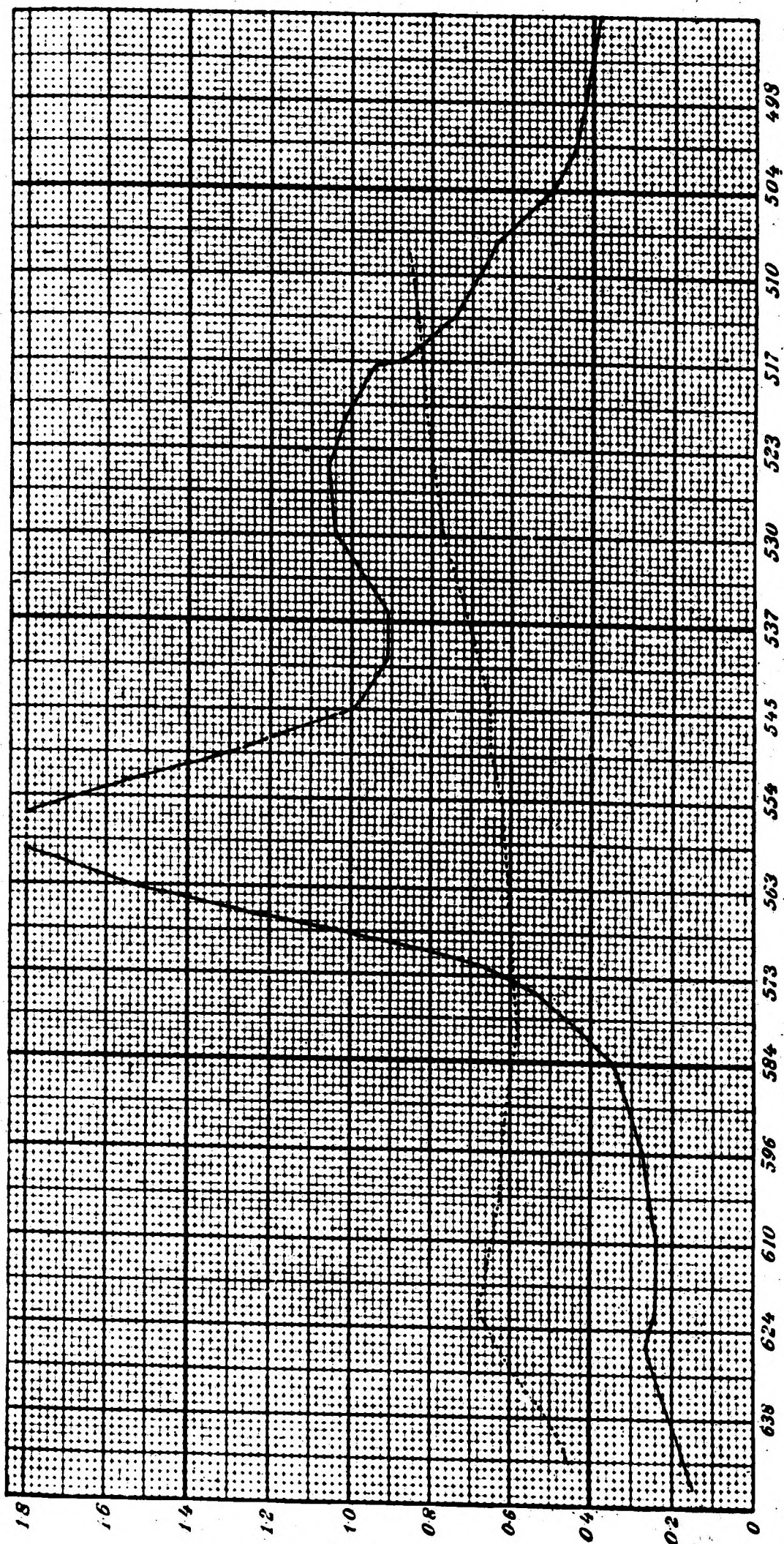


Fig. 3.

**Spectralerscheinungen.** Schon Hoppe-Seyler hat darauf aufmerksam gemacht, dass das Spectrum des Hämochromogens auch noch bei grosser Verdünnung seiner Lösungen erkennbar ist. Der Unterschied im Lichtabsorptionsvermögen ist namentlich zwischen gleich concentrirten Lösungen von Hämatin und Hämochromogen sehr gross. In beistehender Zeichnung 3 gibt die ausgezogene Curve die Lichtextinction einer etwa 0,0082<sup>o</sup>/oigen ammoniakalischen Hämochromogenlösung, die punktirte diejenige einer gleich concentrirten Hämatinlösung; und zwar sind als Abscissen die Wellenlängen des Lichts, als Ordinaten die entsprechenden Extinctionscoefficienten aufgetragen. Trotz der bedeutenden Verdünnung ist an der dunkelsten Stelle des Hämochromogenspectrum beinahe schon jenes Maximum der Lichtauslöschung erreicht, das spectrophotometrisch zu messen eben gerade noch möglich ist.

Eine sorgfältige Bestimmung der optischen Constanten des Hämochromogens dürfte es möglich machen, auf indirektem Wege den Eisengehalt des Blutfarbstoffs (Hämoglobins) genauer festzustellen, als dies bisher durch Veraschung möglich war.

Das Princip der Methode möge kurz angedeutet werden.

Man zersetzt eine Blutfarbstofflösung, deren Hämoglobingehalt vorher genau ermittelt ist, nach Schalfejew, neutralisirt und löst das gebildete Hämatin mit Ammoniak, nimmt von dieser Lösung einen abgemessenen Theil und wandelt das darin enthaltene Hämatin durch Zusatz von Hydrazin in Hämochromogen um. Unter Berücksichtigung der vorgenommenen Verdünnungen berechnet man den Eisengehalt der ursprünglichen Hämoglobinlösung aus dem bekannten Eisengehalte des Hämochromogens, dessen Menge in der letzten Lösung sich photometrisch genau bestimmen lässt.

Neben der grösseren Genauigkeit böte diese Methode den weiteren Vorthail, dass dabei zufällige Beimischungen fremden Eisens auf das Resultat ohne allen Einfluss wären.