

Spaltungsprodukte des Hämatins.

Von

William Küster.

(Mittheilung aus dem physiol. chem. Institute zu Tübingen; die Untersuchungen sind mit Unterstützung des Elizabeth-Thompson Science Fund in Boston ausgeführt worden.)

(Der Redaction zugegangen am 21. Juni 1899.)

Die Hauptresultate der Untersuchung nebst theoretischen Schlussfolgerungen.

Meine bisherigen Arbeiten bezüglich der Spaltung, welche in Eisessig gelöstes Hämatin durch Natriumdichromat erleidet, hatten ergeben, dass im Wesentlichen gut krystallisirende, wasser- und aetherlösliche Producte neben einem nur in Alkalien löslichen, amorphen Körper entstehen, der noch eisenhaltig ist. Die besten Ausbeuten an beiden erhielt ich bei Verwendung einer Menge des Oxydationsmittels, welche 12 Atomen Sauerstoff auf die Molekel Hämatin entspricht, und zwar 33 resp. 30% vom Ausgangsmaterial.¹⁾

Wie ich zeigte, bestehen die ätherlöslichen Produkte — neben geringen Mengen von auch aus alkalischer Lösung in Aether übergehenden Körpern — aus einem Gemische von Säuren, unter denen zwei in wechselnden Mengen vorwalten. Für letztere wurde die empirische Zusammensetzung als durch die Formeln $C_8H_9NO_4$ und $C_8H_8O_5$ gegeben ermittelt. Und zwar geht die erstere bei der Einwirkung von Alkalien unter Abspaltung von Ammoniak glatt in die letztere über.²⁾ Sie

1) Beiträge z. K. d. Hämatins. Tübingen 1896 bei F. Pietzker, sowie Ber. 29, 821.

2) cf. Ber. 32, 677 und die folgende Mittheilung.

wurden einstweilen zweibasische Hämatinsäure¹⁾ und Anhydrid der dreibasischen Hämatinsäure genannt, in Ermangelung jeglichen Anhaltspunktes für ihre Constitution.

Mit diesen Produkten schien aber die Reihe der Spaltungsstücke schwerlich erschöpft zu sein, wenn auch durch einige Aenderungen in den Arbeitsmethoden die Ausbeute an den Säuren bis auf 40% vom verwendeten Hämatin gesteigert wurde. Ich habe daher — z. T. in Gemeinschaft mit Herrn Kölle — weitere Versuche angestellt, bei denen die Ermittlung andersartiger Oxydationsprodukte angestrebt wurde. Um diesen Zweck zu erreichen, mussten naturgemäss die Bedingungen bei der Oxydation gewechselt werden, sowohl was Menge und Art des oxydirenden Mittels, als was die Reaction des lösenden Mittels betraf.

Die Resultate dieser Untersuchungen, welche in Bezug auf weitere organische Spaltungsprodukte meist negativ waren und daher auch die schon gewonnenen Kenntnisse nur in wenigen Punkten erweitern, seien zunächst kurz zusammengestellt.

Als Ausgangsmaterial diente Hämin, das theils nach der Vorschrift Schalfejew's,²⁾ theils nach Nencki's Verfahren³⁾ hergestellt wurde. Die erste Methode gibt recht gute Ausbeuten (3 gr. bis 4.5 gr. pro Liter Blut) und ist daher namentlich dann zu empfehlen, wenn die Menge des betreffenden Bluts eine beschränkte ist.

Was die zweite Methode betrifft, so zeigte ich ja schon früher,⁴⁾ dass noch bessere Ausbeuten, als Nencki angibt, erhalten werden, sobald zur Extraction des schärfer getrockneten Blutpulvers der gebrauchte Isoamylalkohol von früheren Versuchen wieder verwendet wird. Es wird dann allerdings nicht mehr reines Hämin $C_{32}H_{31}ClN_4FeO_3$ erhalten, sondern es

1) Auf Grund der Analyse des Silbersalzes, welches zwei Atome Metall enthält; die Titration mit Ammoniak ergab später, dass $C_8H_9NO_4$ einbasisch ist.

2) Ber. 18. 232 c.

3) Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmak. XVIII. 401.

4) l. c. S. 15.

entstehen Produkte, die weit ärmer an Chlor sind, als es obige Formel verlangt. Dabei sind auch diese «Hämine» noch gut krystallisirende Körper, und aus den Resultaten der Analysen möchte man schliessen, es habe eine Abspaltung von Chlorwasserstoff stattgefunden. Nur vereinigen sich diese Produkte nicht etwa wieder mit Salzsäure zum Hämin p. e.¹⁾

Um aber zu prüfen, ob ein um die Elemente der Salzsäure ärmerer Körper $C_{32}H_{30}N_4FeO_3$ herzustellen sei, wurde in einer Reihe von Versuchen reines «Hämin» mit Anilin in Reaction gebracht, welcher Körper ja z. B. aus Bornylechlorid HCl abspaltet.²⁾ Leider wurde bisher kein reines Product erhalten: das Anilin scheint in verschiedenem Sinne zu wirken, indem theils Chlorwasserstoff abgespalten, theils Chlor durch die Gruppe NHC_6H_5 ersetzt wird: und bei höherer Temperatur wird auch Eisen herausgelöst.

Die Ueberführung des Hämins in Hämatin wird bekanntlich durch Alkalien bewirkt, der Process ist nach Nencki so aufzufassen, dass ein Ersatz von Chlor durch Hydroxyl stattfindet. Demgemäss wird dem Hämatin die Formel $C_{32}H_{32}N_4FeO_4$ zugeschrieben.

Mir war es nun früher nie geglückt, Analysenresultate zu erhalten, welche mit obiger Formel harmonirten: immer fielen die Werthe für Kohlenstoff, oft auch die für Wasserstoff zu niedrig aus, so dass ich mich zu der Aeusserung veranlasst fand, die Ueberführung von Hämin in Hämatin dürfte glatt nicht unter jeder Bedingung vor sich gehen.³⁾

Nun hat neuerdings⁴⁾ Bialobrzkeski die Methode genauer angegeben, welche reines Hämatin liefert, und nach dieser

1) Auch ist noch von keinem Forscher ein Körper dargestellt worden, der solche Eigenschaften besässe: trotzdem wird immer noch das «Hämin» als «salzsaures Hämatin» oder salzsaures Hämin bezeichnet und Hämin ein um HCl ärmerer Körper genannt, den es gar nicht gibt. Cf. z. B. Jolles, Wiener klin. Rundschau 1899, Heft 14/16, 5. dessen Ansicht, dass man von einer Constitution bei so hochmolekulären Complexen nicht sprechen könne, ich durchaus nicht theilen kann.

2) Ann. 230, 233. Ber. 25, 916.

3) Ber. 29, 823.

4) Ber. 29, 2846.

arbeitend, gelang es R. v. Zeynek,¹⁾ im hiesigen Institute ein Hämatin darzustellen, das bei der Analyse mit Nencki's Formel übereinstimmende Werthe ergab. In der That ist es nothwendig, bei der Einwirkung des Alkalis Zimmertemperatur einzuhalten: wie aus meinen Analysen hervorgeht, werden sonst für Kohlen- und Wasserstoff zu niedrige Werthe erhalten, während die für Stickstoff und Eisen sich nicht ändern.²⁾ Diese Thatsache, die allerdings erst an einem nach Schalfejew dargestellten Häminpräparate beobachtet wurde, verdient, sollte sie sich durchweg bestätigen, Interesse. Denn sie spräche dafür, dass bei längerer Einwirkung von Alkali, namentlich in der Wärme, eine Aufnahme von Sauerstoff und — gegen meine Erwartung — nicht eine Abspaltung von Stickstoff, sondern eine solche einer Kohlen- und Wasserstoff haltenden Gruppe eintritt.

Die aus dem mit gebrauchtem Amylalkohol dargestellten Hämin gewonnenen Hämatinpräparate wurden nicht analysirt.

Ueberhaupt kam zu den später beschriebenen Oxydationsversuchen meist ein Material zur Verwendung, dessen Reinigung nur durch mehrmaliges Behandeln mit verdünnter Salzsäure bewirkt worden war. Es ist daher nicht unmöglich, dass die wechselnden Ausbeuten an den Hämatinsäuren, sowie das Vorwiegen der einen oder der andern, ferner die wechselnde Zusammensetzung des eisenhaltigen Körpers, das Auftreten einer geringen Menge von Nebenprodukten auf Veränderungen zurückzuführen sind, die das «Hämin» vielleicht schon während der Darstellung, vielleicht auch bei der Ueberführung in Hämatin erlitten hat. Eine wesentliche Bedeutung kann ihnen indessen nicht zukommen, denn die Säuren $C_8H_9NO_4$ oder $C_8H_8O_5$ waren immer vorhanden und bildeten stets die Hauptmenge der ätherlöslichen Theile.

Andere Verfahren zur Darstellung von «Hämin»³⁾ konnten

1) Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. XXV, S. 503.

2) Neuerdings will Cazeneuve sogar eine Einwirkung von kochendem Wasser auf Hämatin beobachtet haben. Bull. de la soc. chim. de Paris [3] 21. 372.

3) Gloëtta, Arch. f. exp. Path. u. Pharmak. 36, 349.

Rosenfeld, ibid. 40. 137.

für mich nicht in Frage kommen, da sie zu geringe Ausbeuten geben. Es wäre allerdings interessant, auch solche Hämine, welche nach den Analysen Cloëtta's und Rosenfeld's nur drei Stickstoffatome im Molekül enthalten, nach meiner Methode zu oxydiren, um zu erfahren, ob sie noch den «Hämatinsäuren» liefernden Kern enthalten. Was die Mörner'sche¹⁾ Methode anbelangt, so habe ich leider seine guten Ausbeuten von 3 bis 3.5 gr. pro Liter Blut trotz vieler Versuche nie erreichen können.

Um nun die Spaltungsprodukte des Hämatins — womöglich auch der Menge nach — feststellen zu können, wurde die Oxydation theils in saurer, theils in alkalischer Lösung vorgenommen.

A. Oxydation des Hämatins in eisessigsaurer Lösung mit Natriumdichromat bezw. Calciumchromat.

a) In eisessigsaurer Lösung nimmt eine Molekel Hämatin bei Zimmertemperatur in kurzer Zeit 8 Atome Sauerstoff auf, welche ihr in Form von Natriumdichromat in wässriger Lösung geboten werden. Schon hierbei tritt eine wesentliche Spaltung ein, denn es konnten ca. 14% ätherlösliche Säure²⁾ neben einem dem Hämatin sehr ähnlichen Körper erhalten werden. Letzterer lieferte bei weiterer Oxydation in alkalischer Lösung durch Kaliumpermanganat noch reichliche Mengen derselben ätherlöslichen Säure von der Formel $C_8H_8O_5$.

b) 12 Atome Sauerstoff werden bei Zimmertemperatur nur während wochenlangen Stehens, rascher, d. h. in ca. einem Tage, beim Erwärmen auf 50—60° aufgenommen.

Die Spaltung der Hämatinmolekel ist eine vollständige, es können bis zu 40% derselben an ätherlöslichen Produkten, und ca. 40% des eisenhaltigen, nur in Alkalien löslichen Körpers, welcher bei verschiedenen Versuchen wechselnde Zusammensetzung zeigt, gewonnen werden. Ausserdem wird Kohlendioxyd abgespalten, allerdings nur in ganz geringer Menge. Sie betrug

1) Sonderabdruck aus dem Nordiskt Medicinskt Arkiv. Festband Nr. I, S. 3.

2) Sie bestand bei diesem Versuche zum grössten Theil aus $C_8H_8O_5$.

bei mehreren Bestimmungen $\frac{1}{60}$, $\frac{1}{40}$ und $\frac{1}{53}$ des in der verwendeten Hämatinmenge vorhandenen Kohlenstoffs.

Flüchtige Säuren, reducirend wirkende Körper oder neutrale flüchtige Stoffe liessen sich nicht auffinden, desgl. waren organische Basen nicht nachweisbar. Dagegen wurde Ammoniak manchmal in reichlicher Menge abgespalten, und zwar betrug die Quantität des in Ammoniak übergeführten Stickstoffs $\frac{1}{11}$ bis $\frac{3}{7}$ des im verwendeten Hämatin vorhandenen.

Gewöhnlich herrschte dann in den Fällen, welche viel Ammoniak ergaben, unter den ätherlöslichen Säuren der Körper $C_8H_8O_5$ gegenüber $C_8H_9NO_4$ vor, welches letzterer also nicht nur unter der Einwirkung von Alkalien Ammoniak abspaltet, was ja, wie schon erwähnt, ausserordentlich leicht geschieht, sondern unter bestimmten Bedingungen auch schon während der in saurer Lösung verlaufenden Hydrolyse, welche sicher neben der Oxydation einhergeht.

Durch weitere Oxydation des erwähnten eisenhaltigen Produkts mit Kaliumpermanganat in alkalischer Lösung konnten endlich von Herrn Kölle allerdings nur geringe Mengen von $C_8H_8O_5$ erhalten werden.

Um bei der Aufarbeitung der Oxydationsrückstände nicht auf Natriumsalze zu stossen, wurde neuerdings bei mehreren Versuchen der Sauerstoff in Form von Calciumchromat zugeführt. Der Verlauf der Oxydation, sowie Art und Menge der wesentlichen Produkte wichen hierbei von den früheren Ergebnissen nicht ab. Es sei aber erwähnt, dass die anfänglich aus saurer, bei der Reinigung der Rohsäuren aber aus alkalischer Lösung in den Aether übergehenden Theile, deutlichen Geruch nach Pyridin¹⁾ aufwiesen. Leider reichte die geringfügige Menge nicht zu eingehender Untersuchung aus.

Nach möglichster Entfernung aller anorganischen Salze liessen sich aber auch jetzt weitere Spaltungsprodukte nicht nachweisen.

1) Das betreffende Hämin war nach Schalfew's Methode gewonnen, sonst würde das Auftreten von Pyridingeruch nichts beweisen, da ja der Amylalkohol solche Basen enthält.

cf. Bamberger und Einhorn. Ber. 30. 224.

c) 20—22 Atome Sauerstoff werden nur bei 2—3 tägigem Erhitzen im siedenden Wasserbade aufgenommen. Die Ausbeute an ätherlöslichen Produkten steigt bis auf ca. 48% vom verwendeten Hämatin, die näheren Bestandtheile derselben sind von gleicher Art wie bei Verwendung von 12 Atomen. Der eisenhaltige Körper verschwindet fast völlig, und zwar scheint ein grosser Theil des in ihm enthaltenen Kohlenstoffs verbrannt zu werden. Wenigstens konnten bis 9,2% vom Gesamtkohlenstoff als Kohlendioxyd nachgewiesen werden.

Die Abspaltung von Ammoniak bewegt sich in den früher beschriebenen Grenzen.

Andere Produkte konnten bis jetzt nicht gefasst werden; Spuren organischer Substanz, die sich als stickstofffrei erwies, wurden bei Verwendung von Calciumchromat nach möglichster Entfernung aller Salze durch absoluten Alkohol extrahirt.

B. *Oxydation des Hämatins in alkalischer Lösung.*

a) Oxydationsmittel: Ferricyankalium.

Bei der Oxydation des in starker Kalllauge gelösten Hämatins durch Ferricyankalium entsteht ebenfalls $C_8H_8O_5$, wenn auch in recht geringer Menge; bei Verwendung von 8 Atomen Sauerstoff wurde sogar etwas mehr davon als bei 12 Atomen erhalten. Daneben bildet sich ein dem Hämatin recht ähnlicher Körper, der bei weiterer Oxydation mit Ferricyankalium auch weitere Mengen $C_8H_8O_5$ lieferte.

Flüchtige organische Säuren konnten nicht nachgewiesen werden. Das Eisen scheidet sich als Oxyd ab.

b) Oxydationsmittel: Ammoniumpersulfat.

Die Einwirkung dieses Salzes auf in Natronlauge gelöstes Hämatin wurde so weit getrieben, dass sich die stets alkalisch zu haltende Lösung fast entfärbte. Hierbei scheidet sich schliesslich das Eisen als Oxyd ab, flüchtige Säuren scheinen in geringer Menge aufzutreten: während der Oxydation, welche durch Erwärmen auf dem Wasserbade unterstützt wurde, machte sich neben dem Ammoniak ein schwacher Geruch nach Blausäure bemerkbar.

Auch hier entstehen endlich ätherlösliche Säuren, unter ihnen eine stickstofffreie, welche nach allen Reactionen als Bernsteinsäure angesprochen werden darf.

C. Oxydation von Hämatoporphyrin.¹⁾

Das von Nencki aufgefundenene eisenfreie Hämatoporphyrin $C_{16}H_{18}N_2O_3$ ²⁾ liefert in Eisessig gelöst bei der Oxydation mit Natriumdichromat die gleichen ätherlöslichen Säuren wie das Hämatin. Bemerkenswerth ist, dass die Oxydation langsamer vorschreitet und schon die Aufnahme von 5 Sauerstoffatomen nur durch Erhitzen auf dem Wasserbade erreicht werden kann. Es ist daher nicht unmöglich, dass das im Hämatin enthaltene Eisen eine beschleunigende Wirkung auf den Verlauf der Oxydation ausübt, wie denn auch Fenton³⁾ den gleichen Einfluss von Ferrosalzen bei der Oxydation mehrwerthiger Alkohole beobachtet hat.

Ausser den Säuren wurden Kohlendioxyd und Ammoniak als Spaltungsprodukte nachgewiesen, ein wesentlicher Theil vom Hämatoporphyrin bleibt schliesslich als ein nur in Alkalien lösliches Produkt übrig, welches aber noch nicht näher untersucht wurde.

Schlussfolgerungen.

Nehmen wir an, das Hämatin sei ein einheitlicher Körper und der Uebergang in Nencki's Hämatoporphyrin $C_{32}H_{32}N_4FeO_4 + 2H_2O - Fe = 2C_{16}H_{18}N_2O_3$ verlaufe quantitativ, so folgt, dass das Hämatin symmetrisch gebaut sein muss, d. h. es besteht aus zwei einander gleichen Theilen, welche durch das Eisen zusammengehalten werden. Da nun das Hämatin und das Hämatoporphyrin bei der mit Hydrolyse ver-

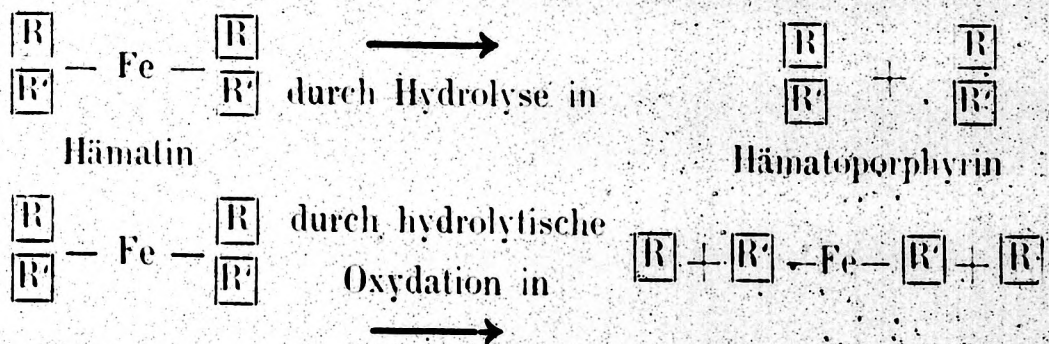
1) Die experimentellen Belege finden sich in der folgenden Arbeit.

2) Arch. f. exp. Path. u. Pharmak. 24, 430.

3) Proceedings of the chem. Soc. 97/98, X. 194, 119/20. 98/99 N. 200-240. Ref. C. B. 98/1 16, 99/1 249; cf. auch Cross Bevan u. Smith Proc. chem. Soc. 97/98 194, 115. Ref. C. B. 98/1 19, und Morell, Crofts u. Smith Proc. chem. Soc. 15. 99, Ref. C. B. 99/1 1160.

bindenen Oxydation dieselben Säuren und auch eine gleiche Menge derselben geben, die Säuren ferner 8 Atome Kohlenstoff im Molekül enthalten (wie durch Molekulargewichtsbestimmung sicher bewiesen wurde), so zerfällt also auch das Hämatoporphyrin wieder in zwei Complexe mit je 8 Kohlenstoffatomen. Von diesen wird der eine in $C_8H_9NO_4$ übergeführt, was aus der 40—48% betragenden Ausbeute an roher Säure geschlossen werden kann.

Die Vorgänge würden sich etwa durch folgendes Bild veranschaulichen lassen, wo jedes der Quadrate R und R' einen Complex bedeutet, der 8 Kohlenstoffatome enthält.



Aus R geht dann die «zweibasische Hämatinsäure» $C_8H_9NO_4$ hervor, über die andere Hälfte ist noch kein Aufschluss zu geben: die weitere Untersuchung des alkalilöslichen, bei Verwendung von Hämatin eisenhaltigen Produkts wird hier vielleicht Aufklärung schaffen.

Die Annahme endlich, das Eisen werde vermittelt Cyangruppen festgehalten, welche von vornherein plausibel erscheint, konnte experimentell immer noch nicht sicher begründet werden. Für dieselbe spricht z. B. das Auftreten des Geruchs nach Blausäure bei der Oxydation durch Ammoniumpersulfat, welche ja bis zur völligen Abscheidung des Eisens (als Oxyd) durchgeführt wurde. Für dieselbe spricht auch die Thatsache, dass stets ein Theil des Stickstoffs in Ammoniak übergeführt wird, selbst wenn unter den ätherlöslichen Säuren nur $C_8H_9NO_4$ aufzufinden ist, während ein Theil des Eisens abgespalten wird und sich beim Aufnehmen des erwähnten eisenhaltigen Körpers in Alkalien als nicht löslich abtrennen lässt.

Endlich möchte ich hervorheben, dass die Säure $C_8H_9NO_4$ mit dem Pyrrol in Beziehung stehen muss, dass hier also der

Theil des Hämatins vorliegt, welcher bei der trocknen Destillation¹⁾ dieses Körpers in Pyrrol überging.

Herr Kölle²⁾ machte nämlich die folgenden Beobachtungen: Wird das Ammoniumsalz von $C_8H_9NO_4$ der trocknen Destillation unterworfen, so geht schon bei niederer Temperatur ein gelbbraunes Oel über, das intensiv nach Pyrrol riecht und einen mit Salzsäure befeuchteten Fichtenspahn karminroth färbt. Das Oel gibt mit Wasser eine gelbliche Lösung, die sich mit Salzsäure angesäuert und eingedampft, nach und nach stark röthet und zuletzt ein amorphes, glänzendes Harz abscheidet. Nencki und Sieber fanden aber ganz die gleichen Eigenschaften bei einem Produkt, das durch Reduction einer alkoholischen Häminlösung mit Zinn und Salzsäure und durch nachherige Destillation der mit Alkali übersättigten Lösung erhalten wurde.³⁾

Ausserdem verharzen die schön krystallisirenden Körper $C_8H_9NO_4$ und $C_8H_8O_5$ sehr leicht, sie liefern braune amorphe Pulver, wie das grade bei Furan- und Pyrrolderivaten des öfteren beobachtet wurde.

Wird schliesslich eine Lösung von $C_8H_9NO_4$ in concentrirter Salzsäure erhitzt, so tritt eine intensive Färbung ein, welche an die des Hämatoporphyrins erinnert, ohne aber ein charakteristisches Absorptionsspectrum zu geben.

Experimenteller Theil.

I. Darstellung des Hämins und Hämatins.

A. Das Ausgangsmaterial für meine Untersuchungen bilden die Teichmann'schen Blutkrystalle: das «Hämin», welches nach dem Verfahren von Nencki und Sieber⁴⁾ in einer Ausbeute von 0,5—1 g pro Liter Blut erhalten wird. Die empirische Zusammensetzung dieses Hämins wurde von ihnen als durch die Formeln $(C_{32}H_{31}ClN_4FeO_3)_4C_5H_{12}O$ (für das frisch

1) Hoppe-Seyler, medic. chem. Untersuchg., S. 523 ff.

2) Inaug.-Dissert. (Tüb. 1898 bei F. Pietzker), S. 15.

3) Arch. f. exp. Path. u. Pharmak., Bd. XVIII, S. 418.

4) Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol., Bd. XVIII S. 401 u. XX. S. 325.

dargestellte) und $C_{32}H_{31}ClN_4FeO_3$ (für das bei 130° getrocknete Produkt) gegeben ermittelt. Diese Angaben konnte ich im Wesentlichen bestätigen,¹⁾ muss aber betonen, dass es nicht immer glückte, durch Extraction mit reinem Isoamylalkohol Produkte von obiger Zusammensetzung zu erhalten. Der Chlorgehalt wird häufig zu gering befunden, selbst wenn die von mir als nothwendig erkannten Cautelen²⁾ bei der Reinigung des Rohmaterials streng befolgt werden. Diese wurde aber so gehandhabt, dass zunächst der anhaftende Isoamylalkohol durch Aethylalkohol verdrängt und dann die Masse mit 1%iger Salzsäure behandelt wurde, bis ein rasches, klares Absetzen stattfindet. Bei den zur Analyse kommenden Antheilen wurde nun dieses Verfahren eventuell so lange fortgesetzt, bis die Häminkrystalle sich unter dem Mikroskope als frei von Beimengungen erwiesen. Alsdann wurden sie mit kaltem Wasser chlorfrei gewaschen, im Vacuum getrocknet, mit absolutem Alkohol angerieben und mit Aether behandelt, bis derselbe fast farblos ablief. Ich führe nunmehr die Analysen von vier in neuerer Zeit erhaltenen Präparaten aus verschiedenen Blutarten an.

Präparat I³⁾, aus Rindsblut hergestellt, im Vacuum getrocknet.

1. 1,1609 g verloren bei $2\frac{1}{4}$ stündigem Erhitzen bis auf 150° im Ganzen 0,0317 g.
2. 0,1738 g gaben 0,3992 g CO_2 , 0,0885 g H_2O und 0,0224 g Fe_2O_3 .
3. 0,2236 g gaben 18 ccm. N bei 730 mm. B. und $7,4^\circ$.
4. 0,1872 g gaben 0,0402 g AgCl und 0,0238 g Fe_2O_3 (Carius).

Präparat II, aus Schafblut hergestellt; im Vacuum getrocknet.

1. 1,0378 g verloren bei $1\frac{1}{2}$ stündigem Erhitzen auf $130-140^\circ$ im Ganzen 0,0402 g.
2. 0,2034 g gaben 0,4738 g CO_2 , 0,1038 g H_2O und 0,0244 g Asche.

1) Ber. 27, 572. Beiträge z. K. des Hämatins. Tüb. bei Pietzker, S. 10—15. Ber. 30, 109.

2) l. c. S. 11.

3) Die Resultate der Analysen dieses Präparats sind bereits Ber. 29, 822 angeführt und dort auf $(C_{32}H_{33}ClN_4FeO_3)_6 \cdot C_5H_{12}O$ bezogen, welche Formel dem Gewichtsverlust bei 150° und den erhaltenen Werthen besser entspricht.

3. 0,3035 g gaben 25,2 ccm. N bei 711 mm. B und 8°.
4. 0,2648 g gaben 0,0485 g AgCl und 0,0336 g Fe₂O₃ (Carius).

Präparat III, aus einmal umkrystallisirtem Oxylhäemoglobin vom Pferde dargestellt, bestand aus braunschwarzen Prismen sowie deren Trümmern oder Verwachsungen.

1. 0,2269 g gaben 0,5196 g CO₂ und 0,1191 g H₂O.
2. 0,2694 g gaben 0,0503 g AgCl und 0,0332 g Fe₂O₃.
3. 0,1864 g gaben 14,8 ccm. N bei 726 mm. B. und 10°.

Präparat IV, wie das vorherige erhalten.

1. 0,2373 g gaben 0,5409 g CO₂ und 0,1148 g H₂O.
2. 0,2088 g gaben 0,4773 g CO₂ und 0,1049 g H₂O.
1. 2. 0,4461 g gaben 0,0557 g Fe₂O₃.
3. 0,2541 g gaben 0,0530 g AgCl und 0,0309 g Fe₂O₃.
4. 0,1843 g gaben 14,7 ccm. N bei 726 mm. B. und 8°.

	Berechnet für		Gefunden			
	(C ₃₂ H ₃₁ ClN ₄ FeO ₃) ₄ C ₅ H ₁₂ O		I.	II.	III.	IV.
% C	63,08	62,64	63,53	62,46	62,17	62,35
% H	5,38	5,66	5,91	5,83	5,37	5,58
% N	8,85	9,35	9,37	9,08	9,17	—
% Fe	8,85	9,02	8,89	8,44	8,76	8,51
% Cl	5,59	5,32	5,32	4,53	4,62	5,17
% C ₅ H ₁₂ O	3,48	2,73	3,87	—	—	—

Des Weiteren zeigte ich dann, dass die Ausbeuten an Hämin erhöht und bis auf 44% der theoretisch berechneten gebracht werden können, wenn der schon einmal gebrauchte Amylalkohol wieder verwendet, dafür aber das Blutpulver so stark getrocknet wird, dass es nur noch 30—40% Feuchtigkeit enthält. Die so erhaltenen Präparate entsprechen indessen nicht mehr obiger Formel, namentlich sinkt der Chlorgehalt bei Verwendung 3—4 mal gebrauchten Amylalkohols bis auf Spuren, so dass wohl eine Verseifung oder eine Abspaltung von Chlorwasserstoff eintritt.¹⁾

Einige Analysen mögen auch diese Verhältnisse veranschaulichen. Präparat V, aus Rinderblut mit bereits einmal gebrauchtem Amylalkohol extrahirt.

¹⁾ Der niedere Chlorgehalt könnte auch so gedeutet werden, dass in solchen Präparaten nicht mehr «Hämin p. e.» vorliegt, sondern vielleicht höhere Homologe desselben; in diesem Sinne sprach ich mich Ber. 29, 822 aus.

1. 0,4414 g verloren bei 140° im Ganzen 0,0084 g.
2. 0,2379 g gaben 0,5590 g CO₂ und 0,1292 g H₂O.
3. 0,1900 g gaben 0,4457 g CO₂.
4. 0,2395 g gaben 0,0452 g AgCl und 0,0287 g Fe₂O₃ (Carius).
5. 0,2730 g gaben 23,2 cem. N bei 4,8° und 717,8 mm. B.

Präparat VI, aus Schafblut mit schon einmal gebrauchtem Amylalkohol extrahirt.

1. 0,9052 g verloren bei 135—145° 0,0196 g im Ganzen.
2. 0,2401 g gaben 0,5586 g CO₂ und 0,1325 g H₂O.
3. 0,2633 g gaben 20,4 cem. N bei 724 mm. B. und 9°.
4. 0,3144 g gaben 0,0600 g AgCl und 0,0394 g Fe₂O₃ (Carius).

Präparat VII, aus Rinderblut mit ganz altem Amylalkohol extrahirt, besteht aus wesentlich kleineren Krystallen von mehr rundlicher Form, setzte sich sehr rasch ab und erwies sich unter dem Mikroskope als einheitlich.

1. 0,1945 g gaben 0,4654 g CO₂, 0,1009 g H₂O und 0,0241 g Asche.
2. 0,2400 g gaben 19,2 cem. N bei 722,5 mm. B und 3,5°.
3. 0,2745 g gaben 0,0066 g AgCl und 0,0348 g Fe₂O₃ (Carius).

Gefunden:	V.	VI.	VII.
°/° C	64,08 } 63,98	63,45 }	65,26 }
°/° H	6,03 }	6,13 }	5,76 }
°/° N	9,81	8,87	9,38
°/° Fe	8,39 }	8,78 }	8,88 }
°/° Cl	4,67 }	4,72 }	0,59 }
°/° C ₅ H ₁₂ O	1,90	2,16	—

Auß diesen Befunden folgt, dass das Chlor sehr leicht aus der Häminmolekel herauszunehmen ist: eine Deutung des Verlaufs der solches bewirkenden Prozesse ist freilich aus den erhaltenen Zahlen nicht möglich. Nun wird ja das Chlor bei der Verseifung mittelst Alkalien leicht durch Hydroxyl ersetzt, bis auf Spuren wenigstens, die sich schwer entfernen lassen. Andererseits war es denkbar, dass sich das Chlor durch geeignete Mittel in Form von Chlorwasserstoff abspalten lasse, welcher Process einen Körper C₃₂H₃₀N₄FeO₃ hätte liefern müssen. Ich habe zu diesem Zweck Anilin auf Hämin einwirken lassen, das schon in der Kälte lösend wirkt,¹⁾ und in

1) Nur ein Häminpräparat, welches nach Schaffejew dargestellt war, löste sich selbst in kochendem Anilin unvollständig und hinterliess Krystalle, welche in ihrer Form sehr an den von mir dargestellten Hämatinester der Essigsäure erinnerten.

der That eine Abspaltung von HCl beobachtet. Doch hielten die übrigens in Chloroform leicht löslichen Produkte hartnäckig ca. 1,5% Chlor zurück. Siedendes Anilin bewirkt einen tieferen Zerfall der Häminmolekel: der entstandene Körper enthielt nur noch 3,7% Eisen.

Da ich also zu einem einheitlichen Produkte nicht gelangen konnte, habe ich diese Reaction einstweilen nicht weiter verfolgt.

B. Ein weiterer Theil des Hämins wurde nach Schallfejew's Methode¹⁾ hergestellt: Blut wird durch Eisessig zersetzt und nun im Gegensatze zu Nencki's Verfahren alle Bestandtheile des Bluts durch einen grossen Ueberschuss von Eisessig gelöst, während sich das Hämin unlöslich abscheidet. Wird die vorgeschriebene Temperatur von 80° bei der Darstellung genau eingehalten, so sind die Ausbeuten meist sehr gute. Das Absetzen der Krystalle vollzog sich einmal bei Pferdeblut in 30 Minuten: aus einem Liter wurden hier 4,6 g im Vacuum getrocknetes Hämin erhalten. Auch ein Liter Rinderblut lieferte im Durchschnitt 4 g. Manchmal scheiden sich allerdings die Häminkrystalle in so feiner Form ab, dass ein wochenlanges Stehen erforderlich ist, bis sie sich einigermaßen vollständig abgesetzt haben. Und zwar geschieht das trotz peinlichster Einhaltung aller Vorschriften. Es scheint lediglich die Beschaffenheit des Blutes eine Rolle zu spielen, z. B. ist ein etwas in Fäulniss gerathenes Blut durchaus zu vermeiden.

Es konnte in solchen Fällen das Absetzen befördert werden, wenn die ganze Reactionsmasse nach Zusatz des gleichen Volumens Wasser und etwas concentrirter Salzsäure erhitzt wurde. Die Reinigung der abgesetzten Krystalle geschah durch Digeriren mit ca. 1% iger Salzsäure meist in der Wärme, bis die über dem sich rasch zu Boden senkenden Hämin stehende Flüssigkeit wasserklar war.

B. Was die Darstellung des Hämatins betrifft, so

¹⁾ Ber. 18, 232 c.

erwähnte ich schon, dass dieselbe nicht unter jeder Bedingung aus analysenreinem Hämin gelingt, insofern der erhaltene Körper nicht die für $C_{32}H_{32}N_4FeO_4$ berechneten Werthe ergibt. Die folgenden Versuche zeigen nun auch deutlich, dass das zur Ueberführung nöthige Alkali in der Wärme bei längerer Einwirkungsdauer Veränderungen im Hämatinmolekül hervorbringt.

3 g nach Schalfejew's Methode dargestelltes und sorgfältig gereinigtes Hämin wurden getheilt: 1,5 g davon wurden mit wenig Alkohol und Natronlauge angerührt, die Masse mit kaltem Wasser aufgenommen, filtrirt, mit verdünnter Schwefelsäure gefällt, filtrirt und chlorfrei gewaschen. Das Lösen in ganz verdünnter, kalter Natronlauge und das Fällen durch Schwefelsäure wurde wiederholt, da von früher her bekannt war, dass die Herausnahme des gesammten Chlors durch einmaliges Lösen in Alkali nicht gelingt.¹⁾ Im Filtrate waren dann auch noch Spuren von Chlor nachweisbar. Der dann auch schwefelsäurefrei gewaschene Hämatinschlamm wurde scharf abgesaugt, schliesslich bei 100° getrocknet. (Präparat I.)

Die andere Hälfte des Hämins wurde in gleicher Weise in Hämatin übergeführt, nur blieb die Lösung in Natronlauge jedes Mal 5 Stunden lang auf kochendem Wasserbade stehen. (Präparat II.)

Bei der Analyse erhielt ich nun die folgenden Resultate.

Präparat I.

1. 0.1778 g gaben 0.4200 g CO_2 , 0.0840 g H_2O und 0.0230 g Fe_2O_3 .
2. 0.4339 g gaben nach Kjeldahl 0.04102 g N.

Präparat II.

1. 0.1835 g gaben 0.4188 g CO_2 , 0.0845 g H_2O und 0.0238 g Fe_2O_3 .
2. 0.4177 g gaben nach Kjeldahl 0.03906 g N.

Berechnet für:		Gefunden:	
$C_{32}H_{32}N_4FeO_4$		I.	II.
%	C	64.86	62.24
%	H	5.40	5.11
%	Fe	9.46	9.08
%	N	9.46	9.35

1. Auch Bialobrzkeski fand in dem von ihm dargestellten Hämatin 0,3% Chlor. Ber. 29. 2846.

Dass endlich das Alkali bei längerer Dauer der Einwirkung auch schon in der Kälte in die Hämatinmolekel eingreift, geht aus folgendem Versuche hervor. Möglichst gereinigtes Hämatin (1 Molekel) wurde in der berechneten Menge verdünnter Natronlauge (2 Molekeln) gelöst, filtrirt, und die Lösung der Dialyse unterworfen, bis das Chlornatrium entfernt war, was einige Wochen dauerte.¹⁾ Nun sollte versucht werden, eine Benzoylverbindung des Hämatins herzustellen, was bisher aus stark alkalischer Lösung nicht gelungen war, und auch jetzt nicht glückte, wie die Analyse beweist. Es wurden zu diesem Zwecke einige Tropfen Benzoylchlorid zu obiger Lösung gesetzt und bis zum Verschwinden des Geruchs geschüttelt. Es hatte sich ein reichlicher Niederschlag gebildet, der nun von der klaren Lösung abfiltrirt, chlorfrei gewaschen und nach dem Trocknen mit Aether extrahirt wurde, bis keine Benzoesäure mehr vorhanden war.

Bei der Analyse ergaben 0,2145 g: 0,4842 g CO_2 , 0,1030 g H_2O und 0,0287 g Fe_2O_3 d. h. 61,57% C, 5,33% H und 9,32% Fe. Also wurde auch hier ein viel zu niedriger Werth für den Kohlenstoff gefunden, eine Herausnahme von Eisen fand aber eben so wenig wie beim Erhitzen mit Alkali statt.

In welcher Weise das Alkali wirkt, kann aus den angeführten Versuchen noch nicht geschlossen werden.

II. Oxydation des Hämatins.

A. In eisessigsaurer Lösung mittelst Natriumdichromat oder Calciumchromat.

a. 55 g Hämatin²⁾ wurden in Form des feinen Schlammes, wie man ihn durch Fällen einer alkalischen Lösung mit einer Säure erhält, in der 60fachen Menge Eisessig gelöst und innerhalb dreier Tage mit der 8 Atomen Sauerstoff auf die Molekel

1) Die dialysirte Flüssigkeit muss das Natriumsalz des Hämatins enthalten: dieses konnte auch durch Alkoholäther gefällt werden. Der Niederschlag erwies sich aber für weitere Untersuchung als nicht geeignet.

2) Der Versuch wurde schon 1896 ausgeführt, das Hämatin war von Merck bezogen, das Lösen geschah in Portionen von ca. 5 g.

Hämatin entsprechend berechneten Menge Natriumdichromat (73,5 g) beschickt. Die Aufnahme des Sauerstoffs vollzog sich bei Zimmertemperatur. Die Hauptmenge der Essigsäure wurde nun auf freiem Feuer abdestillirt, der Rest auf dem Wasserbade entfernt. Hierbei scheidet sich ein dem Hämatin noch sehr ähnliches Produkt der Oxydation in reichlicher Menge unlöslich ab, das Gewicht betrug ca. 50 g (Körper A).

Nach Zusatz der berechneten Menge Schwefelsäure erfolgt weiteres Erhitzen, bis auch die gebunden gewesene Essigsäure verjagt ist. Dann wird die filtrirte Lösung ausgeäthert, der Aetherrückstand, wie früher angegeben, ¹⁾ gereinigt.

Erhalten wurden 8 g ätherlösliche Säure, d. h. 14% vom verwendeten Hämatin. Diese Säure krystallisirte zum Theil schon nach dem Abdestilliren des Aethers. Durch Umkrystallisiren aus heissem Wasser konnte ich 3,5 g in prächtigen Wetzsteinen erhalten: das Uebrige war ein Syrup, dessen stark sauer reagirende wässerige Lösung mit Calciumcarbonat behandelt wurde. Nach eintägiger Wirkung in der Kälte wurde filtrirt, das Filtrat zum Sieden erhitzt. Es entstand ein Ausfall im Gewicht von 1,83 g. Das Filtrat hiervon wurde nochmals mit Calciumcarbonat behandelt, die Lösung gab aber beim Erhitzen keinen Ausfall mehr. Beim Stehen im Vacuum krystallisirten zu Drusen vereinigte Nadeln aus, welche abgesaugt wurden (0,4 g), die Mutterlaugen ergaben amorphe, bisher nicht weiter untersuchte Kalksalze.

Die schön krystallisirende Säure (3,5 g) zeigte den Schmelzpunkt 97—98°, bei der Analyse ergaben 0,2073 g: 0,3971 g CO₂ und 0,0849 g H₂O. Darnach liegt der Körper C₈H₈O₅ vor, das « Anhydrid der dreibasischen Hämaminsäure ».²⁾

Berechnet für C ₈ H ₈ O ₅ :			Gefunden:
%	C	52.18	52.25
%	H	4.35	4.55

1) l. c., S. 37.

2) cf. l. c., S. 41 und Ber. 29, 823, die später gewählte Bezeichnung « Lacton der dreibasischen Hamatinsäure », cf. Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. XXVI, S. 336, wird kaum zutreffender sein. Bisher schlugen alle Versuche, Hydroxylgruppen nachzuweisen, fehl: allerdings verharzte die Säure dabei. Das Analysenergebniss ist schon im Ber. 32, 678, mitgetheilt.

Dieses neue Präparat erwies sich also als völlig rein, während die Analysen der früher dargestellten Präparate nur unscharfe Werthe ergeben hatten.

Der Körper $C_8H_8O_5$ ist nun, wie schon hervorgehoben wurde,¹⁾ scharf durch das Verhalten mancher Salze charakterisirt. Wird eine in der Kälte hergestellte wässrige Lösung des Kupfer- oder Calciumsalzes erhitzt, so findet fast quantitativer Ausfall der betreffenden Salze statt.²⁾ Und zwar hat das ausfallende Calciumsalz einen ziemlich constanten Gehalt an Calcium, der in der Mitte zwischen dem für das neutrale Salz und dem für das einfach saure Salz berechneten liegt und etwa zwischen 20 und 21 % schwankt.³⁾

Man kann es sich auf folgende Weise entstanden denken:
 $4 C_8H_8O_5 + 5 CaCO_3 = 5 CO_2 + (C_{32}H_{28}Ca_5O_{23} + H_2O) + H_2O$ ⁴⁾

Dieses Salz hat meist die Form von rundlichen Körnern, selten wird es in kleinen Nadeln erhalten.

Aus obigem Präparat hergestellte Calciumsalze ergaben z. B. folgende Resultate:

1. 0,6741 g. im Vacuum getrocknet, verloren bei 105° 0,0137 g und hinterliessen 0,1976 g CaO (nachdem das Ca als Oxalat gefällt war).
2. 0,2661 g gaben 0,004 g H₂O ab und hinterliessen 0,0756 g CaO.
3. 0,1673 g (in Nadeln krystallisirend) verloren bei 110° 0,0021 g und gaben 0,0465 g CaO.

Berechnet für	Gefunden		
$C_{32}H_{28}Ca_5O_{23} + H_2O$	1.	2.	3.
% H ₂ O 1,80	2,03	1,50	1,25
% Ca 20,41	21,36	20,6	20,22

Für das Silbersalz des Körpers $C_8H_8O_5$ waren früher Werthe gefunden worden, welche nur annähernd mit der Formel $C_8H_7Ag_3O_6$ übereinstimmten. Nun wurde auch aus dem neuen Präparat das Silbersalz bereitet und bei der zweiten Analyse zeigte sich, dass das im Vacuum scharf getrocknete Salz bei

1) l. c. S. 46. Ber. 32. 678.

2) Einmal wurde ein Ausfall schon beim Stehen an der Luft beobachtet: 0,4075 g dieses Salzes verloren bei 110° 0,0058 g und gaben 0,1122 g CaO oder 1,42 % H₂O und 19,95 % Ca.

3) $(C_8H_7O_5)_2 Ca_3$ verlangt 23,16 % Ca. $C_8H_8O_5 Ca$ 16,67 % Ca.

4) Es scheint mir von Interesse zu sein, dass sich hier ein Körper bildet, der wie das Hämatin selbst 32 Atome Kohlenstoff enthält.

110° eine Gewichtsabnahme erfuhr, ohne sich zu bräunen: aus derselben kann auf einen Gehalt von $\frac{1}{2}$ H₂O geschlossen werden, welcher die Differenzen von ehemals erklärt.

1. 1.3980 g im Vacuum getrocknet gaben 0,9797 g Ag₂S.

2. 0,4448 g verloren bei 110° 0,0065 g und gaben 0,3082 g Ag₂S.

			Gefunden	
Berechnet für	C ₈ H ₇ Ag ₃ O ₆ + $\frac{1}{2}$ H ₂ O		1.	2.
%	$\frac{1}{2}$ H ₂ O	1,69	—	1,46
%	Ag	60,83	61,04	61,24

Der bei der Aufarbeitung der Rohsäure erhaltene Syrup hatte, wie erwähnt, ein beim Erhitzen unlöslich werdendes Kalksalz im Gewichte von 1,8 g ergeben: auch dieses erwies sich als ein Derivat von C₈H₈O₃, wie aus folgenden Analysen hervorgeht.

1. 1.8334 g bei 110° getrocknetes Calciumsalz gaben 0,5281 g CaO = 20,58% Ca.

2. Die hieraus regenerirte Säure war nur schwierig krystallisirt zu erhalten. 0,1433 g gaben 0,2710 g CO₂ und 0,0627 g H₂O, d. h. 51,57% C und 4,86% H, also etwas unscharfe Werthe.

Hier möchte ich noch die folgende Beobachtung einschalten. Der Körper C₈H₈O₃ löst sich in ca. 26 Theilen kalten, in 5 Theilen warmen Wassers, aus welcher letzterer Lösung er daher beim Einstellen in kaltes Wasser sofort in prächtigen Krystallen von Wetzsteinform anschießt. Ist aber die wässerige Lösung über 80° erhitzt worden, so scheiden sich beim Erkalten keine Krystalle, sondern Oeltröpfchen aus, welche nach einiger Zeit eine strahlige Krystallmasse geben. Löst man diese sofort in der fünffachen Wassermenge, so bildet sich beim Erkalten wieder ein Oel, löst man erst nach Verlauf mehrerer Stunden, so erhält man unter genau gleichen Bedingungen die prächtigen Krystalle zurück. Niemals entstand aber das Oel, sobald nicht über 80° erhitzt worden war.

Bei der Aufarbeitung der Rohsäure waren schliesslich noch ca. 0,4 g eines Kalksalzes erhalten worden, das in Nadeln krystallisirte und wasserlöslich war. Hier dürfte ein Salz der zweibasischen Hämatinsäure C₈H₉NO₄ vorliegen.

0,4211 g vacuumtrockenes Salz verloren bei 110° 0,0197 g und gaben 0,0545 g CaO.

Berechnet für $(C_8H_8NO_4)_2 Ca + 1 H_2O$			Gefunden
%	1 H_2O	4,27	4,65
%	Ca	9,90	9,69

Bei diesem Versuche bestand also die Hauptmenge der ätherlöslichen Säure aus $C_8H_8O_5$. Der grösste Theil des Hämatins war aber in den eingangs aufgeführten Körper A übergegangen, der sich beim Verjagen der freien Essigsäure unlöslich abscheidet. Diesem haften trotz guten Auswaschens noch beträchtliche Mengen von Hämatinsäure an, welche beim Lösen von A in Soda und Fällen mit Schwefelsäure in Lösung bleiben und nun ausgeäthert werden können. Auch dieser Theil der Säure bestand im Wesentlichen aus $C_8H_8O_5$; denn nach Herstellung der Kalksalzlösung entstand beim Erhitzen ein Ausfall, welcher mehr als 1 g wog, während das Filtrat davon beim Eindampfen nur geringe Mengen Salz hinterliess.

0,1065 g des ersteren gaben 0,0315 g $CaO = 21,13\%$ Ca, welcher Werth mit dem früher gefundenen gut übereinstimmt.

Der durch Schwefelsäure aus seiner alkalischen Lösung wieder gefällte Körper A wurde nach sorgfältigem Auswaschen und Trocknen analysirt, lediglich um ungefähr einen Einblick in die Veränderungen zu bekommen, welche durch die Oxydation bewirkt worden war.

1. 0,2277 g gaben 0,4994 g CO_2 , 0,1085 g H_2O und 0,0097 g Asche = 59,81% C. und 5,29% H.

2. 0,767 g gaben 66,3 ccm. N. bei 739,5 mm B. und $4,5^\circ C.$ = 10,30% N.

Wie zu erwarten, war also der procentische Gehalt an Kohlenstoff geringer geworden; bemerkenswerth ist aber vor Allem, dass sich die Asche als in Salzsäure unlöslich erwies, was einem bedeutenden Gehalt an Chrom zuzuschreiben ist.

Leider löste sich A, weder getrocknet noch frisch gefällt, in Eisessig, so dass die weitere Oxydation in alkalischer Lösung ausgeführt werden musste. Als Oxydationsmittel wurde Kaliumpermanganat gewählt und so viel einer 4,4%igen Lösung desselben verwendet, als etwa zwei Atomen Sauerstoff entspricht, unter der Annahme, das Molekulargewicht von A differire nicht allzuviel von dem des Hämatins. Zur Vollendung der Oxydation

musste auf dem Wasserbade erwärmt werden. Nachdem dann vom Manganschlamm getrennt und das Filtrat mit Schwefelsäure angesäuert worden war, wurde der hierdurch entstehende Niederschlag (Körper B) abfiltrirt. Das Filtrat wurde eingedampft, von einer harzigen Masse abfiltrirt und ausgeäthert.

Der Aether hinterliess 0,5 g Krystalle neben einem Syrup, welcher wie angegeben in die Kalksalze übergeführt wurde. Auch hier bildete sich beim Erhitzen ein Niederschlag (ca. 1 g), das Filtrat davon hinterliess amorphe Calciumsalze, aus denen einheitliche Produkte nicht erhalten werden konnten.

Die 0,5 g in Krystallen erhaltene Säure bestanden aus $C_8H_8O_5$, wie schon das Verhalten des Kalksalzes lehrte und die Analyse bestätigte.

Bei derselben gaben 0,5914 g, bei 110° getrocknet, 0,1763 g $CaO = 21,38\%$ Ca.

Und die bei dieser Analyse regenerirte Säure gab ein Silbersalz, dessen Silbergehalt völlig der Formel $C_8H_7Ag_3O_6 \cdot \frac{1}{2} H_2O$ entsprach. 0,7927 g, im Vacuum getrocknet, verloren bei 110° 0,0158 g (unter geringer Braunfärbung) und gaben 0,5516 g Ag_2S .

Berechnet $C_8H_7Ag_3O_6 + \frac{1}{2} H_2O$	Gefunden:
% H_2O	1,69
% Ag	60,83
	1,99
	60,60

Es hatte also die weitere Oxydation von A durch Kaliumpermanganat weitere Mengen vom Anhydrid der dreibasischen Hämatinsäure geliefert. Daneben war ein nur in Alkalien löslicher Körper (B) entstanden, dessen Analyse ich noch anfügen will.

1. 0,3058 g gaben 0,6633 g CO_2 , 0,1373 g H_2O und 0,0114 g Asche.
2. 0,1967 g gaben 17 ccm. N. bei 735 mm B. und $6,3^\circ$.

Die Asche war völlig löslich in HCl und lieferte dann 0,0114 g Fe_2O_3 . Aus obigen Werthen berechnet sich: $59,15\%$ C, $1,99\%$ H, $10,15\%$ N und $2,61\%$ Fe. Durch die Oxydation mit Kaliumpermanganat war also das Chrom von A wieder herausgenommen worden.

Bei dem beschriebenen Versuche bestand — aus welchem Grunde kann ich nicht sicher angeben — die Hauptmenge der ätherlöslichen Säure aus $C_8H_8O_5$, und das grosse Krystallisations-

vermögen dieses Körpers ermöglichte die Abscheidung eines Theils desselben durch Umkrystallisation aus heissem Wasser. Wie ich aber schon zeigte, ist $C_8H_8O_3$ nicht als primäres Oxydationsprodukt anzusehen, als solches trat vielmehr in der Mehrzahl der Versuche, bei welchen das Oxydationsmittel in einer 12 Atomen Sauerstoff pro Hämatinmolekül entsprechenden Menge verwendet wurde, die zweibasische Hämatinsäure $C_8H_9NO_4$ auf, welche aus dem Gemisch der Rohprodukte schwerer krystallisirt. Dann ist nun ein Trennungsverfahren am Platze, das sich im Wesentlichen eng an das bereits angegebene anschliesst, in einigen Punkten aber abweicht, nachdem im Laufe der Zeit einige Beobachtungen gemacht worden waren, die eine Modification der Methoden mit sich brachten. Auf diese muss ich eingehender zurückkommen.

b. Zunächst möchte ich hervorheben, dass es bei Verwendung von 12 Atomen Sauerstoff rathsam ist, alle Operationen bei möglichst niedriger Temperatur auszuführen: es ist dann auch schon das Rohprodukt bedeutend reiner und leichter krystallisirt zu erhalten. So kann der durch Fällung einer alkalischen Lösung mittelst einer Säure erhaltene äusserst voluminöse Hämatinschlamm auch in kaltem Eisessig gelöst werden, wenn man denselben unter häufigem Rühren ca. 24 Stunden lang einwirken lässt. Die Oxydation kann (wie erwähnt) bei Zimmertemperatur zu Ende gebracht werden, sobald man wochenlang stehen lässt, doch ist auch Erwärmen auf ca. 50° nicht schädlich und hat den grossen Vortheil, dass die Reaction in einem Tage beendet ist. Schliesslich wird der Eisessig am besten im Vacuum abdestillirt, der Rückstand mit heissem Wasser aufgenommen und dann bis zur Reinigung des Rohprodukts wie früher angegeben verfahren. Die Rohsäure wird dann in Natriumcarbonat gelöst, die alkalische Lösung mit Aether extrahirt, darauf wieder angesäuert. Bei grösseren Mengen tritt hierbei eine Trübung ein, welche sich in ca. einem Tage absetzt, worauf die abgegossene klare Lösung ausgeäthert wird. Die nach Abdestillation des Aethers erhaltene Säure wird nun am besten in Wasser gelöst und diese Lösung von Neuem ausgeäthert, wobei manchmal kleine Mengen einer in

anderer Form krystallisirenden Säure zurückbleiben, welche nur aus freie Schwefelsäure haltenden Lösungen ausgeäthert werden kann¹⁾. Nun erst wird zur Darstellung der Kalksalze geschritten: bevor jedoch die Lösung derselben erwärmt wird,²⁾ ist es nöthig, sie mit Aether zu extrahiren, um etwa noch vorhandene freie Säure³⁾ zu entfernen, denn solche kann sowohl das Ausfallen des Kalksalzes von $C_8H_8O_5$ verhindern, wie auch die Löslichkeit des Kalksalzes von $C_8H_9NO_4$ so erhöhen, dass ein Umkrystallisiren aus der 3—4 fachen Menge heissen Wassers nicht mehr möglich ist.

Hat man aber alle erwähnten Massnahmen getroffen, so gelingt die Abscheidung von $C_8H_8O_5$ als Kalksalz gut. Die Analysen solcher Kalksalze zeigten den erwarteten Calciumgehalt, z. B.:

1. 0,5451 g bei 105° getrocknet gaben 0,1563 g $CaO = 20,47\%$ Ca.
2. 0,9375 g, vacuumtrocken, verloren bei 130° 0,017 g und gaben 0,2654 g CaO oder $1,81\%$ H_2O und $20,59\%$ Ca.

Das hieraus gewonnene Silbersalz zeigte den berechneten Silbergehalt:

0,4983 g, bei 120° $\frac{1}{2}$ Stunde getrocknet, gaben 0,3527 g $Ag_2S = 61,65\%$ Ag (ber. 61,8 für $C_8H_7Ag_3O_6$).

Die regenerirte Säure zeigte den richtigen Schmelzpunkt. Doch ist häufig nur wenig $C_8H_8O_5$ vorhanden, manchmal fehlte sogar diese Säure ganz.

Das Filtrat von obigem Salz wird am besten nochmals mit Calciumcarbonat behandelt und wiederum schwach erhitzt. Sobald kein Ausfall mehr dabei entsteht, wird die Lösung im Vacuum bei gewöhnlicher Temperatur eingedunstet, Erhitzen bringt — selbst wenn es im Vacuum geschieht — stets grosse Zersetzung hervor. Das trockene Kalksalz, welches meist bereits schön krystallisirt, wird dann, wie angegeben, aus Wasser um-

1) cf. Ostwald, die wissenschaftlichen Grundlagen der analytischen Chemie, S. 84.

2) Zu starkes und langes Erhitzen ist thunlichst zu vermeiden, hierbei färbt sich die Lösung stark, während ein eigenthümlicher nicht unangenehmer Geruch auftritt.

3) Diese dürfte mit $C_8H_9NO_4$ identisch sein, $C_8H_8O_5$ fand sich bisher nicht unter diesen Theilen.

krystallisirt, wobei regelmässig kleine Mengen unlöslich bleiben.¹⁾ Die Mutterlaugen gaben bei gleicher Behandlung stets noch weitere Mengen aus heissem Wasser krystallisirenden Salzes.

Analysen der so gewonnenen Kalksalze gaben z. B. folgende Resultate:

1. 0,4943 g, bei 105° getrocknet, gaben 0,0654 g CaO.
2. 0,3010 » » 100° » » 0,0343 » CaO.
3. 0,3182 », vacuumtrocken, verloren bei 110° 0,0125 g und gaben 0,0413 g CaO.

Berechnet	Gefunden		
für $(C_8H_9NO_4)_2Ca + 1H_2O$	1	2	3
°/° H_2O 4,27	—	—	3,93
°/° Ca 9,90	9,47	9,39	9,71.

Die aus dem umkrystallisirten Kalksalze wiedergewonnene Säure zeigte bei verschiedenen Präparaten keinen ganz scharfen Schmelzpunkt, er wurde bei 111 bis 113°, 110 bis 113°, 111,5 bis 112,5° beobachtet, nachdem von 103° ab ein Erweichen stattgefunden hatte.

Bei der Analyse gaben 0,2010 g : 0,3867 g CO_2 und 0,0935 g H_2O .

Berechnet für $C_8H_9NO_4$	Gefunden
°/° C 52,45	52,47
°/° H 4,92	5,16

Was nun die übrigen Spaltungsprodukte des Hämatins betrifft, die bei der Oxydation mit 12 Atomen Sauerstoff entstehen, so konnten zunächst Kohlendioxyd und Ammoniak nachgewiesen werden.

Die Menge des ersteren wurde nach demselben Verfahren ermittelt, wie es später auch bei der Oxydation des Gallenfarbstoffs zur Anwendung kam.²⁾

5 g Hämatin, enthaltend 3,243 g Kohlenstoff lieferten:

1. 0,212 g $CO_2 = 0,0577$ g C. d. h. c. $\frac{1}{60}$ des Kohlenstoffs.³⁾

1) Wird aus diesen Antheilen die Säure wieder hergestellt und diese von Neuem ins Kalksalz übergeführt, so entsteht beim Erhitzen der Lösung ein Ausfall, also spaltet das Kalksalz von $C_8H_9NO_4$ schon im Vacuum unter Schwefelsäure Ammoniak ab.

2) Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. XXVI, S. 324.

3) Dieser Versuch wurde von Herrn Völter ausgeführt, der die entwickelte CO_2 in Natronkalk auffing.

2. 0,2904 g CO₂ = 0,08 g C. d. h. c. $\frac{1}{40}$ des Kohlenstoffs.
 3. 0,2244 » » = 0,0612 » » » » » $\frac{1}{53}$ » » » » »

Zur Untersuchung auf flüchtige organische Basen wurde, nachdem die Hämatinsäuren mittelst Aether extrahirt waren, die schwefelsaure Lösung mit Natronlauge, resp. Barythydrat alkalisch gemacht, darauf mit Wasserdämpfen destillirt und das Uebergehende in Salzsäure aufgefangen. Aus dem durch Eindampfen gewonnenen Salz wurde von Herrn Kölle die Platinchloriddoppelverbindung hergestellt und analysirt.

1. 0,2665 g gaben 0,117 g Platin = 43,90% Pt.

Es lag also lediglich Platinsalmiak vor, welcher 43,92% Pt verlangt. Nun wurde auch die Menge des gebildeten Ammoniaks¹⁾ bestimmt, indem bis zum Aufhören der alkalischen Reaction des Uebergehenden destillirt und das Gewicht des erhaltenen Salmiaks bestimmt wurde. 5 g Hämatin, enthaltend 0,473 g Stickstoff, lieferten:

- 1) 0,25 g NH₄Cl = 0,0655 g N. d. h. c. $\frac{1}{7}$ des vorhandenen N.
 2) 0,7 » » = 0,183 » » » » » $\frac{3}{7}$ » » » » »
 3) 0,25 » » = 0,0655 » » » » » $\frac{1}{7}$ » » » » »
 4) 0,16 » » = 0,042 » » » » » $\frac{1}{11}$ » » » » »

Die Mengen des als Ammoniak abgespaltenen Stickstoffs differiren also ganz wesentlich und sind, trotzdem ja diese Bestimmungen nur annähernd richtig sein können, wohl kaum auf Versuchsfehler zurückzuführen. Doch habe ich den Grund dieses verschiedenen Verhaltens noch nicht feststellen können.

Dass alle Versuche, weitere organische Spaltungsprodukte basischer oder saurer Natur zu fassen, negative Resultate gaben, habe ich schon erwähnt: so wurden namentlich auch keine flüchtigen, reducirend wirkenden Körper beobachtet, die beim Abdestilliren des zur Lösung dienenden Eisessigs hätten mit übergehen können.

Neben den ätherlöslichen Säuren, auf welche ich in einer späteren Abhandlung noch zurückzukommen gedenke, konnte somit nur der eisenhaltige Körper als ein Produkt der Oxydation des Hämatins gewonnen werden, welcher sich unlöslich ab-

1) Sämmtliche Materialien waren auf Ammoniak vorher geprüft und als rein davon befunden worden.

scheidet, sobald die gesammte freie Essigsäure entfernt worden ist. Nach den beim ersten Versuch gewonnenen Erfahrungen muss dieser Körper zunächst sehr lange, am besten mit schwefelsäurehaltigem Wasser, ausgewaschen werden, damit nicht noch Hämatinsäure von ihm zurückgehalten wird. Er löst sich gewöhnlich bis auf Spuren anorganischer Substanz, die Eisen enthält, in Soda auf und kann aus dieser Lösung durch Schwefelsäure gefällt werden. Nach vollkommenem Auswaschen und Trocknen wurden einige Analysen gemacht, um einen Einblick in seine procentische Zusammensetzung zu erhalten. Hierbei zeigten sich bei Präparaten verschiedener Darstellung ausserordentliche Differenzen, namentlich bedingt durch Unterschiede im Aschengehalt. Und auch hier fand sich, neben Eisen, Chrom in der Asche vor, und durch Salzsäure erfolgte keine Lösung derselben.

1. 0,3047 g gaben 0,5308 g CO₂, 0,1325 g H₂O u. 0,0535 g Asche.
2. 0,1946 » » 0,3228 » » 0,0908 » » » 0,0327 »
3. 0,3329 » » 0,4921 » » 0,1311 » » » 0,0875 »
4. 0,2878 » » 22,9 ccm. N bei 737 B und 15,5°.

Herr Kölle fand dagegen folgende Werthe:

5. 0,305 g gaben 0,6055 g CO₂, 0,150 g H₂O u. 0,025 g Asche.
6. 0,2135 » » 17,4 ccm. N bei 714 mm. B. und 18°.

Aus diesen Analysen ergaben sich nun folgende procentische Werthe:

	1	2	3	4	5	6
% C	47,51	44,79	40,32	—	54,14	—
% H	4,83	5,18	4,38	—	5,96	—
% N	—	—	—	9,01	—	8,81
% Asche	17,56	16,8	26,19	—	8,19	—

Die Analysen 1—4 sind von Präparaten erhalten, bei deren Gewinnung der Eisessig über freiem Feuer abdestillirt wurde, bei 5 und 6 wurde er im Vacuum entfernt. Die höhere Temperatur scheint also einen wesentlichen Einfluss auf die Zusammensetzung dieses Körpers zu haben.

Herr Kölle hat nun denselben einer weiteren Oxydation unterworfen und zwar in alkalischer Lösung durch Kaliumpermanganat, da Eisessig nicht mehr geeignet war.

5 g, in Soda gelöst, wurden bei Zimmertemperatur nach

und nach mit 50 ccm. einer vierprocentigen Lösung des erwähnten Salzes versetzt, welche Menge ungefähr zwei Atomen Sauerstoff auf eine dem Hämatin an Grösse ähnliche Molekel entspricht. Nach zwei Tagen war das Permanganat verbraucht, es wurde vom Manganschlamm abfiltrirt, dann das Filtrat mit Schwefelsäure sauer gemacht, wieder filtrirt und das Filtrat ausgeäthert. Der Aether hinterliess schliesslich einen Syrup, der bald krystallisirte. Er wurde, wie früher besprochen, in das Calciumsalz übergeführt, beim Erhitzen der Lösung entstand ein Niederschlag,¹⁾ das Filtrat von demselben enthielt nur noch geringe Mengen Calciumsalz.

0,0695 g des ausgefallenen Kalksalzes gaben dann 0,020 g $\text{CaO} = 20,57\%$ Ca, welcher Werth ja sehr gut mit den früher gefundenen übereinstimmt.

Durch weitere Oxydation lieferte also auch dieser Körper nochmals allerdings nur sehr geringe Mengen von $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_5$. Was sich sonst noch bildet, wird die weitere Untersuchung lehren.

c. Die Oxydation mit einer 20—22 Atomen Sauerstoff entsprechenden Menge des Chromats kann nur bei 2—3tägigem Stehen im siedenden Wasserbade zu Ende geführt werden. Hierbei entwickeln sich nun reichliche Mengen von Kohlendioxyd, die bei 2 Versuchen bestimmt wurden.²⁾

1. Zum Lösen des erhaltenen Baryumcarbonats waren nöthig 42,6 ccm. Normal-HCl.

2. Zum Lösen des erhaltenen Baryumcarbonats waren nöthig 50 ccm. Normal-HCl, das entspricht aber 0,2556 g resp. 0,3 g C, und da jedes Mal 5 g Ht mit 3,24 g C zur Verwendung kamen, 8 resp. 9,2% vom vorhandenen Kohlenstoff.³⁾

Die Menge des auftretenden Ammoniaks wechselt wie bei den Versuchen mit 12 Atomen Sauerstoff.

1) Hier bekam z. B. Herr Kölle zunächst keinen Ausfall beim Erhitzen der Kalksalzlösung, erst nachdem er die Säure regenerirt und von Neuem die Kalksalze dargestellt hatte, stellte sich die beschriebene Reaction ein, wahrscheinlich war das erste Mal Säure als solche noch vorhanden und verhinderte das Entstehen des Niederschlags.

2) Die Methode blieb dieselbe wie auf S. 24 angegeben.

3) Im ersten Falle war die Chromsäure bei Beendigung des Versuchs noch nicht völlig verbraucht.

1.	5 g Ht gaben ca.	0,5 g NH_4Cl	= 27,5%	des vorhandenen Stickstoffs
2.	5 » » » »	0,7 » » »	= 38,7%	» » » »
3.	5 » » » »	0,2 » » »	= 11%	» » » »
4.	5 » » » »	0,46 » » »	= 25,2%	» » » »
5.	5 » » » »	0,47 » » »	= 25,3%	» » » »

Bei den beiden letzten Versuchen war die alkalische Lösung des Hämatins (vor der Oxydation) mehrere Stunden erhitzt worden, bei Versuch 3 war das Hämatin in der Kälte bereitet worden.

Der eisenhaltige, nur in Alkalien lösliche Körper, dessen Menge bei 12 Atomen Sauerstoff noch 40% vom verwendeten Hämatin ausmacht, verschwindet jetzt fast vollständig.

Dagegen wird die Ausbeute an ätherlöslichen Produkten etwas besser, erhalten wurden z. B.:

1.	Aus 10 g Hämatin	: 4,8 g	= 48%	} des verwendeten Hämatins.
2.	5 » » » »	: 2,1 »	= 42%	
3.	15 » » » »	: 7,1 »	= 47,5%	

Und diese bestehen nun auch noch zum grössten Theile aus den Hämatinsäuren, und zwar ist $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_5$ manchmal nur in ganz geringen, manchmal in recht bedeutenden Mengen vorhanden. Der Rest ist dann $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_4$, abgesehen von dem Antheil, der beim Umkrystallisiren der löslichen Kalksalze aus heissem Wasser schliesslich in den Mutterlaugen verbleibt. Bei der Analyse der beim Erkalten ausfallenden Antheile, die abgesaugt und mit kaltem Wasser nachgewaschen sind, ergaben sich z. B. folgende Resultate:

1. 0,3326 g über H_2SO_4 getrocknet verloren bei 100° 0,0103 g und gaben 0,0423 g CaO.

2. 0,1664 g über H_2SO_4 getrocknet verloren im Vacuum nicht an Gewicht, bei 100° 0,0094 g und gaben 0,0219 g CaO.

3. 0,1294 g aus der Mutterlauge vom vorigen Salz gewonnen und einmal umkrystallisirt, verloren im Vacuum nichts, bei 105° 0,0065 g und gaben 0,0175 g CaO.

Berechnet für:			Gefunden:		
			I.	II.	III.
$(\text{C}_8\text{H}_8\text{NO}_4)_2\text{Ca}$	+ H_2O				
%	H_2O	4,27	3,09	5,35	5,02
%	Ca	9,90	9,38	9,87	9,66

Trotzdem nun der Wassergehalt recht erheblich differirt, glaube ich doch, dass es sich um einheitliches Material handelt.

Aus den vereinten Kalksalzen wurde die Säure wieder hergestellt und aus Essigester umkrystallisirt, sie zeigte dann den Schmelzpunkt : 114—116° bei langsamem Erhitzen, bei rascherem 110—111°.

Die Theile der Spaltungsprodukte, welche bei der Reinigung der Säuren aus alkalischer Lösung in den Aether gehen, konnten bisher nur als harzartige Masse erhalten werden. Die Verarbeitung der nach dem Abblasen des Ammoniaks verbleibenden Flüssigkeit auf organische Körper lieferte nur Spuren einer stickstofffreien, stark hygroskopischen Masse.

B. Oxydation des Hämatins in alkalischer Lösung.

1. Durch Ferricyankalium.

Bei den bisher beschriebenen Versuchen war das Hämatin etwa in der 60fachen Menge Eisessigs gelöst worden, um oxydirt werden zu können. Nun war es ja nicht unmöglich, dass auch saure, flüchtige Spaltungsprodukte bei dieser Oxydation auftreten. Solche nachzuweisen, glückte, wie erwähnt, nicht, doch machte der grosse Ueberschuss an Essigsäure einen Erfolg in dieser Hinsicht von vornherein zweifelhaft. Es erschien daher angebracht, die Oxydation des Hämatins auch einmal in alkalischer Lösung zu prüfen, und zunächst wurde zu diesem Zwecke ein schwaches Oxydationsmittel, das Ferricyankalium, gewählt.

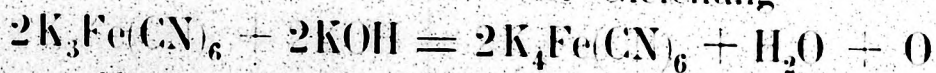
Herr Kölle liess in Form dieses Salzes 8 Atome Sauerstoff einwirken, indem 5 g Hämatin in starker Kalilauge gelöst — es wurden 22 g KOH verwendet — und nun im Laufe eines Tages 44 g Ferricyankalium in wässriger Lösung eingetragen wurden. Zur Beendigung der Reaction wurde noch 2 Stunden auf dem Wasserbade erwärmt, dann gab eine herausgenommene Probe mit HNO₃ angesäuert und filtrirt mit Silbernitrat einen rein weissen Niederschlag — das Ferrisalz war verbraucht. Jetzt wurde mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und auf dem Wasserbade so lange erwärmt, bis der Geruch nach Blausäure verschwunden war. Hierbei entsteht ein dunkel gefärbter Niederschlag (F), welcher abgesaugt wurde. Das

erhaltene Filtrat kam zur Ausätherung, der ätherische Auszug hinterliess 1,2 g eines gelben Syrups, der allmählich Krystalle absetzte. Auch hier gelang es, durch das Kalksalz den Nachweis zu führen, dass dreibasische Hämatinsäure vorliegt. Das beim Erhitzen ausfallende Kalksalz gab nämlich die folgenden Werthe: 0,824 g lieferten 0,230 g CaO = 19,9% Ca.

Der durch Schwefelsäure gefällte Körper F wurde nun abermals in Kalilauge gelöst und mit der gleichen Menge Ferricyankalium, wie Anfangs, versetzt; auch diese wurden verbraucht. Auf gleiche Weise, wie oben geschildert, gelang es, ein beim Erhitzen ausfallendes Kalksalz mit 20,41% Ca zu erhalten (0,828 g gaben 0,239 g CaO).

Nach diesen Versuchen scheinen sich also entweder bei der erneuten Einwirkung wieder Complexe vom Reste des Hämatinmoleküls loszulösen, welche durch Ferricyankalium zu $C_8H_5O_5$ oxydirt werden, oder es bleibt bei der ersten Oxydation überhaupt ein Theil des Hämatins unverändert, und dieser wird erst von der zweiten Portion des Oxydationsmittels angegriffen.

Aehnlich gestalten sich die Verhältnisse, wenn von vornherein 12 Atome Sauerstoff zur Einwirkung kommen: ich möchte erwähnen, dass die nach der Gleichung



berechnete Menge Kalihydrat nicht genügt, sondern dass mindestens die doppelte Menge verwendet werden muss. Dann vollzieht sich aber die Oxydation sehr rasch, und es scheidet sich aus der alkalischen Flüssigkeit ein Niederschlag ab, der anorganischer Natur ist und wohl aus Eisenoxyd besteht. Die von diesem abfiltrirte Flüssigkeit wurde nun mit Schwefelsäure angesäuert, der starke Niederschlag (F') filtrirt, das nach Blausäure riechende Filtrat mit Wasserdämpfen destillirt, das Destillat nach Behandlung mit Calciumcarbonat auf dem Wasserbade verdampft, der Rückstand mit Schwefelsäure angesäuert und von Neuem mit Wasserdampf destillirt, wobei aber das Uebergehen eines sauer reagirenden Körpers nicht beobachtet werden konnte.

Die nach dem Verjagen der Blausäure zurückbleibende

Flüssigkeit wurde nun ausgeäthert und schliesslich 0,75 g ätherlösliche Säure erhalten, welche, wie gewöhnlich, in das Kalksalz übergeführt wurde. Beim Erhitzen der Lösung desselben entstand ein kleiner Niederschlag, 0,2668 g desselben gaben 0,0765 g CaO = 20,48% Ca. Die regenerirte Säure krystallisirte sofort, schied sich dann beim Umkrystallisiren aus heissem Wasser als Oel ab, das aber beim Berühren mit einem Krystall von $C_8H_8O_5$ momentan krystallisirte.

Der zuerst durch Schwefelsäure gefällte Körper F' lieferte endlich bei weiterer Oxydation ganz geringe Mengen ätherlöslicher Produkte, unter denen $C_8H_8O_5$ wiederum enthalten ist, da ein beim Erhitzen der kalten Lösung ausfallendes Ca-Salz mit allerdings nur 19,14% Ca erhalten wurde. (0,0821 g gaben 0,0220 g CaO.)

2. Durch Ammoniumpersulfat.

Nachdem Vorversuche gezeigt hatten, dass Ammoniumpersulfat in stark alkalischer Lösung auf Hämatin einwirkt und dass die Oxydation bis zur fast völligen Entfärbung geführt werden kann, wurden 25 g Hämatin, aus nach Nencki's Methode dargestellten Hämin erhalten, in Portionen von 5 g verarbeitet. Die Oxydation wurde durch Erwärmen auf dem Wasserbade unterstützt, die Reaction stets alkalisch gehalten, so dass sich beständig Ammoniak entwickelte. Nach Verbrauch von ca. 20 Atomen Sauerstoff, auf die Molekel Hämatin berechnet, war die alkalische Flüssigkeit nur noch hellbraun gefärbt, und es hatte sich ein Niederschlag abgeschieden, von welchem abfiltrirt wurde. Er erwies sich als ganz anorganisch und bestand aus Eisenoxyd. Das Filtrat wurde eingeeengt, mit Schwefelsäure sauer gemacht und mit Wasserdämpfen destillirt; das Destillat durch Soda alkalisch gemacht, darauf eingedampft und der Rückstand mit absolutem Alkohol extrahirt. Nach Abdestilliren desselben blieb ein weisses Salz, welches etwa wie Buttersäure roch. Bei einem zweiten Versuch mit 20 g nach Schalfejew's Vorschrift bereiteten Hämatin wurden dagegen flüchtige Säuren nur in Spuren aufgefunden. Das beim ersten Versuche erhaltene Salz entstammt daher wohl dem

Isoamylalkohol, der einst zur Extraction des Hämins gedient hatte und bekanntlich sehr schwer zu entfernen ist.¹⁾

Die sauren Flüssigkeiten wurden nun ausgeäthert und gaben 2 resp. 3 g ätherlösliche Produkte, welche zunächst amorph waren, nach einiger Zeit aber mit Krystallen durchsetzt erschienen. Die vereinte Menge wurde im Wasser gelöst, darauf einen Tag lang mit Calciumcarbonat in der Kälte behandelt, filtrirt und das Filtrat wieder ausgeäthert.

Die Lösung der Kalksalze gab beim Erhitzen keinen Ausfall — $C_8H_8O_5$ ist also nicht vorhanden — beim Stehen im Vacuum bildete sich ein dicker Syrup, der noch nicht näher untersucht ist.

Die ätherische Lösung hinterliess einen Rückstand, der zwar bald krystallisirte, doch zum Mindesten, nach der Form der Krystalle zu urtheilen, aus 2 Säuren bestand. Die wässrige Lösung derselben wurde nun mit Chloroform ausgeschüttelt, in das bis jetzt nicht krystallisirte Theile übergehen, die wässrige Lösung gab nach dem Verdunsten des Wassers einheitlichere Krystalle, die nunmehr auf einem Thonteller getrocknet und dann aus heissem Essigester umkrystallisirt wurden. Nach dem Absaugen und Nachwaschen mit Essigester zeigten sie den Schmelzpunkt $180-181^\circ$, wobei geringe Zersetzung eintrat. Beim Erhitzen auf dem Platinblech traten heftig zum Husten reizende Produkte auf.

Die Lösung des Ammoniaksalzes gab mit Chlorbaryum einen Niederschlag, desgleichen, wenn nach dem Versetzen mit Ferrichlorid zum Sieden erhitzt wurde. In Soda gelöst erfolgte Entfärbung von Kaliumpermanganat erst nach einigen Stunden. Es liegt also wohl Bernsteinsäure vor.

Allerdings gab die Analyse des Silbersalzes keinen scharf stimmenden Werth:

0.2691 g vacuumtrocken gaben 0.2257 g $AgCl = 63.2\%$ Ag.

¹⁾ So erhielt Herr Kölle, als er den Eisessig im Vacuum abdestillirte, welcher zum Lösen des Hämatins gedient hatte, unter den zuerst übergehenden Theilen den am charakteristischen Geruch leicht erkennbaren essigsäuren Amylester.

Auch nachdem die regenerirte Säure aus 4 Theilen heisser Salpetersäure umkrystallisirt war, wurde ein nicht viel besseres Resultat erhalten¹⁾:

0,0932 g gaben 0,0787 g AgCl.	
Berechnet für: $C_4H_4Ag_2O_2$	Gefunden:
% Ag 65,06.	63,6.

Bei dieser sehr energischen Oxydation des Hämatins verschwinden also die Hämatinsäuren völlig aus der Reactionsmasse. Ob sie es sind, die bei weiterer Oxydation Bernsteinsäure liefern, oder ob letztere ein Spaltungsprodukt der Hämatinhälfte ist, welche in saurer Lösung bisher nicht zu krystallisirenden Körpern abgebaut werden konnte, bleibt weiterer Untersuchung vorbehalten.

Tübingen, am 20. Juni 1899.

¹⁾ Als aber dieses Verfahren noch einmal wiederholt wurde, bekam ich ein Silbersalz mit 65,57% Ag.

(0,0365 g gaben 0,0318 g AgCl).