

Untersuchungen über den Blutfarbstoff.

Von

M. Nencki und J. Zaleski.

Mit einer Tafel und drei Abbildungen.

Der Redaction zugegangen am 9. Juli 1900.)

I. Ueber die Aether des Hämins.

Es sind nahezu 50 Jahre seit der Entdeckung der Häminkrystalle durch Reichmann verflossen und bis auf den heutigen Tag sind die Chemiker über die Zusammensetzung dieses Körpers nicht einig. Wohl findet jeder Autor, dass die, nach dem von ihm ausgearbeiteten Verfahren dargestellten Häminkrystalle bei den Elementaranalysen unter einander übereinstimmende oder nahezu übereinstimmende Zahlen ergeben, die aber mit den Analysen seiner Vorgänger nicht übereinstimmen. Da bei der Reinigung und Analyse seines Präparates der Autor es an der nöthigen Sorgfalt nicht fehlen liess und das Präparat bei der mikroskopischen Besichtigung ihm keine fremden Beimengungen und mehr oder weniger homogene Krystalle zeigt, so kommt er meistens zu dem Schluss, dass die Präparate seiner Vorgänger noch nicht hinreichend von fremden Beimengungen befreit wurden, jedenfalls nicht so rein wie das seinige waren. Hie und da wurde die Ansicht ausgesprochen, dass es verschiedene Hämine geben muss, warum aber bei verschiedenen Darstellungsmethoden verschiedene Hämine erhalten werden, war bis jetzt unbekannt.

Seit den ersten, im Jahre 1884 publicirten Untersuchungen von M. Nencki und N. Sieber über das Hämin und das Hämatin sind nach einer längeren Pause in den letzten Jahren

zahlreiche Arbeiten über diesen Gegenstand erschienen, so namentlich die von W. Küster und seinen Mitarbeitern, von M. Cloetta,¹⁾ M. Bialobrzewski,²⁾ K. A. H. Mörner,³⁾ M. Chalféïeff,⁴⁾ Cazeneuve und Breteau⁵⁾ und M. Rosenfeld.⁶⁾ In den meisten dieser Arbeiten sind werthvolle Beiträge zur Kenntniss dieses Farbstoffs enthalten. Die Thatsache, dass das Hämin kein salzsaures Salz des Hämatins ist, sondern dass im Hämin das Chlor an Kohlenstoff oder Eisen gebunden ist, wird nicht mehr bezweifelt. Uebereinstimmend wird angegeben, dass das Chlor des Hämins durch langes Waschen mit heissem Wasser fast vollständig entfernt resp. durch Hydroxyl ersetzt, ebenso dass auch das Eisen des Hämins durch Alkalien in der Wärme theilweise abgespalten wird. Die Angabe von Cloetta und Rosenfeld, dass im Hämin auf 1 Atom Eisen nur 3 Atome Stickstoff enthalten sind, wurde als durch die Einwirkung von concentrirter SO_4H_2 auf das Hämin resp. durch die Schwierigkeit, bei den Elementaranalysen aus dem Hämin allen Stickstoff auszutreiben, hinreichend als unrichtig aufgeklärt.

Für das Verständniss der wahren Ursache, warum von verschiedenen Autoren je nach dem Darstellungsverfahren Hämine von verschiedener procentischer Zusammensetzung erhalten werden, war in der Häminforschung noch ein weiterer Schritt nothwendig, nämlich die Erkenntniss der in Nachfolgendem zu begründenden Thatsachen, dass im Häminmolekül zwei Hydroxyle enthalten sind und dass dieser Farbstoff nicht allein mit ausnehmender Leichtigkeit mit Säure- und Alkylradicalen Aether, sondern selbst mit indifferenten Verbindungen Additionsprodukte bildet.

Der Eine von uns und N. Sieber waren die ersten,

1) Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm., Bd. 36, S. 349, 1895.

2) Ber. d. deutschen chem. Gesellsch., Bd. 29, S. 2842.

3) Nordisk med. Arkiv, Festband 1897, Nr. 1 u. 27.

4) Le physiologiste russe, Vol. 1, p. 15, 1898.

5) Bull. soc. chim., T. 21—22, 1899.

6) Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm., Bd. 40, S. 137.

welche constatirten, dass die mit salzsäurehaltigem Amylalkohol aus dem Blute extrahirten Häminkrystalle in ihrem Molekül Amylalkohol enthalten, und wir haben schon damals vorausgesetzt, dass die mit Eisessig bereiteten Krystalle in ihrem Molekül Essigsäure enthalten werden. Dies ist auch hernach von F. Hoppe-Seyler¹⁾ bestätigt worden. Diese Thatsachen wurden aber von den späteren Forschern wenig beachtet, obgleich die Verwendung von Alkohol und Mineralsäuren bei der Darstellung der Häminkrystalle wohl den Verdacht erwecken sollte, dass ein geringer Theil des Hämins ätherificirt werden könnte. Der Gedanke, dass die Verschiedenheit der Hämine dadurch bedingt ist, dass dem Hämin par excellence von der Zusammensetzung: $C_{32}H_{31}ClN_4O_3Fe$ mehr oder weniger Additionsprodukte oder Aetherarten beigemischt sind, wurde uns sehr wahrscheinlich, als wir, anlässlich der in unserem Laboratorium ausgeführten Arbeit von M. Bialobrzewski,²⁾ die Beobachtung machten, dass Häminlösungen in Amylalkohol, der etwas Chlorwasserstoff enthielt, längere Zeit erhitzt, ein Produkt lieferten, das sich in Alkalien nicht mehr löste. Wir haben daher, zum Theil gemeinschaftlich mit Hrn. mag. pharm. L. Rózycki, die Untersuchung über das Hämin nach dieser Richtung hin wieder aufgenommen, und es ist uns gelungen, mehrere Aether des Hämins rein darzustellen und so verschiedene, anscheinend widersprechende Angaben über das Hämin und Hämatin aufzuklären.

Bevor wir jedoch zur Beschreibung der von uns erhaltenen Verbindungen übergehen, ist es zweckmässig, um Wiederholungen zu vermeiden, einige Worte über die analytischen Methoden voranzuschicken.

Nicht allein die Reindarstellung der so leicht veränderlichen und zersetzlichen Körper ist mit besonderen Schwierigkeiten verbunden; auch die Elementaranalysen der Häminpräparate erfordern gewisse Cautelen, deren Nichtbeachtung zu irrigen Schlüssen führen kann. Es betrifft dies namentlich die Ermittlung des Stickstoffgehaltes. Wir haben schon früher

1) Ber. d. deutschen chem. Gesellsch., Jahrg. 1885, S. 603.

2) Ibid., Jahrg. 1896, S. 2842.

hervorgehoben, dass in den Hämin- und Hämatoporphyrinpräparaten bei der volumetrischen Bestimmung das Stickgas erst beim direkten Glühen mit Kupferoxyd entweicht und dass es stundenlangen, anhaltenden Erhitzens bis zur Weissgluth eines innigen Gemisches mit pulvrigem Kupferoxyd bedarf, um allen Stickstoff aus der Substanz zu erhalten. In dieser Hinsicht leisten die schwer schmelzbaren Röhren aus Jenaer Glas vortreffliche Dienste und kann das gleiche Rohr mehrere Male benutzt werden. Verbrennungen der Häminpräparate unter Zusatz von chromsaurem Blei sind nicht zu empfehlen, da dann dem aufgefangenen Stickstoff Sauerstoff beigemischt ist, der nachträglich entfernt werden muss. Den gleichen Schwierigkeiten begegnet man, wie Mörner hervorhebt, bei der Stickstoffbestimmung in Häminpräparaten nach Kjeldahl. Nach der ursprünglichen Kjeldahlschen Methode (Erhitzen mit Schwefelsäure nebst Phosphorsäureanhydrid, bis die Flüssigkeit nur noch schwach gefärbt war, und Oxydation mit Kaliumpermanganat) wurden stets, auch bei sehr andauerndem Erhitzen, zu niedrige Stickstoffwerthe erhalten, dies um so mehr, je kürzer die Erhitzung war. Wenn nach Wilfarth die Zersetzung bei der Gegenwart von Quecksilberoxyd ausgeführt wurde und das Erhitzen nicht nur so lange, bis Entfärbung eintrat, sondern noch einige Stunden länger bei schwachem Sieden der Schwefelsäure fortgesetzt wurde, erhielt Mörner Werthe, die mit den nach der volumetrischen Methode erhaltenen übereinstimmten. Bei kürzerem Erhitzen wurden viel zu niedrige Resultate erhalten — 7,18% statt 8,28% N und 7,44% statt 8,39% N (vgl. Mörner, Nordiskt medicinskt Arkiv, Festbd. Nr. 1 p. 6).

Dieser Umstand war für Einen von uns Veranlassung zu untersuchen, ob im Häminmolekül ausser Stickstoff nicht etwa Argon enthalten sei.¹⁾ Das Resultat war negativ. Aller Wahrscheinlichkeit nach bilden sich beim Erhitzen der Hämatinpräparate Produkte, wie z. B. das Paracyan, aus welchen nur schwierig der Stickstoff abspaltbar ist.

¹⁾ J. Zaleski, Ber. d. deutschen chem. Ges., Jahrg. 1897, S. 965.

Chlor und Eisen haben wir in gleicher Portion durch Erhitzen mit NO_3H und NO_3Ag in zugeschmolzenem Rohr bestimmt. Da das Chlor durch die Waschflüssigkeiten aus den Häminpräparaten entfernt wird, so empfiehlt es sich, den betreffenden Flüssigkeiten (Alkohol, Aceton, Wasser) 0,5—0,1% HCl zuzusetzen. Beim Trocknen der Substanz, anfangs zwischen Fließpapier, später über concentrirter SO_4H_2 und Aetznatron in vacuo, entweicht der überschüssige Chlorwasserstoff vollständig. Es empfiehlt sich ferner, wenn der Häminniederschlag anfangs z. B. mit Alkohol, später mit Wasser ausgewaschen werden soll, den Alkohol stufenweise zu verdünnen, indem man anfangs 50%, dann 30%, dann 10% Alkohol und zuletzt Wasser zum Auswaschen verwendet.

Wie weiter unten gezeigt werden wird, krystallisiren die verschiedenen Hämine in verschiedenen Systemen. So gehören die Krystalle des Acethämins dem triklinischen System an, während die Aether des Hämins mit Alkylradicalen verschiedene Formen des rhombischen Systems zeigen. Eine mikroskopische Untersuchung im Polarisationsmikroskope, wie er für mikrokrystallographische Messungen verwendet wird, belehrt uns sofort, ob wir es mit einer einheitlichen Substanz oder einem Gemisch verschiedener Hämine zu thun haben.

Vorzügliche Dienste hat uns die Zeissel'sche¹⁾ Methode der Methoxyl-, eigentlich Alkyloxylbestimmung, geleistet. Obgleich wir, speciell bei dem Hämin- und Hämatoporphyrinäther, auch bei Präparaten, deren Elementaranalyse scharf mit der berechneten Formel übereinstimmte, manchmal ein Deficit zwischen 0,4—1% von den theoretischen Werthen hatten, so konnten wir immer mit hinreichender Schärfe bestimmen, ob die betreffende Verbindung ein oder zwei Hydroxyle enthält. Den Grund dieses Deficits haben wir nicht aufgeklärt. Wir haben das aus dem Alkyljodid erhaltene AgI nach dem kürzlich von L. Vanino und O. Hauser²⁾ beschriebenen Ver-

1) Vergl. hierüber: Anleitung zur quantitativen Bestimmung der organischen Atomgruppen von Dr. Hans Meyer, Berlin 1897, S. 45.

2) Ber. d. deutschen chem. Gesellsch., Jahrg. 1899, S. 3615.

fahren mit der Pottasche-Formaldehydlösung auf etwaigen Gehalt an Chlorsilber wiederholt geprüft. Die filtrirte mit heisser Salpetersäure versetzte Lösung gab mit Salzsäure keinen wägbaren Niederschlag. Dem erhaltenen Agl war demnach kein AgCl, etwa von dem Chlor des Hämins her stammend, beigemischt. Nach der Methode von J. Herzig und H. Meyer¹⁾ haben wir auch constatiren können, dass in den Häminen kein Alkyl an Stickstoff gebunden ist und folglich der Stickstoff hydrolytisch aus den Häminen nur als Ammoniak abgespalten werden kann.

Acethämin.

In dem in Moskau in französischer und deutscher Sprache von Prof. Morochowetz herausgegebenen Journal *Le physiologiste russe*²⁾ hat Herr Schalfejeff die interessante Beobachtung mitgetheilt, dass die aus defibrinirter Blüte bei Erwärmen mit Eisessig erhaltenen Häminkrystalle durch Auflösen in chininhaltigem Chloroform — auf 1 g Hämin 1 g Chinin in 50 g Chloroform — und Vermischen der Lösung mit salzsäure- oder essigsäurehaltigem Alkohol umkrystallisirt werden können. In chininhaltigem Chloroform löst sich das Hämin, bei gelindem Erwärmen während 10—15 Minuten, allmählich auf mit Hinterlassung eines wenig gefärbten, geringen Rückstandes, von Schalfejeff *carcasse* genannt; und wenn die davon abfiltrirte, warme Lösung mit essig- oder salzsäurehaltigem Alkohol langsam unter Umrühren versetzt wird, so bilden sich alsbald die charakteristischen Krystalle, auf die wir später noch zurückkommen werden. Man erhält circa 85% der angewandten Krystalle wieder; etwa 6% bleiben in Chloroform ungelöst als *carcasse* zurück; der Rest ist in der Mutterlauge der Krystalle gelöst. Schalfejeff ist der Ansicht, dass das Hämin aus 2 Substanzen besteht, wovon die eine — die *carcasse* — ungefärbt und nur wenig Eisen

¹⁾ Vergl. Hans Meyer l. c. S. 72 und Wiener Monatshefte für Chemie, 15, 613 u. 16, 599.

²⁾ *Le physiologiste russe*. Vol. I. 15. Moscou 1898.

enthält, während die andere — die aus dem Chloroform und angesäuertem Alkohol abgeschiedenen Krystalle — stark eisenhaltig ist. Elementaranalysen der Krystalle oder der *carcasse* wurden von Schalfejeff nicht gemacht.

Bei der Wiederaufnahme unserer Untersuchungen über das Hämin haben wir schon anlässlich der Arbeit des Herrn Bialobrzeski gesehen, dass die Ausbeute an Hämin nach der Vorschrift von Schalfejeff eine grössere als bei der Extraction des Hämoglobins mit Amylalkohol ist. Allerdings ist die Operation auch viel kostspieliger. Wir haben für unsere Untersuchung, sowie für die Darstellung des Hämatoporphyrins, mehr als ein halbes Kilo Hämin durch Extraction des Blutes mit Eisessig dargestellt und einen grossen Theil davon entweder in ammoniakalischem Alkohol oder in chininhaltigem Chloroform nach Schalfejeff gelöst und in beiden Fällen aus Eisessig umkrystallisirt. Nach unseren Erfahrungen ist folgendes Verfahren das zweckmässigste, um ein Produkt, das wir Acethämin nennen werden, zu erhalten. In einen Liter Eisessig wird pulveriges Kochsalz, bis bei Zimmertemperatur nichts mehr davon gelöst wird, eingetragen und die Lösung auf dem Wasserbade auf $90-95^{\circ}$ erwärmt. Jetzt wird zu dem Eisessig 200 ccm. frisches, defibrirtes und durch Mousseline filtrirtes Blut — wir benutzten meistens Rinder- oder Pferdeblut — zugesetzt. Die Mischung wird unter häufigem Umrühren noch 10 Minuten auf dem Wasserbade erwärmt und, wenn die Temperatur der Lösung wieder $85-90^{\circ}$ erreicht hat, durch Mousseline in hohe Bechergläser filtrirt. Schon während des Filtrirens scheiden sich, mit geronnenen Eiweisspartikelchen vermischt, die rothviolett glitzernden Krystalle des Hämins auf dem Mousseline ab. Der Verlust ist aber gering und dafür erhält man ein viel reineres Präparat. Nach 24-stündigem Stehen wird die Essigsäure abgegossen und der Bodensatz von Krystallen 4—5 Mal mit Wasser übergossen, anfangs durch Decantation, schliesslich auf dem Filter mit Wasser, später mit $60-70\%$ igem Alkohol nachgewaschen und die Krystalle *in vacuo* über SO_4H_2 getrocknet. Aus 100 Liter Eisessig und 20 Liter Blut werden durchschnittlich 110 g.

Hämin, d. h. gegen 5,5 g aus einem Liter Blut erhalten. Zu erwähnen wäre noch, dass Ueberschuss von Kochsalz, selbst wenn bei 90° nicht alles gelöst ist, keine störende Wirkung hat. Die Häminkrystalle fallen dann beim Erkalten mit Kochsalz vermengt aus, welches letztere durch Waschen mit Wasser leicht entfernt wird. Mehr als 200, höchstens 220 ccm. Blut auf 1 Liter Eisessig zu nehmen, ist nicht rathsam. Die Ausbeute wird dadurch nicht grösser und der Farbstoff fällt weniger rein, zum Theil amorph aus.

In wässerigen Alkalien ist der getrocknete Farbstoff leicht löslich und wird daraus durch Säuren als Hämatin amorph gefällt. In alkoholischen Lösungen von Ammoniak oder organischen Basen wie Chinin, Trimethylamin, Pyridin u. s. w. ist dieses Hämin ebenfalls löslich und kann daraus unter bestimmten Umständen, auf die wir gleich zu sprechen kommen, krystallinisch erhalten werden. Man kann daraus Hämin von gleicher Krystallform wie die erste Krystallisation oder je nach dem Zusatz von Mineralsäure und verschiedenen Alkoholen Krystalle von ganz verschiedener Form und Zusammensetzung erhalten.

Um die so erhaltenen Krystalle, die wir als Rohacet-hämin bezeichnen wollen, umzukrystallisiren, müssen sie zunächst gelöst werden. Zu dem Zwecke werden 15 Vol. 96° ige Alkohols mit 4 Vol. Wasser und 1 Vol. wässerigen Ammoniaks (spec. Gew. 0,91) versetzt und 40—60 ccm. davon für je 1 g Hämin verwendet. Nach einer viertel bis halben Stunde bei Zimmertemperatur und häufigem Umschütteln ist die Hauptmenge des Hämins gelöst mit Hinterlassung von geringen Mengen corrodirtcr Häminkrystalle, hauptsächlich aber wenig gefärbter amorpher Partikel. Die filtrirte ammoniakalische Lösung wird jetzt in auf 105—115° vorgewärmten, mit Kochsalz gesättigten Eisessig in kleinen Portionen eingetragen — 4—6 Vol. Eisessig auf 1 Vol. der ammoniakalischen Lösung. Wird weniger Eisessig genommen, so erfolgt die Krystallisation sofort: die Krystalle sind aber klein und mit amorphen Körnern vermengt. Bei mehr als 6 Volumen Eisessig auf 1 Vol. der ammoniakalischen Lösung bleibt viel

vom Hämin in der Lösung zurück oder es scheiden sich überhaupt keine Krystalle aus.

Die Auflösung der Krystalle kann statt durch NH_3 durch Chinin geschehen, dann ist es aber zweckmässig, statt Alkohol Chloroform zu verwenden. Die besten Verhältnisse sind die von Schaffejeff angegebenen. Auf 1 g Hämin 1 g Chinin in 40—50 g Chloroform gelöst und auf 1 Vol. der filtrirten Lösung 4—6 Vol. des heissen mit Kochsalz gesättigten Eisessigs. Das Eingiessen der Chloroformlösung muss, namentlich bei Arbeiten mit grösseren Quantitäten, in dünnem Strahle und unter fortwährendem Umrühren, um Ueberschäumen zu verhüten, geschehen.

Nach dem einen wie nach dem andern Verfahren erhält man für 10 g des Rohproduktes 6—8 g des unkrystallisirten Hämins. Es ist besser, die alkalischen Lösungen nicht zu erwärmen; allerdings 10—15 Minuten langes Erwärmen der Chloroformlösung auf 40—50° beschleunigt die Auflösung des Hämins und das unkrystallisirte Produkt ist rein und von der charakteristischen Krystallform, aber die Ausbeute wird geringer. Beim längeren Erwärmen der alkalischen Lösungen werden überhaupt keine Krystalle erhalten. Nach mehrwöchentlichem Stehen selbst bei Zimmertemperatur verlieren namentlich die ammoniakalischen Lösungen die Fähigkeit, Krystalle zu bilden, offenbar weil alles Hämin in Hämatin übergegangen und zum geringen Theil auch Eisen abgespalten ist. Ein höherer Ammoniakgehalt, auch in der Kälte, ist ebenfalls von Schaden. Statt 70° iger stärkeren oder absoluten Alkohol anzuwenden, hat den Nachtheil, dass das Hämin sich darin weniger löst und zur völligen Lösung mehr Flüssigkeit resp. mehr NH_3 erforderlich ist. Es ist nöthig, genau die mitgetheilten Vorschriften zu beachten, widrigenfalls ist die Ausbeute viel geringer, die Krystalle sind mit amorphen Körnern vermengt oder es scheiden sich beim Erkalten überhaupt keine Krystalle aus.

Statt mit Eisessig haben wir in einigen Versuchen die alkalischen Lösungen mit dem 4—6fachen Volumen auf 100° erwärmter Ameisensäure, normaler Buttersäure und Milchsäure vermischt. Nur aus Buttersäure erhielten wir wohl ausgebildete

Krystalle von der gleichen Form und Zusammensetzung wie die aus Eisessig. Aus Milchsäure wären die Krystalle sehr klein, anscheinend von gleicher Form wie die aus Eisessig; ihr Auslöschungswinkel war bei ca. 28° .

Bei den Elementaranalysen des unkrystallisirten Acethämins erhielten wir folgende Zahlen:

I. Acethämin aus Rinderblut mit Eisessig erhalten, durch Auflösen in alkoholischem NH_3 und Vermischen mit kochsalzhaltigem, auf 108° erwärmtem Eisessig unkrystallisirt. Die abgeschiedenen Krystalle wurden mit Wasser, hierauf stufenweise mit verdünntem, bis zu 80° igem Alkohol gewaschen. Das Wasser wie der Alkohol enthielten 2% HCl . Das Präparat wurde in vacuo über SO_2H_2 und NaOH bis zu constantem Gewichte getrocknet. Hier wie in den nachfolgenden Analysen wurden die Verbrennungen für C und H mit CuO gemacht in der Art, dass das zugeschmolzene Rohr hinten und vorn mit granulirtem CuO beschickt, in der Mitte aber die abgewogene Substanz innig mit pulverigem Bleichromat gemischt wurde. Der Stickstoff wurde über 30% iger KOH aufgefangen und die dadurch verminderte Spannkraft des Wasserdampfes vom Barometerstand abgezogen.

0.2487 g gaben 0.1149 g H_2O u. 0.5706 g CO_2 = 5.14% H u. 62.58% C.
 0.2555 g gaben 19.1 ccm. N-Gas bei 19.0° T u. 762 mm. Bst. = 8.66% N.
 0.3085 g gaben 23.1 ccm. N-Gas bei 18.2° T u. 758 mm. Bst. = 8.65% N.
 0.8199 g gaben 0.1869 g AgCl u. 0.1014 g Fe_2O_3 = 5.64% Cl u. 8.66% Fe.
 0.7013 g gaben 0.1548 g AgCl u. 0.0874 g Fe_2O_3 = 5.46% Cl u. 8.72% Fe.

II. Acethämin in chininhaltigem Chloroform gelöst und durch Vermischen der Lösung mit heissem Eisessig auskrystallisirt.

0.2322 g gaben 17.3 ccm. N-Gas bei 18.0° T u. 755 mm. Bst. = 8.58% N.
 0.4894 g gaben 0.1060 g AgCl u. 0.0601 g Fe_2O_3 = 5.35% Cl u. 8.60% Fe.

III. Acethämin in alkoholischem Ammoniak gelöst und die Lösung mit kochsalzhaltiger, auf 125° erhitzter Buttersäure vermischt. Die abgeschiedenen Krystalle wurden zuerst in vacuo und hierauf bei 105° getrocknet. Der Gewichtsverlust bei 105° betrug 0,2%.

0.3229 g gaben 0.1585 g H_2O u. 0.7393 g CO_2 = 5.45% H u. 62.43% C.
 0.2694 g gaben 0.1330 g H_2O u. 0.6177 g CO_2 = 5.49% H u. 62.52% C.

0.2312 g gaben 17.2 ccm. N-Gas bei 15,5° T. u. 755 mm. Bst. = 8,66% N.

0.4344 g gaben 0,0963 g AgCl = 5,48% Cl.

0.6114 g gaben 0,1359 g AgCl u. 0,0766 g Fe₂O₃ = 5,50% Cl u. 8,77% Fe.

In Procenten wurde gefunden:

C	62.58	—	—	62.43	62,52
H	5.14	—	—	5.45	5.49
N	8.65	—	8.58	8.66	—
Cl	5,64	5,46	5,35	5,48	5,50
Fe	8,66	8,72	8,60	—	8,77

Die Formel: C₃₄H₃₃O₄N₄ClFe Aeq. 652, 5 verlangt:

C 62,53%

H 5,06%

N 8,59%

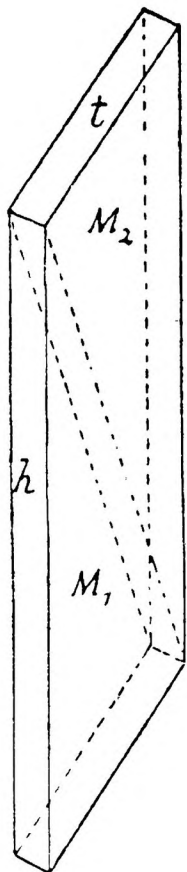
Cl 5,44%

Fe 8,59%

Die analysirten Krystalle waren vollkommen homogen, frei von jeder fremden Beimischung. Herr Dr. Weyberg, Custos der mineralogischen Sammlung an der Warschauer Universität, hatte die Freundlichkeit, das von uns analysirte Acethämin krystallographisch zu untersuchen, und hat uns darüber Folgendes mitgetheilt:

Mikroskopische dünne Blätter und Säulchen des triklinischen Systems. Die grössten von ihnen sind 0,2 mm. lang und 0,05 mm. breit: in auffallendem Lichte von schwachem halbm metallischen Glanze, in durchgehendem Lichte dunkelbraun und wenig durchsichtig. Mit einem Nicol'schen Prisma untersucht, zeigen sie trotz der unbedeutenden Dicke einen sehr starken Pleochroismus, in der Längsrichtung dunkelbraun, fast violett, in der Breite hellbraun, fast strohgelb. Die Krystalle sind stark doppeltbrechend, optisch negativ. In Folge des starken Pleochroismus kann der Charakter der Doppelbrechung und der Auslöschungswinkel nur an den dünnsten und daher kleinsten Krystallen gemessen werden, was die Genauigkeit bedeutend verkleinert. In 20 Messungen wurde der Auslöschungswinkel von 36—30° gefunden. Aus gleichem Grunde können auch die optischen Hauptrichtungen nicht genau bezeichnet werden. Auf den ersten Blick erinnert der Habitus der Krystalle und ihrer sternähnlichen Durchkreuzungsviellinge an die Gypsgestalten. Am häufigsten ist die Form der Ab-

bildung Nr. 2 von Prof. Lagorio¹⁾ entsprechend. Bei der Betrachtung im auffallenden Lichte im Reichert'schen Mikroskope zur Untersuchung der Oberfläche undurchsichtiger Körper ergibt es sich, dass die Ebene M in der Zeichnung von Lagorio eigentlich aus zwei Ebenen M_1 und M_2 besteht.²⁾



Die Ebenen M_1 und M_2 bilden einen sehr stumpfen Winkel, weshalb sie in durchfallendem Lichte den Eindruck einer Fläche machen. Die Fläche t ist meistens sehr stark corrodirt und hat unregelmässige Vertiefungen. Die Krystalle sind so dünn, dass die Ebene h kaum bemerkbar ist. Wegen der Corrosion der Flächen, ihrer Kleinheit und des schwachen Glanzes konnte eine genauere Messung der Flächen- und Kantenwinkel nicht ausgeführt werden. Der Habitus der Krystalle stimmt mit den Zeichnungen des Professors Lagorio und die Grösse des von ihm gemessenen Auslöschungswinkels stimmt ebenfalls mit meinen Messungen überein, so dass die von Prof. Lagorio und mir untersuchten Krystalle als identisch zu betrachten sind».

Es ist zu bemerken, dass anlässlich der Publication von Prof. Schalfejeff³⁾ über die Darstellung des Hämins durch Extraction des defibrinirten Blutes mit Eisessig, die von ihm erhaltenen Krystalle von Professor Lagorio krystallographisch untersucht und das Resultat der Messungen in dem oben citirten Journal veröffentlicht wurde. Die Angaben von Lagorio beziehen sich also auf das nicht umkrystallisirte Rohacethämin. Wie die Bestimmungen von Dr. Weyberg ergeben, wird das Acethämin beim Umkrystallisiren nach den oben ge-

1) Journal der russischen physik.-chemischen Gesellschaft, Bd. 17. S. 36, 1885. Russisch.

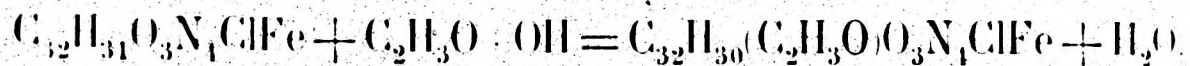
2) Siehe die Figur.

3) Journ. d. russ. phys.-chem. Gesellsch. Bd. 17, S. 30, vgl. auch Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Jahrg. 1885. Ref., S. 232.

gegebenen Vorschriften krystallographisch nicht verändert. Herr Dr. Zemiatschinsky, Professor der Mineralogie an der Petersburger Universität, hatte die Freundlichkeit, auch das Acethämin, das wir aus normaler Buttersäure umkrystallisirten und dessen Elementaranalysen oben mitgetheilt sind, zu untersuchen, und schreibt uns darüber Folgendes:

Die Krystalle — nach einer Richtung hin ausgezogene Blättchen — sind Combinationen, wie sie Lagorio unter Nr. 2 und 3 abgebildet hat: den Auslöschungswinkel habe ich zwischen $34 - 30^\circ$ gefunden, sie sind mit denen von Lagorio abgebildeten identisch.

Wie die empirische Formel zeigt, unterscheidet sich das Acethämin in seiner Zusammensetzung von dem Hämin von Nencki und Sieber nur durch die Acetylgruppe und man könnte denken, dass es daraus durch Einwirkung von Eisessig entstanden und einfach der Acetylcster des Hämins ist.



Weiter unten anzuführende Gründe sprechen gegen diese Annahme. Wir haben zwar aus dem nicht umkrystallisirten Rohacethämin beim Zersetzen mit Alkali mit Sicherheit Essigsäure erhalten. 10 g der über SO_4H_2 und NaOH im Vacuum bis zu constantem Gewichte getrockneten Krystalle wurden mit 6% iger Kalilauge 2 Stunden lang am Rückflusskühler zum Kochen erhitzt. Nach dem Erkalten wurde das Hämatin durch überschüssige verdünnte SO_4H_2 gefällt und das Filtrat sammt Waschwasser der Destillation unterworfen. Das zu Anfang übergegangene Destillat gab mit Eisenchlorid eine rothbraune Färbung und bei Erwärmen einer Probe des Destillates mit Aethylalkohol und SO_4H_2 trat der Geruch nach Essigäther sehr deutlich auf und als das Destillat mit Alkali neutralisirt, zur Trockne verdampft und der Rückstand mit arseniger Säure erhitzt wurde, roch die Schmelze stark nach Kakodyl.

Als wir den Versuch mit 5 g des umkrystallisirten Acethämins wiederholten und das Destillat zur Entfernung der mitübergegangenen Salzsäure mit Bleioxyd eingedampft, den Rückstand mit wenig Wasser aufgenommen und mit SO_4H_2

erhitzt haben, war der Geruch nach Essigäther nicht deutlich wahrnehmbar: auch die Kakodylprobe mit einem anderen Theil des Destillates fiel negativ aus. Allerdings waren hier im günstigsten Falle im Gesamtdestillate nur etwa 0,45 g Essigsäure zu erwarten und das ist vielleicht die Ursache, dass in diesem Versuche die Essigsäure nicht bestimmt nachgewiesen werden konnte.

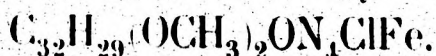
Den verschiedenen Lösungsmitteln gegenüber verhält sich das Rohacethämin wie das umkrystallisirte durchaus gleich. In verdünnten Alkalien, Ammoniak, Lösungen organischer Basen sind sie leicht löslich. Wird Acethämin mit unzureichender Menge verdünnten — etwa 1⁰/₁₀₀ — Ammoniaks versetzt, sodass ein Theil der Krystalle ungelöst bleibt, so können aus der ammoniakalischen Lösung nach Zusatz von Alkohol in den früher angegebenen Verhältnissen und Eintragen in heissen, Kochsalzhaltigen Eisessig die Krystalle des Acethämins daraus erhalten werden. In verdünnten organischen und Mineralsäuren ist das Acethämin völlig unlöslich: ebenso in Chloroform, Aceton und Aether. Diese Lösungsmittel werden in der Kälte davon gar nicht angefärbt. Etwas löslich ist es in Alkohol, namentlich in 70—80%. In Kapillarröhrchen erhitzt, sintert es gegen 240° und schmilzt selbst bei 300° nicht.

Acethämin im Zeissel'schen Apparate mit JH auf 140° erhitzt, gab in der Silberlösung gar keine Trübung. Um zu sehen, ob etwa darin Alkyldradicale an Stickstoff gebunden sind, erhitzen wir das umkrystallisirte Acethämin mit JH in dem Apparate von Herzig und Meyer¹⁾ auf 270—290°. Es wurde zuerst, um die Reagentien auf ihre Reinheit zu prüfen, ein blinder Versuch gemacht. Statt die beiden Kölbchen im Sandbade zu erhitzen, wurden sie in Asbestpappe eingewickelt und dann erhitzt; auch haben wir es zweckmässig gefunden, den Hals der beiden Kölbchen etwas länger zu machen, um die Korke vor der Hitze zu schützen. Nachdem der Apparat zusammengestellt worden, beschickten wir ihn mit 20 ccm. JH und 8 g Jodammonium. Wir erhitzen die Kölbchen bis auf

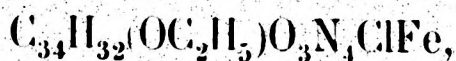
¹⁾ Wiener Monatshefte. 15. 613.

290°. Die Temperatur im Kühler und in dem mit rothem Phosphor beschickten Kugelapparat wurde constant auf 60° erhalten. In der Silberlösung entstand Anfangs ein minimaler schwarzer Niederschlag, der bei weiterem Erhitzen sich nicht vermehrte. Wir unterbrachen jetzt das Erhitzen und nach völligem Erkalten beschickten wir den Apparat mit noch 15 cem. III und setzten 0,6549 g des unkrystallisirten Acethämins hinzu. Während 2stündigem Erhitzen auf 280—290° bildete sich an dem Zuleitungsröhrchen in der Silberlösung ein unwägbarer brauner Beschlag. Die Silberlösung selbst zeigte nur eine schwache Opalescenz. Wir ziehen daraus den Schluss, dass im Acethämin weder mit dem Hydroxylsauerstoff noch mit dem Stickstoff ein Alkyl verbunden ist.

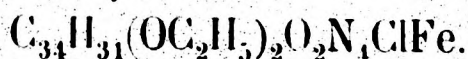
Den entscheidenden Beweis, dass im Acethämin das Acetyl nicht einen Hydroxylwasserstoff ersetzt, finden wir aber darin, dass das Acethämin gleich wie das Hämin von der Formel $C_{32}H_{31}O_3N_4ClFe$ zwei freie Hydroxyle enthält. Durch Einwirkung von Salzsäure auf eine methylalkoholische Lösung des Hämins erhielten wir das Dimethylhämin:



Andererseits erhielten wir aus dem Acethämin bei entsprechender Behandlung einer äthylalkoholischen Lösung nicht allein den Monoäthyläther des Acethämins:



sondern auch den Diäthyläther:



Bevor wir jedoch zur Beschreibung dieser Aether übergehen, wollen wir mit wenigen Worten die Natur der von Schalfejeff als « carcasse » bezeichneten Substanz aufklären.

Oben wurde mitgetheilt, dass beim Auflösen des Rohacethämins in chininhaltigem Chloroform etwa 6% als wenig gefärbter Rückstand — die « carcasse » — hinterblieben. Unter dem Mikroskope besteht dieser Rückstand aus Krystallfragmenten und amorphen, theils gefärbten, theils ungefärbten Partikeln. Wir haben ihn beim Umkrystallisiren des Acethämins in grösseren Mengen gesammelt, mit Chloroform nachgewaschen und in vacuo über SO_4H_2 getrocknet. Die trockene

Substanz. auf Platinblech erhitzt, verbreitete den Geruch nach verbranntem Horn und hinterliess etwas Asche, aus Eisenoxyd bestehend. Als die Substanz mit metallischem Natrium geglüht und die rückständige Kohle mit etwas Wasser aufgenommen wurde, gab die davon abfiltrirte Lösung mit Nitroprussidnatrium eine stark violette Färbung, ein Zeichen, dass die carcasse auch Schwefel enthält. Eine von Herr Rózycki ausgeführte Elementaranalyse der carcasse ergab ihm folgende Zahlen:

0.1986 g gaben 0.1120 g u. 0.3936 g CO_2 = 6,26% H u. 54,02% C.
0.2096 „ „ 23,0 N-Gas bei 16,8° T. u. 751 mm. Bst. = 12,83% N.
0.4682 „ „ 0.0580 g AgCl u. 0.0366 g Fe_2O_3 = 3,05% Cl u. 5,47% Fe.

Es ergibt sich hieraus, dass die carcasse ein Gemisch von etwas ungelöstem Hämin, amorphem Hämoglobin und geronnenem Eiweiss ist.

Der Dimethyläther des Hämins.

An die Möglichkeit der Aetherbildung aus Hämin haben wir schon anlässlich der Arbeit des Herrn Bialobrzeski gedacht, als wir sahen, dass bei längerem Kochen der salzsäurehaltigen amyalkoholischen Lösung das abgeschiedene Hämin in verdünnten wässrigen Alkalien unlöslich wurde und auch der Procentgehalt des erhaltenen Produktes an Kohlenstoff und Wasserstoff erheblich zunahm, während der Gehalt an Stickstoff, Eisen und Chlor entsprechend abnahm. In dieser Vermuthung wurden wir noch bestärkt, als wir nach der Vorschrift von Schalfejeff¹⁾ zum warmen, chlorwasserstoffhaltigen Aethylalkohol die chininhaltige Chloroformlösung des Hämins zugesetzt haben. Die abgeschiedenen Krystalle waren verschieden von den triklinischen Formen, die wir ausschliesslich erhielten, als wir die gleiche Chloroformlösung mit heissem Eisessig vermischten. Sie bestanden grösstentheils aus spindel- und wetzsteinartigen Formen, wie sie öfters die Harnsäure zeigt, daneben waren gut ausgebildete, sechsseitige Tafeln und auch die charakteristischen Krystalle des Acethämins vor-

¹⁾ Le physiologiste russe. T. 1. p. 16.

handen. Es wurde uns klar, dass beim Vermischen mit salzsäurehaltigem Aethylalkohol ein Gemenge verschiedener Körper sich bildet. Da im Allgemeinen Methylalkohol besser als Aethylalkohol zur Aetherification sich eignet, so hat auf unsern Vorschlag, Herr L. Rózycki, die Darstellung des Methyläthers des Hämins ausgeführt.

Rohacethämin aus Pferdeblut wurde in chininhaltigem Chloroform in der Wärme gelöst und in kleinen Portionen auf je 10 ccm. der filtrirten Lösung 50 ccm. reiner mit HCl gesättigter Methylalkohol zugesetzt. Beim langsamen Erkalten bildeten sich darin wetzsteinförmige, zu Rosetten gruppirte Krystalle, die nach 3 tägigem Stehen abfiltrirt und anfangs mit Aethylalkohol, hernach mit Aether gewaschen wurden. Die in vacuo bis zu constantem Gewichte getrockneten Krystalle ergaben bei den Elementaranalysen folgende Zahlen:

0.1795 g	gaben	0,4210 g CO ₂ u.	0,0942 g H ₂ O = 63,95% C u. 5,79% H.
0.2171	»	16,1 ccm. N-Gas bei 17,6° T. u. 756 mm. Bst. = 8,53% N.	
0.2196	»	0,0448 g AgCl u. 0,0269 g Fe ₂ O ₃ = 5,04% Cl u. 8,57% Fe.	
0.2160	»	0,5058 g CO ₂ u. 0,1080 g H ₂ O = 63,86% C u. 5,55% H.	
0.1550	»	11,5 ccm. N-Gas bei 16° T. u. 764 mm. Bst. = 8,72% N.	
0.2753	»	0,0604 g AgCl u. 0,0345 g Fe ₂ O ₃ = 5,42% Cl u. 8,77% Fe.	

Drei Methoxylbestimmungen in diesem Präparate, wobei die Substanz mit Jodwasserstoff¹⁾ auf 140° erhitzt wurde, ergaben als Methylzahl: 4,26%, 4,12% und 4,13% CH₃.

Dieses Präparat war in wässrigem Ammoniak oder Natronlauge völlig unlöslich und erst beim Kochen damit ging es allmählich in Lösung über. Im Capillarrohr erhitzt, war die Substanz selbst über 300° nicht geschmolzen. Aus den übereinstimmenden Elementaranalysen und den Methoxylbestimmungen geht mit Sicherheit hervor, dass im Hämin zwei durch Methyl ersetzbare Hydroxylwasserstoffe vorhanden sind. Das Resultat der Analysen war insofern für uns überraschend, als wir eigentlich den Methyläther des Acethämins erwartet haben. Die Zusammenstellung der analytischen Resultate spricht aber mehr zu Gunsten der Formel: C₃₂H₂₉(OCH₃)₂ON₄ClFe.

1) Jodwasserstoff vom spec. Gew. ca. 1,7 speciell für «Methoxylbestimmung» ist bei Kahlbaum in Berlin käuflich zu haben.

Berechnet für:	Berechnet für:	Gefunden:
$C_{32}H_{29}(OCH_3)_2ON_4ClFe$	$C_{34}H_{31}(OCH_3)_2O_2N_4ClFe$	
C 63,90%	C 63,48%	C 63,95% und 63,86%
H 5,48%	H 5,43%	H 5,79% „ 5,55%
N 8,77%	N 8,22%	N 8,53% „ 8,72%
Cl 5,56%	Cl 5,21%	Cl 5,04% „ 5,42%
Fe 8,77%	Fe 8,22%	Fe 8,57% „ 8,77%

Im Dimethylhämin ist der Methylgehalt: 4,69% CH_3 . Dimethylacethämin enthält 4,40% CH_3 . Durch vergleichende Versuche haben wir constatirt, dass, wenn die methylalkoholische Lösung weniger als 1,5% HCl enthält und kürzer als 5 Minuten erwärmt wird, dann ein Theil der beim Abkühlen sich ausscheidenden Krystalle in verdünnten Alkalien löslich ist. Beim längeren Erwärmen wird das Präparat zwar in Alkalien unlöslich, dafür wird aber der Kohlenstoff- und auch der Stickstoffgehalt merklich herabgesetzt und auch die Methylzahl ist vermindert. So wurden 10 g Acethämin in 800 ccm. Methylalkohol mit 10 g Chinin gelöst. Die filtrirte Lösung mit 70 ccm. HCl-haltigem Methylalkohol versetzt und zwar in dem Verhältniss, dass die Lösung 1,5% freie HCl enthält, und 10 Minuten lang auf dem Wasserbade zum Kochen erwärmt. Die beim Erkalten abgeschiedenen und abfiltrirten Krystalle wurden mit stufenweise verdünntem Methylalkohol, schliesslich mit salzsäurehaltigem Wasser gewaschen und anfangs auf Fliesspapier, sodann im Vacuum über SO_4H_2 und NaOH getrocknet. Die Krystalle waren in verdünnten Alkalien in der Kälte völlig unlöslich und ergaben bei den Analysen C 62,76% und 63,06%; H 5,63% und 5,78%; N 8,13% und 8,32%; Cl 5,69% und 5,71%; Fe 8,61% und 8,71%; und 3,93% CH_3 .

In einem zweiten Versuche wurden 5 g nach dem Verfahren von Nencki und Sieber aus dem Amylalkohol erhaltenen Hämins in 400 g absoluten Methylalkohols mit 5 g Chinin gelöst und 300 ccm. der Lösung mit 20 ccm. mit HCl gesättigtem Methylalkohol 15 Minuten lang am Rückflusskühler auf dem Wasserbade gekocht. Die wie oben erhaltenen und gewaschenen Krystalle waren in wässrigen Alkalien völlig unlöslich. Bei den Elementaranalysen wurden folgende Zahlen

erhalten: C 63,2%; H 5,49%; N 8,57%; Fe 8,59%; Cl 5,27% und 3,54% CH_3 .

Da der Monoäthyläther des Acethämins in Alkalien leicht löslich ist und die beiden letzten Präparate darin völlig unlöslich waren, so konnte hier nicht ein Gemenge von Mono- und Dimethylhämmin vorliegen. Vielmehr ist anzunehmen, dass nur der Dimethyläther vorlag, der aber zum geringen Theil durch zersetztes Hämin, in Folge des Kochens mit Salzsäure, verunreinigt war. Bei der mikroskopischen Betrachtung von Häminen, die länger mit salzsäurehaltigem Methylalkohol erwärmt wurden, sahen wir ausser der sternartig gruppirten Spindel auch kleine, dunkle Kugeln, an denen keine Krystallform mehr zu erkennen war.

Da, wie wir gleich sehen werden, das β -Hämmin von Mörner der Monoäthyläther des Acethämins ist, so versuchten wir nach Mörner's Verfahren aus den rothen Blutkörperchen vom Rind mittelst Methylalkohol den Monomethyläther darzustellen. Der Versuch fiel insofern ungünstig aus, als die Blutkörperchen mit Methylalkohol gefällt, nach erfolgter Gerinnung vom Methylalkohol abgepresst, in feuchtem Zustande eine plastische Masse bilden, die, mit salzsäurehaltigem Methylalkohol erwärmt, nur wenig sehr kleine Krystalle gaben, die überdies durch Acidalbumin und Fett stark verunreinigt waren. Durch Kochsalzzusatz zu der Masse wurden zwar weniger verunreinigte, aber doch zur Analyse nicht geeignete Krystalle erhalten. Wurde der Blutkuchen an der Luft getrocknet und die fein gepulverte Masse mit salzsäurehaltigem Methylalkohol extrahirt, so ging nur wenig Farbstoff in Lösung und die Ausbeute an Krystallen war sehr gering.

Die Aethyläther des Acethämins.

Wird Acethämmin in chininhaltigem Chloroform gelöst und die filtrirte Lösung nach der Vorschrift von Schalfejeff mit warmem, salzsäurehaltigem Aethylalkohol vermischt, so erhält man nach dem Erkalten neben den charakteristischen Formen des Acethämins auch spindelförmige, meistens sternförmig gruppirte Krystalle. In der üblichen Weise gereinigt und

getrocknet, spalten diese Krystalle, mit verdünnter Natronlauge destillirt, Aethylalkohol ab, welcher in den ersten Destillaten durch die Jodoform- oder die Aldehydreaction leicht nachgewiesen werden kann. Es entsteht also nach diesem Verfahren ein Gemisch von unverändertem Acethämin, seinem Aethyläther und wahrscheinlich auch Alkoholadditionsprodukte. Wird die salzsäurehaltige, äthylalkoholische Lösung auf dem Wasserbade länger erwärmt, so wird ein Theil der erhaltenen Krystalle in verdünntem Ammoniak unlöslich, indem, wie weiter unten gezeigt wird, der Diäthyläther des Acethämins sich bildet.

Das beste Verfahren zur Darstellung des Monoäthyläthers des Acethämins ist das von Mörner für das β -Hämin angegebene, denn nach unserer Ansicht ist das β -Hämin nichts Anderes als Monoäthylacethämin. Zu seiner Darstellung hat Mörner defibrirtes Blut mit einigen Volumen Wasser verdünnt und nach Zusatz der eben nöthigen Menge Schwefelsäure durch Kochen coagulirt. Der Niederschlag wurde mit Wasser gut gewaschen und ausgepresst, dann mit Weingeist zerrieben und wieder ausgepresst. Er wurde darauf in Weingeist von 90—93° eingetragen (auf je 1 Liter verwendetes Blut etwa 1.5 Liter Weingeist), welcher mit 0,5—1 Volumprocent concentrirter Schwefelsäure versetzt worden war. Unter häufigem Umrühren wird das Pulver einige Stunden bei Zimmertemperatur mit dem sauren Weingeist in Berührung gelassen, wobei der Farbstoff fast vollständig ausgezogen wurde. Die ausgepresste und filtrirte weingeistige Lösung wird dann bis zu beginnendem Sieden erhitzt und mit erwärmter Salzsäure (auf je 1 Liter der Lösung 10 ccm. Salzsäure, welche mit Weingeist verdünnt wurde) versetzt und dann in der Kälte stehen gelassen. Die nach einem oder nach ein paar Tagen abgeschiedenen Krystalle wurden mit Weingeist, dann mit Wasser gewaschen, darauf in gelinder Wärme getrocknet und mit Petroläther und Aether erschöpft. In 6 Präparaten verschiedener Darstellung aus Hunde- und Rinderblut, denen noch 2 in der zweiten Abhandlung¹⁾ mitgetheilte hinzuzufügen

¹⁾ l. c. Festband Nr. 26. S. 5 und 8.

wären, erhielt Mörner gut untereinander übereinstimmende Zahlen, aus welchen er die Formel $C_{35}H_{35}O_4N_4ClFe$ berechnet. Der empirischen Zusammensetzung nach wäre dieses β -Hämin ein Homologes des Hämins von Nencki und Sieber, und zwar ein Propionylhämin $= C_{32}H_{30}(C_3H_5O)O_3N_4ClFe$.

A priori ist es ja nicht ausgeschlossen, dass aus dem Hämoglobin ebensogut wie Acetylhämin auch Propionylhämin abgespalten werden kann. Uns ist es deshalb wahrscheinlicher, dass das β -Hämin der Monoäthyläther des Acethämins ist, weil Mörner selbst durch Destillation mit Natronlauge daraus Aethylalkohol abgespalten hat. Monoäthylacethämin $= C_{36}H_{37}O_4N_4ClFe$ kann bei der Verseifung höchstens 6,7% Aethylalkohol geben; zudem wissen wir vorläufig nicht, inwiefern durch Kochen mit Alkalien das Aethyl vollständig abgespalten wird. Wir wissen andererseits, mit welcher ausserordentlicher Leichtigkeit Hämin mit Alkoholen selbst durch 2—3% ige Mineralsäuren ätherificirt wird. Die von Mörner erhaltenen Zahlen stimmen ebensogut mit der Formel des Monoäthylacethämins wie mit der Formel des Propionylhämins überein.

Mörner fand im Mittel	Propionylhämin $C_{35}H_{35}O_4N_4ClFe$ verlangt	Monoäthylacethämin $C_{36}H_{37}O_4N_4ClFe$ verlangt
C 63,26%	C 63,03%	C 63,49%
H 5,24%	H 5,25%	H 5,44%
N 8,31%	N 8,40%	N 8,23%
Fe 8,36%	Fe 8,40%	Fe 8,23%
Cl 5,20%	Cl 5,30%	Cl 5,21%

Dass das β -Hämin in Alkalien leicht löslich ist, erklärt sich aus dem Umstande, dass im Monoäthyläther noch ein Hydroxyl frei ist. Mörner hat auch den in Alkalien unlöslichen Diäthyläther des Acethämins, wenn auch in weniger reinem Zustande, dargestellt. Er betont ausdrücklich, dass zur Darstellung des β -Hämins das Blutpulver bei Zimmer-temperatur mit dem sauren Weingeist digerirt werden muss. Bei längerem Erwärmen der sauren Lösung wurden nicht Nadeln und Blättchen des β -Hämins, sondern fast durchgehends würfelförmige, weniger gut entwickelte Krystalle erhalten.

Die Ecken derselben sind mitunter abgerundet, so dass sie fast kugelförmig aussehen. Diese Krystalle sind nicht braunviolett, sondern schwarz und in Alkalien unlöslich — auch nach längerem Erwärmen wurde das Ammoniak nicht einmal gefärbt.¹⁾ — Wir können aus eigenen Erfahrungen in allen Stücken die Angaben dieses exacten Forschers bestätigen. Eine gute Abbildung dieser kugel- und würfelförmigen Krystalle, mit Spindeln und Blättchen vermischt, hat Cloetta²⁾ dessen nicht umkrystallisirtes salzsaures Hämin, jedenfalls zum grossen Theil aus einem Gemische des Mono- und Diäthyläthers bestand, gegeben. Elementaranalysen dieser in Alkalien unlöslichen Krystalle ergaben nach Mörner für 3 verschiedene Präparate folgende Zahlen:

Der Kohlenstoff gleich resp. 63,96% — 64,77% — 64,30%; der Wasserstoff gleich 6,00%; der Stickstoff gleich resp. 7,95% — 7,70% — 7,78%; das Eisen gleich resp. 7,87% — 7,85% — 7,97; das Chlor gleich resp. 5,46% — 4,99% — 5,21%. Die Formel $C_{34}H_{31}(C_2H_5)_2O_4N_4ClFe$ Aeq. 708,5 verlangt: C 64,36%; H 5,78%; N und Fe 7,90% und 5,01% Cl.

Bei unseren vielfach variirten Versuchen, um den Diäthyläther des Acethämins rein zu bekommen, hatten wir mancherlei Schwierigkeiten zu überwinden. Die Bildung des Aethyläthers geht nicht so leicht wie die des Methyläthers vor sich und müsste die Salzsäure etwas concentrirter, etwa 3%, angewendet werden. Zur Auflösung des Acethämins ist chininhaltiger absoluter Alkohol nicht geeignet, da darin die Krystalle nur sehr wenig löslich sind. Am zweckmässigsten fanden wir, die Krystalle in chininhaltigem Chloroform zu lösen und die filtrirte Lösung mit kochendem, salzsäurehaltigem Alkohol zu vermischen. Der Alkohol muss wasserhaltig, etwa 90%, sein, da sonst beim Erkalten wenig oder gar keine Krystalle sich bilden. Verdünnterer Alkohol ist zu vermeiden, weil sich dann das Chloroform ausscheiden würde. Wird nach dem Vermischen der beiden Lösungen die Flüssigkeit länger erwärmt, so werden nur sehr kleine, sternförmig gruppirte

¹⁾ Mörner l. c. S. 13.

²⁾ Cloetta l. c. S. 352.

Nadeln, mit würfel- und kugelförmigen Gebilden vermenget, erhalten. Reiner Diäthyläther ist in wässerigen Alkalien absolut unlöslich und löst sich leicht und ohne jeden Rückstand in Chloroform auf. Wir erzielten die besten Resultate beim Einhalten folgender Verhältnisse:

1. 4 g Acethämin und 6 g Chinin wurden in einem Gemisch von 100 cem. 96^o/oigen Alkohols und 100 cem. Chloroform in der Kälte gelöst. Andererseits wurden 850 cem. absoluten Alkohols mit 85 cem. wässriger Salzsäure (specifisches Gewicht 1,19) vermischt, auf dem Wasserbade zum Sieden erhitzt und dazu 160 cem. der kalten, filtrirten Häminlösung zugesetzt. Die Flüssigkeit blieb auf dem warmen Wasserbade, bis sie wieder zum Sieden kam, worauf wir sie gleich darauf erkalten liessen. Die nach 24stündigem Stehen ausgeschiedenen Krystalle bestanden aus sternförmig gruppirten Nadeln und waren in Alkalien völlig unlöslich. Sie wurden mit stufenweise verdünntem Alkohol gewaschen und im Vacuum über SO_4H_2 und NaOH bis zu constantem Gewichte getrocknet.

0,2677 g gaben 0,1360 g H_2O u. 0,6300 g CO_2 = 5,65 % H u. 64,18 % C.
 0,2717 „ „ 18,7 cem. N-Gas bei 21,2° T. u. 767 mm. Bst. = 7,94 % N
 0,7429 „ „ 0,1593 g AgCl u. 0,0863 Fe_2O_3 = 5,30 % Cl u. 8,13 % Fe
 0,3045 „ im Zeissel'schen Apparate mit JH erhitzt, gaben 0,1774 g Agl
 = 7,19 % C_2H_5 .

2. 4 g Acethämin und 4 g Chinin wurden in 200 cem. kalten Chloroforms gelöst: andererseits 350 cem. absoluten Alkohols und 35 cem. Salzsäure vom specifischen Gewicht 1,19 zum Kochen erhitzt und nach Zusatz der Chloroformlösung noch 5 Minuten lang im Sieden erhalten. Das Präparat, wie oben getrocknet, krystallisirte in sternförmig gruppirten Nadeln, war absolut unlöslich in Ammoniak: leicht und vollkommen löslich in Chloroform.

0,1914 g gaben 13,2 cem. N-Gas bei 20,7° T. u. 763 mm. Bst. = 7,93 % N
 0,2507 „ „ 0,1319 g H_2O u. 0,5902 g CO_2 = 5,85 % H u. 64,21 % C
 0,2111 g im Zeissel'schen Apparate mit JH erhitzt, gaben 0,1357 g Agl
 = 7,93 % C_2H_5 .

Zu weiteren Analysen reichten die erhaltenen Krystalle nicht mehr aus.

3. Auch aus dem nach der Vorschrift von Nencki

und Sieber dargestellten Hämin haben wir den Diäthyläther des Hämins erhalten. 4 g dieser Krystalle und 6 g Chinin wurden in einem Gemische von 100 ccm. absoluten Alkohols und 100 ccm. Chloroform in der Kälte gelöst. 150 ccm. der filtrirten Lösung wurden mit 850 ccm. absoluten Alkohols, 85 ccm. Salzsäure vom specifischen Gewicht 1,19 und 20 ccm. Wasser 5 Minuten lang im Sieden erhalten und hierauf erkalten gelassen. Die Krystalle waren nicht so schön und homogen, wie in den beiden vorigen Präparaten: neben den sternförmig gruppirten Nadeln waren auch vereinzelt Würfel vorhanden: in wässrigem Ammoniak waren sie ganz unlöslich, leicht und vollständig löslich in Chloroform.

0.2973 g gaben 0.1586 g H₂O u. 0.7011 g CO₂ = 5,93 % H u. 64,31 % C.
 0.2232 „ „ 15,4 ccm. N-Gas bei 18,5° T. u. 764 mm. Bst. = 8,02 % N
 0.5822 „ „ 0.1173 g AgCl u. 0.0680 Fe₂O₃ = 4,98 % Cl u. 8,18 % N
 0.2571 „ „ bei der Aethylbestimmung 0.1731 g AgJ = 8,31 % C₂H₅.

Wir stellen in Folgendem die erhaltenen Zahlen übersichtlich zusammen.

Es wurden gefunden:			Die Formel: C ₃₄ H ₃₁ (C ₂ H ₅) ₂ O ₄ N ₄ ClFe verlangt:		
1.	2.	3.			
C	64.18 %	64.21 %	64.31 %	C	64.36 %
H	5.65 „	5.85 „	5.93 „	H	5.78 „
N	7.94 „	7.93 „	8.02 „	N	7.90 „
Fe	8.13 „	—	8.18 „	Fe	7.90 „
Cl	5.30 „	—	4.98 „	Cl	5.01 „
C ₂ H ₅	7.19 „	7.93 „	8.31 „	(C ₂ H ₅) ₂	8.28 „

Wir haben absichtlich den modus procedendi bei diesen 3 Präparaten detaillirt angegeben, denn jede nur geringe Aenderung in der Concentration der Lösung, Gehalt an Säure, Dauer des Erwärmens beeinflusst gleich die Reinheit des Präparates. Wie aus der Zusammenstellung ersichtlich, war das zweite Präparat das reinste, wenn auch hier die Ausbeute nur gering war. Bei einer zweiten Darstellung des Diäthyläthers aus dem nach der Vorschrift von Nencki und Sieber mittelst Amylalkohol dargestellten Hämins, wo das Erwärmen mit Säure nur einige Minuten länger dauerte, erhielten wir schon ein anders zusammengesetztes Produkt. Es wurden in diesem Versuche 3 g Hämin und 4,5 g Chinin in einem Ge-

mische von 75 cem. Alkohol und 75 cem. Chloroform in der Kälte gelöst und 125 cem. des Filtrats mit 700 cem. absoluten Alkohols und 70 cem. Salzsäure (specifisches Gewicht 1,19) 8 Minuten lang auf dem warmen Wasserbade gehalten. Beim Erkalten wurden nur etwa zur Hälfte sehr kleine zu Rosetten vereinigte Nadeln erhalten, die andere Hälfte bestand aus den würfel- und kugelförmigen Gebilden. Dieses Präparat, wie die vorigen gewaschen und getrocknet, war in Alkalien unlöslich und ergab bei den Analysen folgende Zahlen:

0,2588 g gaben 0,1371 g H₂O u. 0,6117 g CO₂ = 5,89% H u. 64,45% C
 0,2545 „ „ 17,8 cem. N-Gas bei 19,5° T. u. 755 mm. Bst. = 8,00% N
 0,2422 „ „ gaben im Zeissel'schen Apparate mit JH erhitzt 0,2105 g
 AgJ = 10,73% C₂H₅.

Bei der Darstellung des Diäthyläthers aus dem nach dem Verfahren von Nencki und Sieber bereiteten Hämin konnte man annehmen, dass hier ein Gemenge des Diäthyläthers des Acethämins und des Hämins von der Formel: C₃₂H₃₁O₃N₄ClFe welche verlangt: C 64,81%: H 5,85%: N und Fe 8,40%: 5,32% Cl und 8,70% C₂H₅. Auch die oben citirte Analyse Nr. 3 zeigt den höchsten Aethylgehalt. Der Umstand, dass das zuletzt analysirte Präparat etwa zur Hälfte aus den würfel- und kugelförmigen Gebilden bestand und dabei 10,73% Aethyl enthält, spricht aber dafür, dass hier eine tiefere Veränderung im Molekül stattgefunden hat.

Der Monoamyläther des Acethämins.

Von besonderem Interesse war für uns die Darstellung des Amyläthers des Hämins, da das nach der Vorschrift von Nencki und Sieber bereitete Hämin Amylalkohol enthält. Zunächst haben wir aus dem gewöhnlichen Gährungsamylalkohol, der also vorwiegend aus Isobulylcarbinol besteht, das Jodid dargestellt und uns überzeugt, dass dieses Jodid bei der Destillation mit den Wasserdämpfen sich vollkommen verflüchtigt, dass also bei der Spaltung der Aether mit JH in dem Zeissel'schen Apparate der Amylgehalt bestimmt werden kann. Wir fanden aber in einem nach der Vorschrift von Nencki und Sieber bereiteten und im Vacuum getrockneten Hämin aus

0,6957 g der Substanz nur 0,0442 g Agl. = 1,92^o C₅H₁₁.
 Unter der Voraussetzung, dass alles Amyl als Jodid sich verflüchtigte, berechnet sich die Menge des zu erwartenden C₅H₁₁ nach der Formel: (C₃₂H₃₁O₃N₄ClFe)₄C₅H₁₂O zu 2,8^o C₅H₁₁.

Wir versuchten sodann auf ähnliche Weise, wie wir den Methyl- und Aethyläther bereitet, auch den Amyläther darzustellen. Hämin, in chininhaltigem Chloroform gelöst, gibt mit auf 100° erwärmtem, salzsäurehaltigem Gährungsamylalkohol beim Erkalten keine Krystalle, offenbar weil der entstandene Aether darin leicht löslich ist. Nach verschiedenen Versuchen sind wir dabei stehen geblieben, Hämin in chininhaltigem Amylalkohol, der 4—5^o Wasser enthält, aufzulösen und die warme, filtrirte Lösung mit Salzsäure zu versetzen. Zur Auflösung sind auf 1 g Hämin etwa 200 cem. solchen Amylalkohols nothwendig. Nach mehrstündigem Stehen und häufigem Umrühren oder noch besser bei Erwärmen auf 40—60° löst sich der grösste Theil der Krystalle darin auf; immerhin bleibt viel mehr ungelöstes Hämin als wie bei der Bereitung des Methyl- oder des Aethyläthers zurück. Von wesentlicher Bedeutung für die Entstehung der Krystalle beim Erkalten ist die Menge der zugesetzten Salzsäure. Wurde zu der filtrirten amyalkoholischen Lösung so viel HCl zugesetzt, dass die Flüssigkeit 2—1^o HCl enthielt, so entstand sofort ein amorpher, schwarzer Niederschlag, der in Chloroform sehr leicht löslich war und welchen wahrscheinlich schon Bialobrzeski in den Händen hatte und analysirte.¹⁾ Erst bei einer zehnfach geringeren Menge von Chlorwasserstoff, also wenn die Lösung nur 2—1 pro mille HCl enthielt, haben wir gut ausgebildete Krystalle erhalten. In einem Versuche, wobei wir Acethämin verwendeten und die Lösung 1^o HCl enthielt, war der auskrystallisirte Aether noch mit unverändertem Acethämin vermischt. In einem zweiten Versuche, wo wir vom Hämin nach Nencki und Sieber ausgegangen sind und der Lösung 2^o HCl zusetzten, erhielten wir ein ganz homogenes Präparat. Das Verfahren war folgendes:

1) Ber. der deutsch. chem. Gesellsch. Jahrgang 1896. 2850.

1. 5 g Acethämin, 5 g Chinin und 50 ccm. Wasser wurden mit 1 Liter Amylalkohol Anfangs bei Zimmertemperatur unter öfterem Umschütteln stehen gelassen und hierauf noch $1\frac{1}{2}$ Stunden auf 50° auf dem Wasserbade erwärmt. Trotzdem blieb viel von den Krystallen ungelöst zurück. 0,5 Liter der filtrirten Lösung wurde nunmehr auf 98° erwärmt, mit 2 ccm. Salzsäure specifisches Gewicht 1,124 (0,1% entsprechend) versetzt und langsam erkalten gelassen. Wir erhielten eine reichliche Krystallisation, hauptsächlich aus wohlausgebildeten, sechsseitigen Tafeln bestehend, daneben waren auch, wenn nur spärlich, Krystalle des unveränderten Acethämins vorhanden. Nach 24 Stunden wurde decantirt, der krystallinische Bodensatz mit 90%igem Aethylalkohol übergossen, auf ein Filter gebracht, stufenweise mit verdünnterem Alkohol, dann mit Wasser und zum Schluss noch mit 80%igem Alkohol gewaschen. Der Waschalkohol und das Wasser enthielten $1^{\circ}00$ HCl. Die in vacuo getrockneten Krystalle verloren bei 100° $0,3^{\circ}$ an Gewicht. Bei der Elementaranalyse dieses Präparates erhielten wir folgende Zahlen:

0,2283 g nur im vacuo getrocknet gaben 0,1193 g H_2O u. 0,5296 g CO_2 =
 $5,81^{\circ}/_o$ H u. $63,27^{\circ}/_o$ C.

0,2390 g gaben 17,4 ccm. N-Gas bei $15,6^{\circ}$ T. u. 752 mm. Bst. = $8,44^{\circ}/_o$ N.
 Nach dem Trocknen bei 100°

0,2754 g gaben 0,1373 g H_2O u. 0,6404 g CO_2 = $5,54^{\circ}/_o$ H u. $63,45^{\circ}/_o$ C.

0,4599 „ „ 0,0973 g AgCl u. 0,0538 Fe_2O_3 = $5,23^{\circ}/_o$ Cl u. $8,19^{\circ}/_o$ Fe.

0,2613 „ „ 0,0328 g AgJ = $3,79^{\circ}/_o$ C_5H_{11} .

2. 10 g Hämin, nach dem Verfahren von Nencki und Sieber dargestellt, 15 g Chinin, 80 ccm. Wasser und 2 Liter Amylalkohol wurden eine halbe Stunde auf dem Wasserbade erwärmt. 1 Liter der filtrirten Lösung wurde sodann auf 98° erhitzt und mit 8 ccm. Salzsäure (spec. Gew. 1,174) versetzt (Säuregehalt der Lösung = $0,2^{\circ}/_o$). Beim Erkalten schieden sich ganz feine spindelförmige Nadeln ab, frei von jeder anderen Krystallform. Das Präparat, wie das vorige gewaschen und nur im Vacuum getrocknet, ergab bei den Analysen folgende Zahlen:

0,2887 g gaben 0,1631 g H_2O u. 0,6875 g CO_2 = $6,26^{\circ}/_o$ H u. $64,74^{\circ}/_o$ C.

0,2857 „ „ 0,1567 g H_2O u. 0,6779 g CO_2 = $6,09^{\circ}/_o$ H u. $64,71^{\circ}/_o$ C.

0.2484 g	gaben	16.3 ccm.	N-Gas bei 18.1° T. u. 762 mm. Bst. = 7.63% N.
0.2169	»	15.0 ccm.	N-Gas bei 17.1° T. u. 760 mm. Bst. = 7.95% N.
0.5524	»	0.1069 g AgCl u. 0.0628 g Fe ₃ O ₃	= 4.79% Cl u. 7.96% Fe.
0.6049	»	0.1176 g AgCl u. 0.0689 g Fe ₃ O ₃	= 4.81% Cl u. 7.98% Fe.
0.3457	»	0.1026 g AgJ	= 8.97% C ₅ H ₁₁ .
0.2132	»	0.0589 g AgJ	= 8.35% C ₅ H ₁₁ .

Dieser Aether war wie die anderen Häminäther in Chloroform leicht löslich, weniger in Methyl-, Aethyl- und Amylalkohol. In wässrigem Ammoniak ist er nur sehr wenig löslich. Im Capillarröhrchen über 356° erhitzt, schmilzt er nicht. Sein Spectrum und die Krystallform wird auf den beigegebenen Tafeln abgebildet. Wie aus der Zusammenstellung ersichtlich, entspricht seine Zusammensetzung scharf der Formel eines Monoamyläthers des Acethämins. Vergleichshalber geben wir noch die procentische Zusammensetzung eines Monoamyläthers des Hämins.

Berechnet für		Berechnet für		Gefunden:	
C ₃₂ H ₃₀ (C ₅ H ₁₁)N ₄ FeO ₃ Cl		C ₃₄ H ₃₂ (C ₅ H ₁₁)N ₄ FeO ₄ Cl			
C	65.24%	C	64.77%	C	64.74 und 64.71%
H	6.02%	H	5.95%	H	6.26 » 6.09%
N	8.22%	N	7.75%	N	7.63 » 7.95%
Fe	8.22%	Fe	7.75%	Fe	7.96 » 7.98%
Cl	5.21%	Cl	4.91%	Cl	4.79 » 4.81%
C ₅ H ₁₁	10.43%	C ₅ H ₁₁	9.82%	C ₅ H ₁₁	8.97 » 8.35%

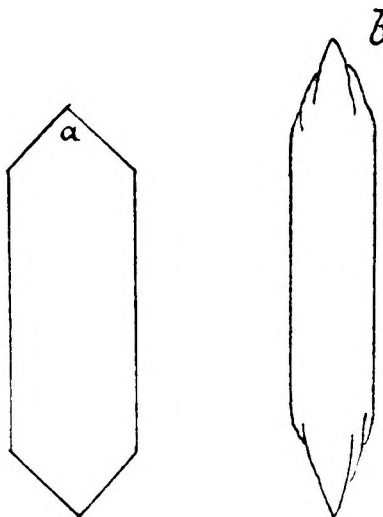
Oben wurde erwähnt, dass nach Zusatz von 1⁰ 00 HCl zu der warmen, amyalkoholischen Lösung des Acethämins ausser dem unveränderten Acethämin noch grössere, sechsseitige Tafeln erhalten wurden. Die gleichen tafelförmigen Krystalle, nur etwas kleiner, erhielten wir auch in wechselnder Menge bei der Darstellung der Aether aus Methyl- und Aethylalkohol. Sie sind in Alkalien leicht löslich und gaben bei der Alkylbestimmung meistens nur 10—30% der theoretisch erwarteten Menge. Vollkommen homogen konnten wir sie nie erhalten. Meistens waren sie vermengt mit kleineren wetzstein- und spindelartigen Formen, die, wie die krystallographische Bestimmung zeigte, dem gleichen System angehören. Da das Hämin durch die Eigenschaft, mit allen möglichen Substanzen zu krystallisiren, ausgezeichnet ist, so ist es uns am wahrscheinlichsten, dass diese relativ grossen, sechsseitigen

Tafeln Additionsprodukte in wechselnden Verhältnissen von den respectiven Alkoholen, in welchen das Hämin gelöst war, sind, ähnlich dem Hämin von Nencki und Sieber.

Herr Professor P. A. Zemiatschensky hatte die Güte, die Krystalle zu untersuchen, und uns darüber Folgendes mitgetheilt :

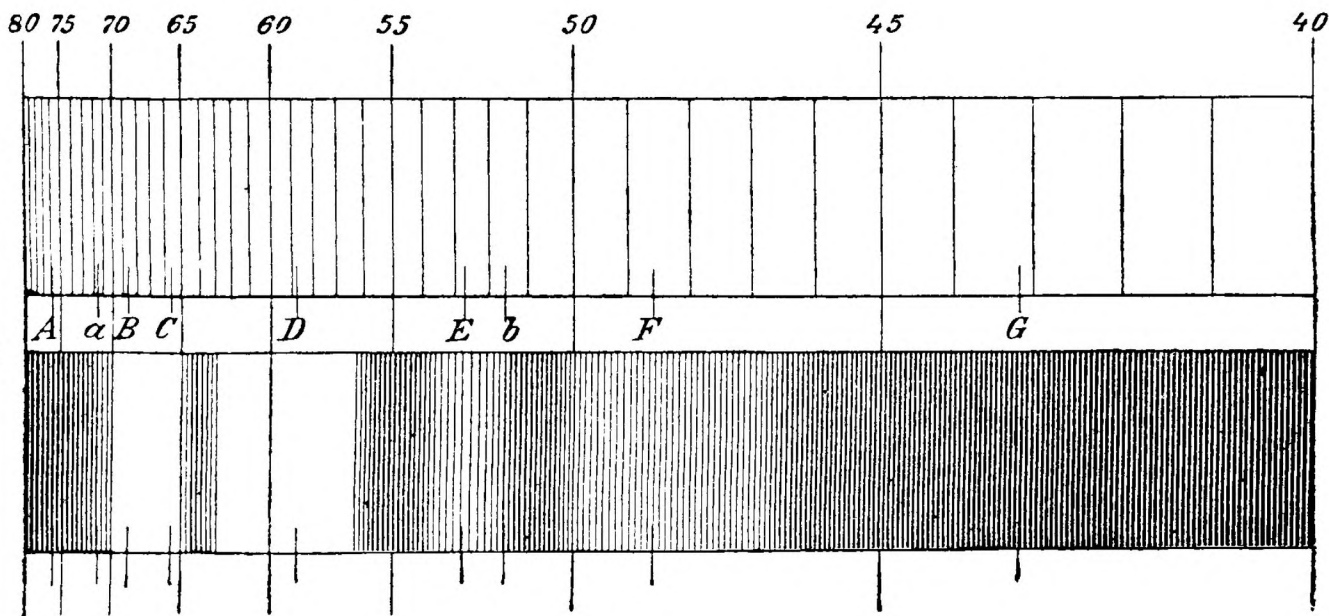
«Sechseckige, nach einer Richtung hin ausgezogene Tafeln. Die grössten 0,4 mm. lang und 0,1 mm. breit. Einige Exemplare zeigen Spalten, durch Bildung von Subindividuen (s. Fig. I, b), wesshalb der Neigungswinkel zweier benachbarter Linien veränderliche Grösse hat. Einzelne Krystalle zeigen mehr regelmässige Form, so dass an ihnen der Winkel (s. Fig. I, a) gemessen werden konnte. Im Mittel beträgt er $93^{\circ} 20'$. Die

Krystalle bilden öfters Durchkreuzungszwillinge. In gewöhnlichem Lichte sind die Krystalle kaum gefärbt; in parallel polarisirtem Lichte zeigen sie, wenn die Längsaxe mit dem Hauptschnitte des Polarisators zusammenfällt, fast völlige Absorption. Bei gekreuzten Nicols bewirken sie gerade Auslöschung. Charakter der Doppelbrechung negativ. Nach alledem gehören die Krystalle dem rhombischen System an.»



Bezüglich der Krystallform der drei von uns dargestellten Aether, nämlich des Dimethylhämins, des Diäthyl- und des Monoamylacethämins, theilte uns Herr Dr. Weyberg in Warschau mit, dass sie alle dem rhombischen System angehören. Es sind dünne, meistens zu Rosetten vereinigte Nadeln oder an den Enden abgerundete Blättchen. Alle drei Aether zeigen gerade Auslöschung und der Charakter der Doppelbrechung ist negativ. Wegen der Kleinheit der Krystalle war ihre genauere krystallographische Bestimmung nicht möglich (siehe die photog. Tafel). Auf der beiliegenden Tafel ist das Spectrum des Acethämins und der Aether abgebildet. Die Aether waren in Chloroform gelöst; da das Acethämin in Chloroform unlöslich ist, so wurde es in Aethylalkohol

gelöst und die Lösung mit dem gleichen Volumen Chloroform verdünnt. Die Spectra aller von uns analysirten Aether und des Hämins aus Aceton waren mit dem Spectrum des Acet-
hämins identisch. Die Lösungen, passend verdünnt, zeigen drei Absorptionsstreifen, deren respective Wellenlänge wir zu $\lambda = 647-630$; $\lambda = 561-538$ und $\lambda = 518-500$ bestimmt haben.



Das Hämin aus Aceton und aus Essigäther.

Aus dem bisher Mitgetheilten geht hervor, dass nach der von Schalfjeff verbesserten Methode Teichmann's durch Extraction des Blutes mit Eisessig nicht ein Hämin von der Formel $C_{32}H_{31}O_3N_4ClFe$, sondern ein um die Acetylgruppe reicheres Hämin von der Formel $C_{34}H_{33}O_4N_4ClFe$ erhalten wird. Dieses Hämin enthält zwei Hydroxylgruppen, was durch den von uns dargestellten Diäthyläther und den Monoamyläther bewiesen ist. Da ferner aus dem nach der Vorschrift von Nencki und Sieber dargestellten Hämin der Monoamyläther des Acethämins erhalten wurde, so spricht dieser Befund dafür, dass in dem mittelst Amylalkohol und Salzsäure dargestellten Präparate das Acethämin vielleicht im Gemisch mit dem Hämin von der Formel $C_{32}H_{31}O_3N_4ClFe$ enthalten sein muss. Ueberhaupt spricht die Gesammtheit der jetzt erhaltenen Resultate mehr dafür, dass dem durch Abspaltung aus dem

Hämoglobin entstandenen Hämin die Formel $C_{34}H_{33}O_4N_4ClFe$ zukommt. Man könnte denken, dass je nach der Thierspecies aus der einen Hämoglobinart das Hämin von der Formel $C_{32}H_{31}O_3N_4ClFe$ oder das Acethämin oder auch das Propionylhämin von Mörner erhalten werde. Dagegen sprechen alle direkten Beobachtungen. Mörner erhielt nach seinem Verfahren aus Hunde- oder Rinderblut stets dasselbe Hämin. Wir haben aus Pferde-, Rinder-, Hunde-, Katzen- und auch Gänseblut durch Extraction mit Eisessig immer die gleichen triklinischen Blättchen erhalten. Aus diesen Krystallen der Hämoglobine verschiedener Thiere wurden durch entsprechende Behandlung mit den respectiven Alkoholen und Salzsäure die rhombischen Nadeln und abgerundeten Blättchen der respectiven Aether erhalten, die nicht mehr in die triklinischen Blättchen des Acethämins verwandelt werden konnten. Ebenso wurden aus den Hämoglobinen der genannten Thiere durch Extraction mit Salzsäure und Aceton die weiter unten zu beschreibenden charakteristischen haarförmigen Krystalle erhalten.

Andererseits müssen wir hervorheben, dass unter gewissen, uns nicht näher bekannten Bedingungen, auch mit Eisessig aus dem Rinder- oder Pferdeblute ein Hämin erhalten wird, dessen Zusammensetzung besser der Formel $C_{32}H_{31}O_3N_4ClFe$ entspricht. Oben wurde mitgetheilt, dass aus den triklinischen nach Schaffejeff dargestellten Krystallen der Dimethyläther des Hämins, von der Formel $C_{32}H_{29}(CH_3)_2O_3N_4ClFe$ erhalten wurde. Als Herr Rózycki das mittelst Eisessig dargestellte Hämin in alkoholischem Ammoniak auflöste, die alkalische Lösung mit kochsalzhaltigem Eisessig in der Wärme vermischte und diese Operation noch einmal wiederholte, erhielt er in diesem Falle für das in vacuo getrocknete Präparat folgende Zahlen:

0.2077 g	gaben	0.4772 g CO_2 u. 0.1042 g H_2O	= 62,66% C u. 5,53% H.
0.2620 g	›	20.4 ccm. N-Gas bei 18,9° T. u. 743 mm. Bst.	= 8,95% N.
0.2699 g	›	0.0612 g AgCl	= 5,60% Cl.
0.3036 g	›	0.0405 g Fe_2O_3	= 9,33% Fe.
0.1946 g	›	15.2 ccm. N-Gas bei 19.4° T. u. 716.5 mm. Bst.	= 8,87% N.
0.2036 g	›	0.0260 g Fe_2O_3	= 8,93% Fe.
0.2163 g	›	0.0498 g AgCl	= 5,68% Cl.

Berechnet für	Berechnet für	Gefunden
$C_{34}H_{33}O_4N_4ClFe$	$C_{32}H_{31}O_3N_4ClFe$	
C 62,55%	C 62,88%	C 62,66%
H 5,06%	H 5,08%	H 5,53%
N 8,58%	N 9,17%	N 8,95 u. 8,87%
Fe 8,58%	Fe 9,17%	Fe 9,33 u. 8,93%
Cl 5,44%	Cl 5,81%	Cl 5,60 u. 5,68%

Wir haben reines analysirtes Acethämin noch 2 mal auf gleiche Weise umkrystallisirt. Das umkrystallisirte Präparat ergab folgende Zahlen:

0,2498 g gaben 0,5718 g CO_2 u. 0,1162 g H_2O = 62,41% C u. 5,17% H.
 0,2577 g > 19,6 ccm. N-Gas bei 24,2° T. u. 756 mm. Bst. = 8,53% N.
 0,5465 g > 0,1254 g AgCl u. 0,0678 g Fe_2O_3 = 5,67% Cl u. 8,68% Fe.

also Zahlen, welche genau mit der Formel $C_{34}H_{33}O_4N_4ClFe$ übereinstimmen. Bei der ausserordentlichen Reactionsfähigkeit und Veränderlichkeit des farbigen Bestandtheils des Hämoglobins müssen feine, bis jetzt uns unbekannte Momente bestimmend sein, von welchen die Zusammensetzung des abgespaltenen Hämins abhängig ist.

Da bei der Extraction der Hämoglobine mit Alkoholen und Mineralsäuren stets Alkyläther oder Alkoholadditionsprodukte sich bilden, so war es wünschenswerth, zu erfahren, was für Hämin entstehen wird, wenn statt eines Alkohols eine mehr indifferente Substanz zur Darstellung dieses Farbstoffs angewendet wird. Wir wählten zu diesem Zwecke das Aceton. Wir verwendeten anfangs für die orientirenden Versuche reines Aceton aus der Bisulfitverbindung. Später, als sich herausstellte, dass auch aus dem Aceton von Kahlbaum Sdp. 56—57° dasselbe Produkt erhalten wird, verwendeten wir bei der Darstellung des Hämins im Grossen nur die letztere billigere Sorte.

Werden frisch isolirte rothe Blutkörperchen mit Aceton und wässriger Salzsäure auf dem Wasserbade erwärmt, so nimmt alsbald die Mischung eine braunrothe Farbe an und der Farbstoff geht fast vollständig in die Lösung über. Beim Erkalten scheidet sich das Hämin in den für das Acetonhämin (äusserst charakteristischen langen, gebogenen, haarförmigen Krystallen aus. Bei langsamem Erkalten werden auch dickere Krystalle erhalten: lässt man aber einen Tropfen der Lösung

auf dem Objectglase verdunsten, so entstehen ebenfalls die feinen Nadeln, meistens vereinzelt, seltener sternförmig gruppiert. Die Krystallisationsfähigkeit des Hämins aus Aceton ist eine so grosse, dass das Aceton ebenso gut wie Eisessig zum gerichtlichen Nachweis des Blutes verwendet werden kann. Die blutbefleckten Gegenstände werden zunächst mit kleiner Menge 5—10% iger Salzsäure völlig aufgeweicht und erst dann mit 10—20 ccm. Aceton in einem Probirröhrchen einige Minuten auf dem Wasserbade zum Kochen erwärmt. Die braunroth gefärbte, filtrirte Lösung lässt man am besten auf einem Uhrglase bei Zimmertemperatur langsam verdunsten. Bei mikroskopischer Durchmusterung des Rückstandes wird man neben amorphen braunen Körnchen auch die charakteristischen Krystallnadeln des Hämins finden.

Um Hämin mit Aceton in grösseren Mengen darzustellen, hat sich folgendes Verfahren als zweckmässig erwiesen: Frisches defibrinirtes Rinderblut wurde zur Senkung der rothen Blutkörperchen mit dem 9fachen Volumen 4% iger Kochsalzlösung vermischt und der nach mehrtägigem Stehen abgeschiedene Blutkörperchenbrei so lange mit Aceton unter Umrühren versetzt, bis sich das Hämoglobin als dickes Coagulum abgeschieden hat und die darüber stehende Flüssigkeit nur wenig gefärbt erscheint. Nach 24 Stunden wird das Hämoglobincoagulum abfiltrirt, zwischen Fliesspapier abgepresst und noch feucht zur Extraction verwendet. Je 400 g des Coagulums wurden mit 1300 ccm. Aceton auf dem Wasserbade erwärmt, und als das Aceton zu sieden begann, mit 35 ccm. Salzsäure — specifisches Gewicht 1,124 — versetzt und noch 5 Minuten lang im Sieden erhalten. Die Flüssigkeit wurde hierauf durch Mousseline filtrirt, resp. durchgepresst und sofort noch warm durch Faltenfilter filtrirt. Es ist dabei keine Gefahr vorhanden erhebliche Mengen des Farbstoffs zu verlieren, da das Hämin nur langsam aus Aceton krystallisirt. Erst nach 1—3tägigem Stehen erfolgt auf dem Boden und an der Wand des Becherglases die Bildung der charakteristischen Krystalle, die aber stark mit Eiweiss und Fett verunreinigt sind. Die abfiltrirten Krystalle wurden anfangs mit Aether, hierauf mit 30% igem

Aceton, zuletzt mit 1^o 00 Salzsäure gewaschen und nach dem Trocknen von neuem aus Aceton umkrystallisirt. Diese zweite Krystallisation bewerkstelligten wir auf folgende Weise: 8 g dieses Hämins und 8 g Chinin wurden mit 1200 ccm. 80^o rigen Acetons übergossen, tüchtig umgeschüttelt und gelinde, jedoch nicht bis zum Kochen, auf dem Wasserbade erwärmt. — da absolutem Aceton ist dieses Hämin sehr wenig löslich, leichter in wässrigem und zwar am besten, wenn die Lösung auf 4–5 Theile Aceton 1 Theil Wasser enthält.) — Ein Theil der Krystalle blieb ungelöst zurück, wovon abfiltrirt wurde. Das Filtrat wurde hierauf mit 16 ccm. Salzsäure, spezifisches Gewicht 1,124, versetzt und 3 Minuten lang auf dem Wasserbade zum Kochen erhitzt. Am folgenden Tage wurden die abgeschiedenen Krystalle abfiltrirt, mit stufenweise verdünntem Aceton, zuletzt mit saurem Wasser (1^o 00 HCl) gewaschen und in vacuo sodann bei 100^o bis zu constantem Gewichte getrocknet. Die Elementaranalyse dieses in wässrigen Alkalien leicht löslichen Präparates ergab Zahlen, die am nächsten der Formel des Hämins $C_{32}H_{31}O_3N_4ClFe$ stehen — gef. C 62,63^o 0; H 5,38^o 0; N 8,75^o 0; Cl 5,30^o 0; Fe 9,06^o 0; — leider waren die Krystalle nicht homogen. Nach der Untersuchung des Herrn Prof. Zemiatschensky besteht die Hauptmenge der Krystalle aus den haarförmigen gebogenen Nadeln mit schiefer Auslöschungswinkel, der an den kürzeren und geraden gemessen 40–43^o beträgt. Daneben sind auch kürzere und mehr breite Blättchen, deren Auslöschungswinkel 27–31^o beträgt, und in ganz geringer Menge spindelförmige Krystalle mit gerader Auslöschung vorhanden. 2 g des analysirten, bei 100^o getrockneten Präparates, mit verdünnter Schwefelsäure destillirt, gaben in den ersten Portionen des Destillates eine schwache Jodoformreaction, so dass die Krystalle eine minimale Menge von Aceton enthalten dürften. Die Menge des erhaltenen Jodoforms war so gering, dass an eine quantitative Bestimmung des Acetons nicht zu denken war. Im Zeissel'schen Apparate mit JH auf 145^o erhitzt, gab dieses Präparat in der Silberlösung kaum eine Trübung.

Für das Verständniss der wahren Zusammensetzung der haarförmigen Krystalle ist die Thatsache von Bedeutung, dass

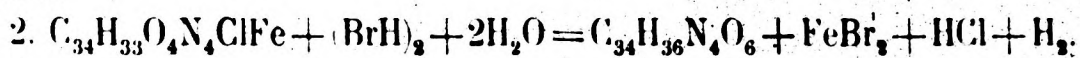
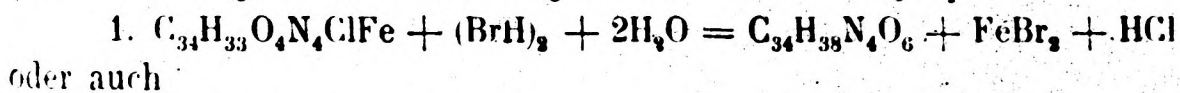
sie sehr leicht in Acethämin verwandelt werden können. Man braucht nur die haarförmigen Krystalle in ammoniakalischem Alkohol oder chininhaltigem Chloroform aufzulösen und die filtrirte Lösung in den bei Acethämin angegebenen Verhältnissen mit heissem, kochsalzhaltigem Eisessig zu vermischen, um die typischen triklinischen Tafeln von der Zusammensetzung des Acethämins zu erhalten. Umgekehrt lässt sich auch das Acethämin in die charakteristischen haarförmigen Krystalle aus Aceton überführen. Reines Acethämin wurde genau wie das vorhin beschriebene Präparat in chininhaltigem 80%igen Aceton gelöst, zu der filtrirten Lösung in dem gleichen Verhältnisse wie oben Salzsäure zugesetzt und drei Minuten lang auf dem Wasserbade zum Kochen erhitzt. Die nach zweitägigem Stehen abgeschiedenen Krystalle waren auch jetzt nicht homogen. Ausser den haarförmigen Krystallen, die die Hauptmasse bildeten, war etwas Acethämin vorhanden. Auch diese Krystalle, wie die vorigen gewaschen und getrocknet, ergaben bei den Verbrennungen Zahlen, welche am nächsten der Formel: $C_{32}H_{31}O_3N_1ClFe$ entsprechen. Gef. C 62,32% ; H 5,24% ; N 8,75% ; Fe 8,86% ; Cl 5,78 und 5,81%.

Bemerkenswerth ist es, dass alle die von uns dargestellten Aether, sowie das Hämin aus Amylalkohol nach Nencki und Sieber auf gleiche Weise wie das Acethämin mit Aceton behandelt, keine Krystalle geben. Im günstigsten Falle erhält man daraus sehr kleine spindelförmige Krystalle mit gerader Auslöschung, der grösste Theil des abgeschiedenen Hämins ist aber amorph.

Werden die haarförmigen Krystalle längere Zeit mit chininhaltigem Aceton in der Wärme digerirt, so bleibt auch nach langem Kochen und Zusatz von mehr Aceton ein Theil der Krystalle ungelöst zurück. Die filtrirte Lösung gibt nach Salzsäurezusatz meistens dicke gerade Krystalle, jedoch von keiner constanten Zusammensetzung und erheblich niedrigerem Gehalte an Stickstoff, Eisen und Chlor. Gef. C 63,17% ; H 5,39% ; N 8,21 und 8,27% ; Fe 8,33 und 8,14% ; Cl 4,52 und 4,45% , so dass hier theilweise Aetherbildung, theilweise auch Zersetzung wohl stattgefunden hat.

In der Hoffnung auf ein einheitliches Produkt haben wir auch versucht, aus den Blutkörperchen mit Essigäther das Hämin zu extrahiren. Der durch Senkung erhaltene Blutkörperchenbrei, mit Essigäther versetzt, coagulirt schlecht, so dass ziemlich viel des Farbstoffes in der Flüssigkeit hinterbleibt. Das erhaltene Hämoglobinoagulum ist in reinem Essigäther nur in Spuren löslich; wird aber dem Essigäther Salzsäure zugesetzt und die Flüssigkeit erwärmt, so geht viel Farbstoff in Lösung, die sich jetzt braunroth färbt. Wir verwendeten auf 400 g des Blutcoagulums 4 Liter Essigäther und 100 ccm. Salzsäure vom specifischen Gewicht 1,19. Leider, wie man sich denken konnte, wird durch die Salzsäure der Essigäther gespalten und wir durften nur ein Gemenge von Acethämin und dessen Aethyläther erwarten. Thatsächlich schieden sich auch beim langsamen Verdunsten der warm filtrirten Lösung anfangs überwiegend sechsseitige Tafeln mit gerader Auslöschung aus. Bei weiterer Krystallisation waren die typischen triklinischen Täfelchen mit dem Auslöschungswinkel von 33—35° des Acethämins zahlreich vorhanden. Wir verzichteten deshalb auf weitere Analysen dieses nicht homogenen Produktes.

Obgleich schon Bialobrzewski¹⁾ aus dem nach Schalfejeff mittelst Eisessig erhaltenen Hämin sowohl Hämatin von der Zusammensetzung $C_{32}H_{32}O_4N_4Fe$ als auch das salzsaure Hämatoporphyrin = $C_{16}H_{18}O_3N_2HCl$ in reinem Zustande dargestellt und analysirt hat, so war es uns doch wünschenswerth, nachdem wir gefunden haben, dass durch BrH in Eisessig schon in der Kälte Hämatoporphyrin entsteht, nachzuprüfen, ob das in der Kälte aus Acethämin bereitete Hämatoporphyrin die Zusammensetzung: $C_{16}H_{18}O_3N_2$ habe. Es war denkbar, dass in der Kälte aus dem Acethämin durch Bromwasserstoff nach einer der zwei folgenden Gleichungen das Eisen abgespalten wird:



Den Hauptunterschied in ihrer Zusammensetzung im Vergleich zu der Zusammensetzung des Hämatoporphyrins =

¹⁾ Ber. d. deutschen chem. Ges., 1898, S. 2848.

$C_{16}H_{18}N_2O_3$ zeigen die beiden obigen Formeln in ihrem Kohlenstoffgehalte. Das Hämatoporphyrin $C_{16}H_{18}N_2O_3$ enthält: 67,13% C, 6,29% H und 9,79% N. Die Formel: $C_{34}H_{38}N_4O_6$ verlangt: 68,23% C, 6,35% H und 9,36% N und die um zwei Wasserstoffe ärmere = $C_{34}H_{36}N_4O_6$ verlangt: 68,45% C, 6,04% H und 9,39% N.

Wir haben 10 g reines Acethämin und 150 ccm. mit BrH gesättigten Eisessig 3 Tage lang unter häufigem Umrühren bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Am 4. Tage wurde die schön rothe Lösung in Wasser gegossen und, wie in der nachfolgenden Mittheilung beschrieben, verarbeitet. Das erhaltene salzsaure Hämatoporphyrin wurde noch einmal aus wässriger Salzsäure umkrystallisirt und das jetzt unter dem Mikroskope aus vollkommen homogenen Nadeln bestehende Salz, nachdem es von der Mutterlauge abfiltrirt, mit verdünnter HCl nachgewaschen und zwischen Fliesspapier abgepresst war, von Neuem in Wasser gelöst und durch die nöthige Menge Natriumacetat in das freie Hämatoporphyrin verwandelt. Dieses Präparat vollkommen aschefrei mit Wasser gewaschen, in vacuo bis zu constantem Gewichte getrocknet, wog 1,93 g und ergab bei der Verbrennung 67,21% C, 6,39% H und 9,64% N, also Zahlen, welche gut mit der Formel $C_{16}H_{18}N_2O_3$ übereinstimmen.

Ein zu gleicher Zeit durch kurzes Erwärmen auf dem Wasserbade nach 24stündigem Stehen mit Bromwasserstoff aus dem Hämin nach Nencki und Sieber, sonst aber auf gleiche Weise bereitetes Hämatoporphyrin ergab bei der Verbrennung 67,08% C, 6,24% H und 9,62% N.

Auf Grund der nunmehr aufgefundenen Thatsachen können die meisten Widersprüche in den Angaben über das Hämin und Hämatin aufgeklärt werden.

Aus dem Hämoglobin wird durch Eisessig nach dem ursprünglich von Teichmann angegebenen, später von verschiedenen anderen Autoren und zuletzt von Schalfejeff verbesserten Verfahren das Acethämin abgespalten. Höchst wahrscheinlich ist in diesem Körper sowohl das Chlor, wie das Acetyl an das Eisen gebunden, denn sobald das letztere mittelst Bromwasserstoff aus dem Molekül des Acethämins

herausgeholt ist, wird auch das Chlor und das Acetyl abgespalten. Beim Verseifen des Acethämins mittelst kalter Natronlauge bleibt noch das Eisen im Molekül, das Chlor und Acetyl aber werden abgespalten. Die Verseifung ist aber nicht eine vollkommene, da das Hämatin noch immer minimale Mengen von Chlor enthält und auch die Zahlen für C, N und Fe in einigen Analysen etwas niedriger als die theoretischen Werthe ausfallen (vgl. Bialobrzewski l. c. S. 2848). Auch aus dem aus dem Amylalkohol nach der Vorschrift von Nencki und Sieber dargestellten Hämin, in welchem mehrere Moleküle des Hämins durch ein Molekül Amylalkohol zusammengehalten werden, wird bei der Verseifung mit Natronlauge das Hämatin von der Zusammensetzung $C_{32}H_{32}O_4N_4Fe$ erhalten.

Allem Anscheine nach sind die haarförmigen mittelst Aceton erhaltenen Krystalle mit dem Auslöschungswinkel von $40-43^\circ$ das freie Hämin von der Formel $C_{32}H_{31}O_3N_4ClFe$, obgleich bei der ausserordentlichen Neigung dieses Farbstoffs, sich mit anderen Substanzen zu verbinden, auch mittelst Aceton kein absolut reines Produkt erhalten wurde. Dass aus dem Aether des Hämins resp. Acethämins, in welchen nur ein Hydroxylwasserstoff durch Alkyl ersetzt ist, beim Verseifen durch Alkalien in der Kälte freies Hämatin entstehen werde, ist bei der relativen Beständigkeit der Aether kaum zu erwarten; eher ist es wahrscheinlich, dass z. B. aus dem Monoäthylacethämin ein Aethylhämatin erhalten werden wird. Erwärmen mit Alkalilauge hat die Gefahr, dass auch das Eisen aus dem Molekül herausgelöst werden kann. Der Dimethyl- und der Diäthyläther des Hämins, die erst beim Kochen mit Natronlauge in Lösung übergehen, dürften schwerlich dabei ein einheitliches Produkt liefern.

In Anbetracht der durch diese Untersuchungen erweiterten Kenntnisse des Hämins halten wir es nochmals für angezeigt, die Angaben von H. Bertin-Sans und J. Moitessier¹⁾ sowie die von Preyer²⁾ über die Synthese des Hämoglobins aus Hämatin und Eiweiss als wenig wahrscheinlich zu bezeichnen.

1) Bull. soc. chim., Paris 5 mai 1893.

2) Ber. d. chem. Ges., Berlin 1897, S. 191.

In dem Versuche Preyer's ist es überhaupt fraglich, ob das Hämoglobin, aus welchem er die Synthese bewerkstelligt haben will, überhaupt zerstört war.

Schon vor längerer Zeit wurde im Laboratorium des Einen von uns noch in Bern durch Herrn M. Lebensbaum¹⁾ gezeigt, dass bei der Spaltung des Hämoglobins in Eiweiss und Hämatin Sauerstoff und Wasser aufgenommen werden, resp. zum Zustandekommen dieser Reaction nothwendig sind. Bei der Synthese des Hämoglobins müsste also der umgekehrte Process, d. h. Abspaltung von Wasser und Sauerstoffentziehung stattfinden, Reactionen, die schwerlich durch Zusammenmischen von Hämatin mit Eiweiss realisirt werden. Bei der Aehnlichkeit des Spectrums des Oxyhämoglobins mit den Spectren der Farbstoffe aus der Hämatin-Gruppe ist hier Vorsicht geboten und spectroscopische Befunde allein nicht entscheidend. So liegen z. B., wie uns vergleichende Versuche gezeigt haben, die beiden Absorptionsstreifen des kürzlich von Arnold²⁾ als Hämatin in neutraler Lösung beschriebenen Farbstoffs zwischen den am meisten nach Violett zu verschobenen zwei Streifen des Hämochromogens und der am meisten nach Roth zu liegenden beiden Streifen des Oxyhämoglobins. Der Hauptunterschied zwischen dem Arnold'schen Farbstoff und dem Oxyhämoglobin ist, dass beim letzteren der nach Roth zu liegende Streifen stark Licht absorhirt und scharf begrenzt ist, während bei dem Arnold'schen Farbstoff das Umgekehrte der Fall ist. Das sicherste Kriterium, nämlich die Darstellung künstlicher Oxyhämoglobinkrystalle, bleibt noch aus. Wir wollen keineswegs behaupten, dass die Hämoglobinsynthese eine Sache ferner Zukunft sei, glauben aber, dass es noch weiterer Untersuchungen namentlich über das Hämochromogen bedarf, das nach den interessanten Versuchen des Herrn v. Zeynek³⁾ ein nicht allzuschwer zugänglicher Körper ist, um Mittel und Wege zur Hämoglobinsynthese zu finden.

1) Wiener Monatshefte für Chemie, Bd. 8, S. 165—179.

2) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXIX, S. 79.

3) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXV, S. 492.



Fig. I



Fig. II



Fig. III



Fig. IV

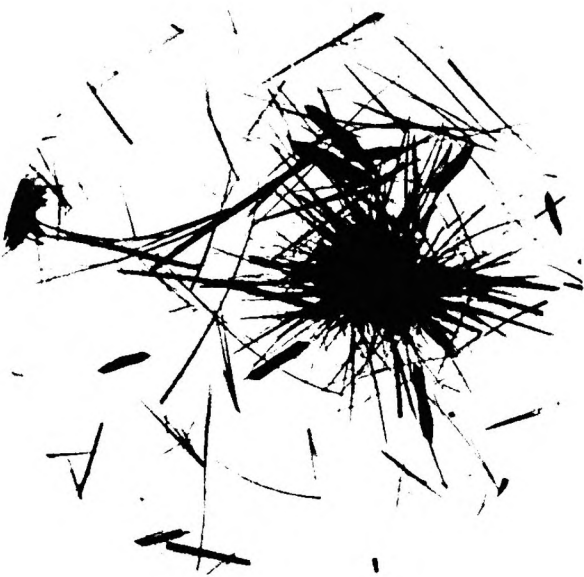


Fig. V



Fig. VI

Erklärung der photographischen Tafel.

- Figur I. Acethämin aus Eisessig umkrystallisirt.
- II. Sechseckige Tafeln des Hämins aus Amylalkohol.
 - III. Diäthyläther des Acethämins.
 - IV. Monoamyläther des Acethämins.
 - V. Hämin aus Aceton.
 - VI. Hämin aus einem Tropfen Blut, mit Salzsäure und Aceton erhalten.

Sämmtliche Bilder bei 75maliger Vergrößerung aufgenommen.

II. Zur Kenntniss des Hämatoporphyrins.

Bei der Beschreibung des Darstellungsverfahrens des mittelst Bromwasserstoff in Eisessig erhaltenen Hämatoporphyrins wurde angegeben, dass gegen Ende der Operation, zur völligen Umwandlung des Hämins, die Lösung auf dem Wasserbade erwärmt werden soll.¹⁾ Seither haben wir mitgetheilt,²⁾ dass, um bessere Ausbeute an Hämatoporphyrin zu erzielen, es zweckmässig ist, vor dem Erwärmen das Hämin mit der Lösung von Bromwasserstoff in Eisessig mindestens 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen zu lassen. Wir haben in der letzten Zeit, und zwar mit Vortheil, das Erwärmen auf dem Wasserbade ganz weggelassen. Unser jetziges Verfahren zur Darstellung des Hämatoporphyrins ist daher folgendes:

Je 5 g Hämin — es ist besser, mit kleinen Portionen zu operiren — werden in 75 ccm. bei 10° C. mit Bromwasserstoff gesättigtem Eisessig (welche Lösung von der Firma Kahlbaum in Berlin bezogen werden kann) in kleinen Portionen und unter häufigem Umrühren eingetragen. Man lässt nun die Flüssigkeit 3—4 Tage bei Zimmertemperatur stehen, schüttelt öfters um, und wenn alles Hämin gelöst ist und die Lösung die schön rothe Farbe des Hämatoporphyrins angenommen hat, wird der Kölbcheninhalt in destillirtes Wasser ge-

1) Wiener Monatshefte f. Chem., 1888, S. 82.

2) Wiener Monatshefte f. Chem., Bd. X, S. 568.

gossen und nach mehrstündigem Stehen, wobei nur ein ganz geringer Bodensatz entsteht, filtrirt. Die weitere Verarbeitung geschieht, wie früher angegeben, d. h. die filtrirte Lösung wird so lange mit Natronlauge versetzt, bis aller Bromwasserstoff neutralisirt ist, wobei der in verdünnter Essigsäure unlösliche Farbstoff fast vollständig ausfällt. Man lässt absetzen und wäscht den Niederschlag durch Decantation so lange aus, bis das Filtrat mit Silbernitrat keinen Niederschlag mehr gibt. Der ausgewaschene Niederschlag wird, nachdem er durch Liegen auf Fliesspapier den grössten Theil des Wassers verloren, noch feucht mit reiner verdünnter Natronlauge auf warmem Wasserbade eine Viertelstunde digerirt, von dem abgeschiedenen Eisenoxydsalz filtrirt und aus dem alkalischen Filtrat durch Essigsäure der Farbstoff gefällt. Das abgeschiedene Hämatoporphyrin wird jetzt von Neuem gut ausgewaschen, vom Filter abgehoben, mit wenig Wasser in einer Schale zu einem dicken Brei angerührt und unter Umrühren mit kleinen Portionen Salzsäure so lange versetzt, bis der Farbstoff in Lösung gegangen ist. Das salzsaure Hämatoporphyrin ist in Wasser leicht löslich, mit zunehmendem Gehalt an Säure nimmt die Löslichkeit bedeutend ab; es ist deshalb rathsam, nach erfolgter Lösung von dem geringen harzigen Rückstand abzufiltriren und dem Filtrat noch Salzsäure zuzusetzen. Sollte jetzt noch ein harziger Niederschlag entstehen, so filtrirt man von Neuem davon ab und stellt das Filtrat im Vacuum über SO_4H_2 zur Krystallisation auf. Gewöhnlich schon nach einigen Stunden erstarrt die Flüssigkeit in der Schale zu einem Krystallbrei. Man lässt jedoch noch 2—3 Tage im Vacuum stehen, filtrirt hierauf auf einem Saugfilter ab und wäscht die Krystalle mit 10%iger Salzsäure nach.

Durch einmaliges Umkrystallisiren der auf obige Weise zwischen Fliesspapier getrockneten Krystalle wird das salzsaure Hämatoporphyrin chemisch rein erhalten. Den Vortheil dieses verbesserten Verfahrens illustriert folgender Versuch:

Je 10 g der mittels Kochsalz und Eisessig dargestellten Häminkrystalle wurden mit 75 ccm. BrH in Eisessig drei Tage lang bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Hierauf wurde

die eine Portion sofort in 1.5 Liter Wasser gegossen, die zweite Portion erst auf dem Wasserbade erwärmt, bis der grösste Theil von BrH entwichen war, und ebenfalls mit 1.5 Liter Wasser vermischt. Die weitere Verarbeitung geschah, wie oben angegeben. Nach Entfernung des Eisenoxyduls wurde das alkalische Filtrat gemessen und aus je 20 ccm. das Hämatoporphyrin mit Essigsäure ausgefällt, gewaschen, im Vacuum getrocknet und gewogen. Andererseits wurde die Hauptmenge des Filtrates auf salzsaures Hämatoporphyrin verarbeitet.

Aus 10 g des nicht erwärmten Hämins erhielten wir 9.1 g Hämatoporphyrin und 9.2 g der im Vacuum getrockneten, nicht umkrystallisirten Krystalle des salzsauren Salzes.

Aus 10 g des erwärmten Hämins erhielten wir 8.8 g Hämatoporphyrin und 4.97 g des salzsauren Salzes.

Im ersteren Falle war die Lösung prächtig roth, während sie im zweiten Falle, also nach dem Erwärmen, einen Stich ins Bräunliche hatte; auch krystallisirte das salzsaure Salz aus der nicht erwärmten Portion viel schöner und reichlicher aus. Dieser Versuch bestätigt die übrigens schon von W. Küster¹⁾ hervorgehobene Thatsache, dass das Häminmolekül aus zwei Hämatoporphyrinmolekülen aufgebaut ist, welche vielleicht durch das Eisen zusammengehalten werden. Alle Aether des Hämins geben dasselbe Hämatoporphyrin. Wir haben ausser dem früher von Nencki und Sieber mittels Amylalkohols dargestellten Hämin auch das Acethämin und das Aethylacethämin in Hämatoporphyrin verwandelt und in den Löslichkeitsverhältnissen und der Krystallform des salzsauren Salzes keinen Unterschied gefunden; auch ergaben die Elementaranalysen des aus den eben genannten Häminen dargestellten Hämatoporphyrins die gleichen, mit der Formel $C_{16}H_{15}N_2O_3$ übereinstimmenden Zahlen.²⁾ Nur ist die Ausbeute an Hämatoporphyrin verschieden: das beste Resultat wurde aus Acethämin oder dem Hämin nach Nencki und Sieber

1) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., Jahrgang 1897, S. 105.

2) Vgl. die vorhergehende Mittheilung u. Bialobrzkeski. Ber. d. chem. Gesellsch., 1896, S. 2850.

erhalten: geringer ist die Ausbeute aus dem Methyl- resp. Aethyläther. Zur völligen Spaltung resp. Verseifung ist es hier zweckmässig, die bromwasserstoffsäure Lösung nach drei- bis viertägigem Stehen kurze Zeit in einem auf 50—60° temperirten Wasserbade vor dem Eingiessen in das Wasser zu erwärmen. Reines Hämatin mit Bromwasserstoff in Eisessig nach mehrtägigem Stehen bei Zimmertemperatur gibt ebenfalls Hämatoporphyrin, jedoch in bedeutend geringerer Menge. Wir haben so aus Hämatin das salzsaure Hämatoporphyrin rein und krystallinisch dargestellt.

Salzsaures Hämatoporphyrin ist in Alkohol, namentlich 60—70%igem, bedeutend leichter löslich als in Wasser, doch eignet sich Alkohol zum Umkrystallisiren dieser Verbindung nicht. Die Lösung muss ziemlich weit im Vacuum concentrirt werden und die abgeschiedenen Krystalle sind sehr klein und nicht schön ausgebildet. In alkoholischem Ammoniak gelöstes Hämatoporphyrin bildet damit beim Stehen im Vacuum ein in rothen Nadeln krystallisirendes Salz, das jedoch sehr unbeständig ist. Um das Ammoniaksalz in grösserer Menge darzustellen, wurde reines, aus dem krystallinischen salzsauren Salze mit Natriumacetat gefälltes Hämatoporphyrin in alkoholischem Ammoniak gelöst und die vom Ungelösten filtrirte Lösung im Vacuum über SO_4H_2 zum Verdunsten hingestellt. Nach zweitägigem Stehen bildete sich am Rande ein braune Krystallkruste, während am Boden der Schale ganz homogene Krystallnadeln sich absetzten. Sie wurden, ohne die Randkruste mitzunehmen, abfiltrirt, mit etwas absolutem Alkohol nachgewaschen, anfangs auf Fliesspapier, sodann, da uns Vorversuche zeigten, dass das Salz leicht Ammoniak verliert, im Exsiccator über Chlorealcium und Salmiak getrocknet. Trotzdem verlor das Präparat fortwährend an Gewicht und bräunte sich an der Oberfläche stark. Als das Präparat nach mehrwöchentlichem Stehen annähernd constantes Gewicht erlangte, ergab eine Stickstoffbestimmung, dass das Salz sich fast vollständig dissociirt hatte. Gefunden wurden 10,52% N. Berechnet für $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3\text{NH}_3$ 13,8% N; für $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3$ 9,79% N.

Auf ähnliche Weise suchten wir auch das Kaliumsalz

zu bereiten, doch konnten wir es weder aus der alkoholischen noch aus der wässrigen Lösung krystallinisch erhalten.

Von besonderem Interesse mit Rücksicht auf den molekularen Bau des Hämatoporphyrins war es, den Charakter der drei Sauerstoffatome dieser Substanz zu bestimmen. Weder mit Diamid noch mit alkoholischer Phenylhydrazinlösung und Essigsäure haben wir ein Derivat erhalten, sodass die Gegenwart eines Aldehyd- oder Ketonsauerstoffs in Hämatoporphyrin ausgeschlossen ist. Das Hämatoporphyrin verhält sich wie eine Amidosäure, da es sowohl mit Säuren wie mit Basen Verbindungen eingeht. Fraglich ist es nur, ob der saure Charakter durch Carboxyl oder Hydroxylgruppen bedingt ist. Um der Frage näher zu treten, haben wir den Methyl- und den Aethyläther des Hämatoporphyrins dargestellt und constatirt, dass in dem Hämatoporphyrinmolekül 2 Wasserstoffe durch Alkyl ersetzt werden.

Wird in eine methyl- oder äthylalkoholische Lösung des Hämatoporphyrins trockenes Salzsäuregas eingeleitet, so findet zwar eine Aetherificirung statt, kenntlich daran, dass durch Wasserzusatz ein Theil der Substanz gefällt wird und sich in verdünnter Natronlauge nicht mehr löst; aber selbst bei mehrstündigem Einleiten des Gases und Erwärmen bleibt ein beträchtlicher Theil des Hämatoporphyrins unverändert, während ein anderer Theil in die Anhydridverbindung übergeht und verharzt, sodass wir es zweckmässiger gefunden haben, den Vorschlag von E. Fischer und A. Speier¹⁾ befolgend, das Hämatoporphyrin in alkoholischer Lösung bei geringerem Säuregehalt zu ätherificiren.

2 g chemisch reines Hämatoporphyrin wurden mit einer Mischung von 20 g absolutem Methylalkohol und 2 g conc. SO_4H_2 auf dem Wasserbade am Rückflusskühler 4 Stunden lang erwärmt. Hierauf wurde die schön violettrothe Lösung in 2 Liter Wasser unter Umrühren gegossen und der feinkörnige, amorphe und schlecht filtrirende Niederschlag auf einem Filter aus gehärtetem Papier unter Anwendung der Saugpumpe abfiltrirt und mit Wasser

¹⁾ Ber. d. deutsch. chem. Gesell. 28. 3252.

bis zum Verschwinden der Schwefelsäurereaction gewaschen. Das nur an der Luft zwischen Fliesspapier getrocknete und in verdünnter Natronlauge in der Kälte völlig unlösliche Präparat ergab bei der Elementaranalyse folgende Zahlen:

0,2371 g gaben 0,5996 g CO_2 u. 0,1472 g H_2O entsprechend 68,96% C und 6,90% H.

0,1572 „ „ 11,8 ccm. N-Gas bei 14,7° T. u. 757 mm. Bst. = 8,80% N.

Ein anderes Präparat haben wir mittelst 5% igen Chlorwasserstoffs ätherificirt. 4,5 g krystallisirtes salzsaures Hämatoporphyrin wurden an der Luft, später im Vacuum getrocknet, hierauf mit 50 ccm. absoluten Methylalkohols, der 5% HCl enthielt, 12 Stunden lang am Rückflusskühler auf dem Wasserbade zum Kochen erhitzt. Die schön rothe Lösung wurde hierauf in 2 Liter Wasser gegossen, der feine und schlecht filtrirende, amorphe Niederschlag auf ein Saugfilter von gehärtetem Filtrirpapier gebracht und bis zum Verschwinden des Chlors im Filtrate ausgewaschen. Das anfangs zwischen Fliesspapier, sodann über SO_4H_2 getrocknete Präparat ergab bei der Verbrennung folgende Zahlen:

0,2722 g gaben 0,6907 g CO_2 u. 0,1733 g H_2O = 69,18% C u. 7,07% H.

0,2417 „ „ 17,9 ccm. N-Gas bei 16,4° T. u. 769 mm. Bst. = 8,76% N.

Aus den übereinstimmenden Analysen der beiden Präparate geht hervor, dass in dem Hämatoporphyrinhydrat zwei Hydroxylwasserstoffe durch Methyl ersetzt wurden.

Berechnet für: $\text{C}_{16}\text{H}_{16}(\text{OCH}_3)_2\text{N}_2\text{O}$.

C 68,79%

H 7,00%

N 8,91%

Gefunden:

C 68,96 und 69,18%

H 6,90 „ 7,07%

N 8,80 „ 8,76%.

Diese Formel wird noch durch eine Methoxylbestimmung bestätigt, wobei das mittelst HCl erhaltene Dimethylhämatoporphyrin mit Jodwasserstoff im Zeissl'schen Apparate allmählich auf 145° erhitzt wurde.

0,2301 g gaben 0,3053 g AgJ = 8,47% CH_3 . Ber. für $\text{C}_{16}\text{H}_{16}(\text{OCH}_3)_2\text{N}_2\text{O}$ 9,5% CH_3 . Es wurde also auch hier, ähnlich wie bei einigen Häminäthern etwa 1% Alkyl zu wenig gefunden. Die procentische Zusammensetzung des Monomethyläthers $\text{C}_{16}\text{H}_{17}(\text{OCH}_3)\text{N}_2\text{O}_2$ ist: C 68,00%, H 6,66%, N 9,33% und der Gehalt an Methyl = 4,7%.

Aus 4,5 g des salzsauren Hämatoporphyrins erhielten wir 3,5 g des Aethers.

Das Dimethylhämatoporphyrin ist ein amorphes ziegelrothes Pulver, das an der Luft sich bald oberflächlich bräunt und missfarbig wird, wesshalb es für Elementaranalysen möglichst sorgfältig und rasch zwischen gehärtetem Filtrirpapier (um jede Verunreinigung durch Papierfasern zu vermeiden), sodann im Exsiccator getrocknet werden muss. In Wasser und verdünnten Alkalien ist es völlig unlöslich und erst beim Kochen mit den Letzteren geht es allmählich in Lösung über. Leicht löslich ist es in Alkohol, Methylalkohol, Aether, Essigäther, Benzol und wässerigen Mineralsäuren und wird dem Aether, Essigäther oder Benzol durch wässrige Salzsäure entzogen. Es gelang uns aber nicht, weder mit Salzsäure noch mit anderen Säuren, krystallinische Salze des Dimethylhämatoporphyrins darzustellen. Im Capillarröhrchen erhitzt, beginnt das Dimethylhämatoporphyrin schon gegen 60° zu sintern und ist gegen 85° unter Gasentwicklung zu einem klaren Tropfen geschmolzen. Als eine Probe der Substanz gegen 100° erwärmt wurde, schmolz sie zu einer dunkelrothen Flüssigkeit, es entwich Methylalkohol und hinterblieb ein amorpher Rückstand, der in Säuren und Alkalien unlöslich war und dessen Elementaranalysen am nächsten der Formel: $C_{34}H_{36}N_4O_4$, also wahrscheinlich $C_{32}H_{30}(CH_3)_2N_4O_4$ entsprachen. Aber ebensowenig wie aus dem Hämatoporphyrinhydrat das Anhydrid $C_{32}H_{32}N_4O_4$, gelang es uns, aus dem Dimethyläther, selbst beim Erhitzen auf 130°, den Aether des Hämatoporphyrin-anhydrids rein zu erhalten.

Auf ähnliche Weise wie den Dimethyläther haben wir auch den Diäthyläther des Hämatoporphyrins dargestellt. Auch dieser Aether schmilzt und spaltet Aethylalkohol schon unter 100° ab. Ein bei 110—115° bis zu constantem Gewichte getrocknetes Präparat des Diäthylhämatoporphyrins ergab uns bei der Verbrennung 72,28% C, 6,49% H und 9,24% N, also Zahlen, welche ziemlich nahe der Formel: $C_{32}H_{30}(C_2H_5)_2O_4N_4$ stehen. (Ber. 72,97% C, 6,75% H, 9,46% N.) Dieses Produkt war in verdünnten Mineralsäuren und Alkalien unlöslich, wenig

löslich in Benzol und Aether, leicht löslich in Alkohol und schied sich in amorphen, rothen Flocken durch Wasserzusatz aus der alkoholischen Lösung ab. Durch Behandlung des Hämatoporphyrinhydrats mit Essigsäureanhydrid erhielten wir dagegen ein Produkt, dessen Zusammensetzung gut mit der Formel des anhydridischen Monoacetylhämatoporphyrins übereinstimmte.

1 g krystallisirtes salzsaures Hämatoporphyrin wurde mit 2 g entwässertem Natriumacetat und 5 g Essigsäureanhydrid $\frac{1}{4}$ Stunde am Rückflusskühler zum Kochen erhitzt, die dunkelbraunrothe Lösung nach dem Erkalten mit Wasser versetzt und das in amorphen braunrothen Flocken abgeschiedene Produkt auf dem Filter mit Wasser ausgewaschen. Diese in Wasser unlösliche, in Alkohol nur wenig lösliche Verbindung, in vacuo über SO_4H_2 bis zu constantem Gewichte getrocknet, ergab bei der Verbrennung: 70,53% C, 6,02% H, 9,73% N. Die Formel: $\text{C}_{32}\text{H}_{31}(\text{COCH}_3)\text{N}_4\text{O}_4$ verlangt: 70,60% C, 5,88% H und 9,69% N.

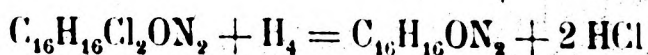
Die Spectra der nur an der Luft oder im Vacuum über SO_4H_2 getrockneten beiden Alkyläther fallen mit dem Spectrum des Hämatoporphyrins in alkalischer resp. saurer Lösung zusammen. Nach dem Trocknen bei 110° sind alle Absorptionsbänder, sowohl in saurer wie in alkalischer Lösung die gleichen wie die des Hämatoporphyrinhydrats, nur sind sie alle um ein wenig nach Roth zu verschoben; etwa um so viel, wie das Spectrum des Phylloporphyrins im Vergleich mit dem des Hämatoporphyrinhydrats nach Violett zu verschoben ist. Früher wurde schon von dem Einen von uns und N. Sieber durch Verreiben der Häminkrystalle mit concentrirter SO_4H_2 ein Hämatoporphyrin erhalten, das leicht löslich in Alkalien, unlöslich aber in verdünnten Säuren und Alkohol ist und für welches auf Grund der analytischen Zahlen die Formel $\text{C}_{32}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_5$ als die wahrscheinlichste angenommen wurde.¹⁾ Es ist dies also das erste Anhydrid des Hämatoporphyrins, aus 2 Molekülen des Hydrates unter Austritt von H_2O entstanden.

1) Archiv f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 20, S. 330.

$(C_{16}H_{18}N_2O_3)_2 = C_{32}H_{34}N_4O_5 + H_2O$. Ein Tetrahydroprodukt dieses Hämatoporphyrins ist die durch Einwirkung verschiedener Reductionsmittel auf Hämin oder Hämatoporphyrin entstehende und von uns als Hexahydrohämatoporphyrin früher beschriebene Verbindung.¹⁾ Die durch Einwirkung von Essigsäureanhydrid auf Hämatoporphyrin entstehende Verbindung ist das Acetyl-derivat des zweiten Anhydrids des Hämatoporphyrins von der Formel $C_{32}H_{32}N_4O_4$. Wir haben die Untersuchung über das Hämatoporphyrin wieder aufgenommen, indem wir uns als Hauptziel vorgesetzt haben, eine Reaction zu finden, um vom Hämatoporphyrin durch Entziehung von zwei Atomen Sauerstoff, zu dem Phylloporphyrin, dem von Marchlewski und Schunk²⁾ genauer untersuchten Derivate des Chlorophylls zu gelangen. Bei der Eigenschaft des Hämatoporphyrins, unter Wasseraustritt Anhydride zu bilden, deren Spectra noch mehr als wie das des Hydrats vom Spectrum des Phylloporphyrins entfernt sind, konnten wir von vornherein erwarten, dass Erwärmen auf Temperaturen über 100° , oder Anwendung wasserentziehender Agentien uns nicht zum Ziele führen wird. Leider erwies sich das sonst so energisch Sauerstoff entziehende Diamid dem Hämatoporphyrin gegenüber als unwirksam. In wässriger oder alkoholischer Lösung bei Luftausschluss mit Diamid geschüttelt und erwärmt, bleibt das Hämatoporphyrin unverändert. Im Spectrum fallen die Absorptionsbänder des so behandelten Hämatoporphyrins mit denen des Hämatoporphyrinhydrates zusammen. Wir versuchten, dem Beispiele E. Fischer's³⁾ anlässlich seiner Untersuchungen über die Harnsäure folgend, die beiden Hydroxyle des Hämatoporphyrins zunächst mittelst PCl_5 durch Chlor und hierauf die zwei Chloratome durch Wasserstoff nach folgendem Schema:



und



zu ersetzen.

1) Ibid. Bd. 20, S. 331.

2) Ann. d. Chem. Pharm., 278, 96.

3) Ber. d. deutschen chem. Gesell., Jahrg. 1884, S. 329.

10 g PCl_5 wurden mit 60 g Tetrachlorkohlenstoff übergossen, der Flüssigkeit 2 g reines Hämatoporphyrinhydrat zugesetzt und in einem Kölbchen 5 Stunden lang am Rückflusskühler erwärmt. Eine Einwirkung fand statt. Es entwich HCl und der grösste Theil des Hämatoporphyrins ging in Lösung über. Die gelbbraune Flüssigkeit wurde hierauf vom Ungelösten filtrirt, über Nacht über SO_4H_2 und Aetzkalk im Vacuum stehen gelassen, am nächsten Tage mit Aether übergossen und zur Zerstörung des POCl_3 mit Wasser geschüttelt. Die abgehobene ätherische Lösung wurde verdunstet und der braune amorphe Rückstand in Chloroform gelöst. Nach Abdestilliren des Chloroforms hinterblieb ein brauner Farbstoff in amorphen Körnern zurück, unlöslich in Wasser; in Aether und Alkohol mit braungelber Farbe mit einem Stich ins Grün löslich. Die Lösung, passend verdünnt, zeigt im blauen Theil des Spectrums zwischen der Linie F und der Strontiumlinie einen ziemlich scharf begrenzten Absorptionsstreifen der Wellenlänge $\lambda = 479-466$ entsprechend. In verdünnter Natronlauge löst sich der Farbstoff allmählich auf zu einer klaren braunrothen Flüssigkeit, die im Spectrum keinen Absorptionsstreifen mehr zeigt.

Dieser Versuch war also misslungen, da die Reaction zu weit gegangen ist. Wir versuchten sodann ein biologisches Reductionsmittel — nämlich anäerobiotische Bacterien. Es gelang aber auch dadurch nicht, dem Hämatoporphyrin die zwei Sauerstoffatome zu entziehen.

Es wurden zwei Kolben mit einer Nährlösung von 2,5 g Wittepepton, 0,5 g Traubenzucker und 0,5 g Hämatoporphyrinkalium in 500 ccm. Wasser sterilisirt; der eine mit Sporen von Tetanus, der andere mit den Bacillen des malignen Oedems geimpft und nach 2stündiger Durchleitung von Wasserstoff unter Luftabschluss bei Bruttemperatur stehen gelassen. Schon am nächsten Tage trat in beiden Kolben Gährung ein unter Entwicklung stinkender Gase. Am 4. Tage war das Hämatoporphyrin als rother Bodensatz abgeschieden und die Lösungen begannen sich zu klären. Am 8. Gährungstage wurde der Kolben mit Tetanus und am 12. der mit malignem Oedem geöffnet. In beiden Kolben war der Inhalt stark

übelriechend, die Reaction schwach sauer, und wie die Ueberimpfungen zeigten, waren die Culturen durch andere Mikroben nicht verunreinigt. Das abfiltrirte und ausgewaschene Hämatoporphyrin erwies sich bei der spectroscopischen vergleichenden Prüfung mit reinem Hämatoporphyrin, sowie durch die Darstellung des krystallinischen salzsauren Salzes als unverändert.

Da in diesen beiden Versuchen durch Zusatz von Traubenzucker die Nährlösung sauer und dadurch das Hämatoporphyrin gleich bei Eintritt der Gährung gefällt wurde, so wiederholten wir den Versuch und impften eine Nährlösung, die in 400 ccm. nicht sterilisirten Leitungswassers 4 g Wittepepton und 0.2 g Hämatoporphyrinkalium enthielt, mit Cholerabacillen. Der atmosphärische Sauerstoff wurde auch hier durch Wasserstoff vertrieben und der Kolben unter Luftausschluss in Thermostaten gestellt. Am folgenden Tage starke Gährung und Entwicklung stinkender Gase. Hämatoporphyrin noch gelöst. Nach 3tägiger heftiger Gährung liess die Gasentwicklung nach und ein geringer Theil des Hämatoporphyrins ist in dem schleimigen Bodensatze abgesetzt. Am 8. Tage ist die Flüssigkeit geklärt, keine Gasentwicklung, der grösste Theil des Hämatoporphyrins im Bodensatze. Der Kolben wird jetzt geöffnet und sein Inhalt entwickelt einen pestilenzialischen Geruch. Mikroskopisch sind nur spärlich Cholerabacillen vorhanden, daneben in grosser Menge lange, bewegliche Bacillen, Kurzstäbchen und Coccen. Die Reaction der Flüssigkeit alkalisch. Sowohl die filtrirte Lösung wie der ausgewaschene Bodensatz zeigen spectroscopisch und chemisch alle Eigenschaften des unveränderten Hämatoporphyrins. Phylloporphyrin konnten wir keins darin finden.

Durch die schönen Untersuchungen von W. Küster¹⁾ und seiner Mitarbeiter wissen wir, dass das Hämatoporphyrin, mit einer Ausbeute von gegen 50%, zu einer Säure von der Formel: $C_8H_9NO_4$ oxydirt werden kann, welche durch Kochen mit Alkalien unter Aufnahme von H_2O und Abspaltung von NH_3 in die Säure: $C_8H_8O_3$ übergeht. Durch Reduction mit

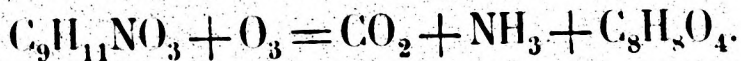
1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXVIII, S. 35.

Jodwasserstoff geht die letztere in die von M. Kölle¹⁾ dargestellte dreibasische Hämotricarbonsäure = $C_8H_{12}O_6$ über, welche einer vergleichenden Zusammenstellung dieses Autors zufolge in allen Stücken der von Auwers, Köbner und Meyenburg²⁾ synthetisch dargestellten Aethyltricarballylsäure gleicht.

Wenn auch die als erstes Oxydationsprodukt auftretende Säure von der Formel $C_8H_9NO_4$, sowie die Säure $C_8H_8O_5$ als cyclische Verbindungen aufgefasst werden können, so ist jedenfalls in der Hämotricarbonsäure der Ring gesprengt. Ob das Hämatoporphyrin aus 2 Atomgruppen mit 8 Kohlenstoffen aufgebaut ist oder ob die noch fehlenden 50% an Spaltungsprodukten andere Atomgruppierung haben, bleibt noch zu untersuchen, und es wäre verfrüht, schon jetzt Vermuthungen über die Constitution des Hämatoporphyrinmoleküls zu äussern. Wir wollen aber nicht unterlassen, auf eine Beobachtung hinzuweisen, welche vielleicht zu den von Küster entdeckten Oxydationsprodukten des Hämatoporphyrins in Beziehung steht.

Schon im Jahre 1868 entdeckten O. Schultzen und L. Riess³⁾ im Harn von Patienten, die an acuter Leberatrophie gestorben sind, eine Säure von der Zusammensetzung $C_8H_8O_4$. Sie schmilzt bei 162° und gibt, im Glasrohr mit Kalkhydrat erhitzt, braune, ölige Tropfen, welche deutlich nach Phenol riechen und in wässriger Lösung mit Eisenchlorid eine dunkelviolette Färbung geben (l. c. S. 73).

Auf Grund ihrer Analysen und dieser Reaction betrachten sie diese Säure als Oxymandelsäure und bei dem gleichzeitigen Auftreten von Tyrosin im Harn sind sie der Ansicht, dass sie aus dem letzteren abstamme, entsprechend der Gleichung:



Ob die vermuthliche Oxymandelsäure optisch activ war, haben Schultzen und Riess nicht geprüft.

1) Dessen Inauguraldissertation, Tübingen, 1898.

2) Ber. d. d. chem. Gesellsch., 24^a, 310, 24^b 2897.

3) Ueber acute Phosphorvergiftung und acute Leberatrophie. Annal. d. Charité-Krankenhauses zu Berlin. Bd. 15. Jahrg. 1869.

Wie man sieht, unterscheidet sich die Säure von Schultzen und Riess von der Küster'schen stickstofffreien Säure $C_8H_8O_3$ nur durch ein Minus von 1 Atom Sauerstoff. Wünschenswerth wäre es, zu wissen, ob die Küster'schen Säuren nicht optisch activ resp. racemisch sind; denn es ist auffallend, dass nicht einmal bei der Phosphorvergiftung, sondern nur bei der acuten Leberatrophie, wo mit dem raschen Schwund des Leberparenchyms zahlreiche Blutextravasate auftreten, also jedenfalls Zerstörung des Blutfarbstoffs stattfindet, die Säure $C_8H_8O_4$ im Harn gefunden wurde. Andererseits zeigen die erst kürzlich aus unserem Institute publicirten Untersuchungen, wie in Folge der Leberentfernung der Organismus mit sauren Stoffwechselprodukten überschwemmt wird.