

# Über die nach verschiedenen Methoden hergestellten Hämine, das Dehydrochloridhämin und das Hämatin.

Von  
**William Küster.**

(Aus dem chemischen Laboratorium der tierärztlichen Hochschule zu Stuttgart.)

(Der Redaktion zugegangen am 17. November 1903.)

## Inhaltsverzeichnis.

S. 391—393, Einleitung. — S. 393—397, Besprechung und Ergebnisse der experimentellen Arbeit. — Experimenteller Teil, S. 397—399. A. Darstellung und Umkrystallisation von Acethämin; — S. 399—400, B. von Bromwasserstoffhämin. — S. 401—402, C. I. Darstellung von  $\beta$ -Hämin: a) aus Blut; — S. 402—403, b) aus Blutkörperchen. — S. 403—405, C. II. Umkrystallisation von  $\beta$ -Hämin. — S. 405—406, D. Darstellung von Hämin p. e. — S. 406—408, E. Darstellung von Hämin nach Rosenfeld. — F. Darstellung von Dehydrochloridhämin: S. 408—409, a) aus Acethämin; — S. 410—411, b) aus  $\beta$ -Hämin; — S. 411, c) aus Hämin p. e. — S. 411—413, G. Darstellung von Hämin aus Dehydrochloridhämin. — S. 413—415, H. Darstellung von Dehydrohämatin und Versuch zur Überführung in Hämin. — S. 415—418, I. Darstellung von Hämatin. — S. 418—421, Anhang. Versuche zur Darstellung von Äthern des  $\beta$ -Hämins. — S. 421—422, Bemerkungen zu den analytischen Ergebnissen.

Für das nach verschiedenen Methoden aus Säugetierblut gewonnene Hämin finden sich in den diesbezüglichen Abhandlungen der letzten Jahre nicht weniger als fünf verschiedene empirische Formeln angegeben. Es handelt sich um das mit Hilfe von Amylalkohol extrahierte Hämin p. e.  $C_{32}H_{31}O_3N_4ClFe$  von Nencki und Sieber,<sup>1)</sup> um das Acethämin Schalfejeffs,<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Arch. f. exp. Path. u. Pharmak., Bd. 18, S. 401; Bd. 20, S. 325; Bd. 24, S. 430 (1884—1888).

<sup>2)</sup> Le physiologiste russe Vol. 1, pag. 15, Moscou 1898. Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 18, S. 232 c.

welches durch Einwirkung von Eisessig erhalten wird und dem nach den Analysen von Nencki und Zaleski<sup>1)</sup> die Formel  $C_{34}H_{33}O_4N_4ClFe$  zukommt, drittens um Mörners<sup>2)</sup>  $\beta$ -Hämin  $C_{35}H_{35}O_4N_4ClFe$ , dann um ein von Cloëtta<sup>3)</sup> erhaltenes Präparat  $C_{30}H_{35}O_3N_3ClFe$ , und endlich um ein Produkt, das R. v. Zeynek<sup>4)</sup> aus dem Hämatinschlamm, welcher bei der Verdauung einer 0,2—0,3% Salzsäure haltenden 5%igen Lösung von Oxyhämoglobinkrystallen mittels Pepsin entsteht, durch Aufschwemmen in Aceton und Zusatz von Salzsäure gewann. Die Analysen führten hier zur Aufstellung einer Formel, welche fünf Stickstoffatome enthält, nämlich zu  $C_{34}H_{34}O_4N_5ClFe$ . Eine Bestätigung dieses Befundes ist bisher ebenso ausgeblieben, wie eine Widerlegung desselben; auch ich habe keine Gelegenheit gehabt, das merkwürdige Resultat zu kontrollieren.

Die vorliegende Abhandlung beschäftigt sich dementsprechend mit den drei zuerst aufgeführten Häminen und mit dem von mir schon vor Jahren dargestellten Produkt, welches an Stelle von Chlor Brom enthält; <sup>5)</sup> endlich mit einem Präparat, welches nach der Cloëtta-Rosenfeldschen Methode dargestellt worden ist.

Ich knüpfe einige voranzuschickende Betrachtungen an die jüngst erschienene Abhandlung Zaleskis<sup>6)</sup> über das Mesoporphyrin, dem auf Grund zahlreicher Analysen und Molekulargewichtsbestimmungen im Gegensatz zu früheren Anschauungen<sup>7)</sup> die Formel  $C_{34}H_{38}O_4N_4$  zuerkannt wird.

Entsprechend wird nun dem Hämatoporphyrin, für welches bisher die auch dem Bilirubin zukommende empirische Formel  $C_{16}H_{18}O_3N_2$  in Gebrauch gekommen war, die Formel  $C_{34}H_{38}O_6N_4$  zuerteilt und seine Bildung aus dem Acethämin durch folgende

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXX, S. 394 (1900).

<sup>2)</sup> Nordisk med. Arkiv, Festband 1897, No. 1 u. 27.

<sup>3)</sup> Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 36, S. 352 (1895); vergl. auch Rosenfeld *ibid.*, Bd. 40, S. 137 (1898).

<sup>4)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXX, S. 126 (1900).

<sup>5)</sup> Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 27, S. 577 (1894).

<sup>6)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXXVII, S. 54 (1902).

<sup>7)</sup> Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 34, S. 997 (1901).

Gleichung wiedergegeben:  $C_{34}H_{33}O_4N_4ClFe + 2 HBr + 2 H_2O = C_{34}H_{38}O_6N_4 + FeBr_2 + HCl$ .

Da sich endlich das Hämatoporphyrin glatt aus Nenckis Hämin p. e., sowie aus Mörners  $\beta$ -Hämin bildet, macht Zaleski den Vorschlag, auch für letztere die Formel des Acethämins anzunehmen.

Hiernach wird also das «Acethämin» nicht mehr als acetyliertes Hämin p. e. aufgefaßt — in der Tat läßt sich keine Essigsäure aus diesem Präparat abspalten<sup>1)</sup> —, und das  $\beta$ -Hämin weder als Propionylhämin p. e., noch als Aethylester des «Acethämins»<sup>2)</sup> —; in der Tat enthält das  $\beta$ -Hämin weder eine Alphyloxydgruppe noch den Propion- oder Essigsäurerest, wie ich bereits in meiner vorläufigen Mitteilung erwähnte.<sup>3)</sup>

#### Ergebnisse der experimentellen Arbeit.

In der folgenden Untersuchung bringe ich nun Beweise dafür, daß Acethämin, Hämin p. e. und  $\beta$ -Hämin, sowie das nach Rosenfeld dargestellte Präparat nach ein und derselben Formel  $C_{34}H_{33}O_4N_4ClFe$  zusammengesetzt sind, und so mache ich den Vorschlag, für diese Produkte wieder ein und denselben Namen «Hämin» einzuführen.

Meine Begründung fasse ich in folgende 6 Punkte zusammen:

1. Das durch eine erste Operation aus dem Blut gewonnene Hämin darf nicht unter allen Umständen als ein reines Präparat angesprochen werden, auch dann nicht, wenn der mikroskopische Befund für Einheitlichkeit und Reinheit spricht. Das beweisen die Analysen prächtiger Krystalle von Rohacethämin;<sup>4)</sup> das beweist vor allem die Tatsache, daß beim Auflösen eines solchen Hämins sich — nicht immer, aber gewöhnlich — ein unlöslicher Rückstand, die «carcasse» von Schalfjeff, bildet. Nur die Analysen eines «umkrystallisierten» Hämins können also bei der Aufstellung einer Formel in Betracht

<sup>1)</sup> Nencki-Zaleski, Diese Zeitschrift XXX, S. 396/7 (1900).

<sup>2)</sup> » » » » XXX, S. 403/4 (1900).

<sup>3)</sup> Ber. d. d. chem. Ges., S. 35, Bd. 2951 (1902).

<sup>4)</sup> Im exper. Teil, S. 397/398.

gezogen werden. Dieses «Umkristallisieren» beruht aber auf einer Abspaltung und Wiederanlagerung von Chlorwasserstoff und gelingt mit Hilfe von Pyridin ebenso gut wie mit Chinin oder alkoholischem Ammoniak.<sup>1)</sup>

2. Das Nenckische Hämin p. e., welches mit Hilfe von Amylalkohol gewonnen wird, ist ein nicht «umkristallisiertes» Präparat; die zahlreichen Analysen dieses Produkts, welche zur Aufstellung der Formel  $C_{32}H_{31}O_3N_4ClFe$  führten, zwingen also nicht zur Annahme dieser Formel.<sup>2)</sup>

Auch möchte ich hervorheben, daß mir die Analysen der besten Präparate des Hämins p. e., wenigstens was den Kohlenstoff betrifft, Werte ergeben haben, die fast ausnahmslos mit der Formel  $C_{34}H_{33}O_4N_4ClFe$  übereinstimmen. Sie fordert 62,53% C, gefunden wurden: 62,51; 62,525;<sup>3)</sup> 62,64; 62,46; 62,17; 62,35<sup>0/0</sup><sup>4)</sup> C.

3. Die Analysen des von mir aus chlorfrei gewaschenen Oxyhämoglobinkristallen durch eine Extraktion mit Alkohol und Bromwasserstoff hergestellten «bromwasserstoffsäuren Hämatins» sind natürlich ebenso wenig maßgebend. Ein Präparat ergab doch direkt Werte, welche auf  $C_{34}H_{33}O_3N_4BrFe$  stimmen. Die Analysen eines «umkristallisierten» Produkts sprechen dafür, daß eine Aethylierung eingetreten ist.<sup>5)</sup>

4. Auch das Mörnersche  $\beta$ -Hämin darf als  $C_{34}H_{33}O_4N_4ClFe$  betrachtet werden; denn die vorliegenden Analysen sind mit nicht «umkristallisierten» Präparaten ausgeführt, auch hinterließen meine  $\beta$ -Häminpräparate beim Lösen in Anilin oft bedeutende Rückstände, einmal wurden z. B. 8% nicht gelöst.

<sup>1)</sup> Allerdings einen Übelstand kann das Umkristallisieren mit sich bringen: in alkoholischen Lösungen bildet das Hämin unter dem Einfluß von Mineralsäuren, Äther, wie Nencki und Zaleski gezeigt haben; diese Zeitschrift, Bd. XXX, S. 385 (1900).

<sup>2)</sup> Auch wird schon von Nencki und Zaleski die Formel ihres Diäthylesters des Hämins p. e., nicht von  $C_{32}H_{31}O_3N_4ClFe$ , sondern von  $C_{34}H_{33}O_4N_4ClFe$  abgeleitet. Diese Zeitschrift, Bd. XXX, S. 406/7.

<sup>3)</sup> Habil.-Schrift 1896, pag. 14 u. Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 29, S. 822 (1896).

<sup>4)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXVIII, S. 12 (1899).

<sup>5)</sup> Vergl. Seite 399/400.

Außerdem gaben mir Präparate, welche aus Blutkörperchen, nicht aus Blut, hergestellt waren, und die beim Lösen in Anilin unbedeutende Rückstände (etwa 1%) hinterließen, auf  $C_{34}H_{33}O_4N_4ClFe$  recht gut stimmende Werte. Auch ließ sich das  $\beta$ -Hämin «umkrystallisieren», sowohl mit Hilfe von Chinin wie mit Hilfe von Pyridin, und das erhaltene Produkt zeigte nunmehr auch in der Krystallform Ähnlichkeit mit dem «Acethämin»; allerdings waren die Krystalle erheblich kleiner, viele derselben zu einem Komplex vereint, der Metallglanz nicht so ausgeprägt und prächtig wie beim «Acethämin».

5. Durch Einwirkung von kaltem Anilin auf  $\beta$ -Hämin, auf Hämin p. e. oder auf Acethämin werden amorphe Produkte erhalten, welche um die Elemente des Chlorwasserstoffs ärmer sind. Nach sorgfältigem Auswaschen mit ganz verdünnter Essigsäure und längerer Extraktion mit Äther<sup>1)</sup> erweisen sich nun diese Dehydrochloridhämine, wie ich die Präparate nennen will,<sup>2)</sup> zunächst in ihrer prozentischen Zusammensetzung durchaus als gleich; gleichviel also, ob vom Hämin p. e., vom  $\beta$ -Hämin oder vom Acethämin ausgegangen wurde, erhält man einen Körper von der empirischen Formel  $C_{34}H_{32}O_4N_4Fe$ . Und dieses Dehydrochloridhämin kann wieder in Hämin übergeführt werden. Auf die gleiche Art sogar, welche bei dem «Umkrystallisieren» der Hämine zum Ziele führt.

Dabei wurde aus Dehydrochlorid-« $\beta$ -Hämin» ein Acethämin mit allen Eigenschaften desselben erhalten.

Gerade diese Überführung halte ich für ausschlaggebend, d. h. damit ist der Beweis erbracht, daß es in der Tat nur ein Hämin gibt, und daß die Unterschiede in der Krystallform z. B.,

<sup>1)</sup> Die Extraktion mit Äther ist durchaus nötig, sie nimmt noch etwas Anilin heraus, selbst wenn das Präparat tagelang mit verd. Essigsäure behandelt worden war und Brom im Waschwasser keine Reaktion mehr gab. Die in meiner vorläufigen Mitteilung, Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 35, S. 2952 aufgeführte Analyse von  $\beta$ -Hämin, welche zur Formel  $C_{35}H_{34}O_4N_4Fe$  führte, ist hiernach mit unreinem Material ausgeführt und deshalb nicht maßgebend.

<sup>2)</sup> Um Verwechslungen vorzubeugen, möchte ich diese Bezeichnung statt «Hamein» wählen, welchen Namen ich in der vorläufigen Mitteilung, Ber., Bd. 35, S. 2951 vorgeschlagen habe.

welche an den durch eine erste Operation aus Blut erhaltenen Krystallen beobachtet worden sind, auf äußerliche Bedingungen, z. B. die Art des Lösungsmittels, zurückzuführen sind.

6. Die von mir ausgeführten Analysen des «Hämatin» genannten Körpers, welcher aus dem Hämin durch Einwirkung wässeriger Lösungen von Alkali hervorgeht, weisen in ihrer Gesamtheit auf die Formel  $C_{34}H_{34}O_5N_4Fe$ , welche schon von Hoppe-Seyler aufgestellt worden ist und aus  $C_{34}H_{33}O_4N_4ClFe$  hervorgeht, wenn Chlor durch Hydroxyl ersetzt wird. Allerdings zeigen die Analysen des Hämatins unter sich nicht unbedeutende Differenzen; das dürfte mit der Schwerverbrennlichkeit des Hämatins zusammenhängen;<sup>1)</sup> aber solche Differenzen finden sich bei Präparaten aus allen drei Häminen und die besten Analysen von allen drei weisen übereinstimmend auf obige Formel. Wenn hier und da eine Analyse einen höheren Gehalt an Kohlenstoff ergeben hat, so kann dies daher kommen, daß auch die wässerige Lauge zuerst Chlorwasserstoff abspaltend wirken dürfte, worauf erst eine Anlagerung von Wasser stattfindet. Es ist demnach wohl möglich, daß Hämatinpräparate — ich habe sie immer als Gemische angesprochen — Dehydrohämatin<sup>2)</sup> enthalten und daß sich dann bei der Analyse zuviel Kohlenstoff ergeben muß.

Aber die wässerige Lauge hat noch einen weiteren Einfluß auf das Hämatinmolekül, ihre Wirkung erstreckt sich nicht nur auf den Ersatz von Chlor durch Hydroxyl, sondern auch auf die molekulare Struktur, von welcher Änderung allerdings die prozentische Zusammensetzung nicht betroffen zu werden braucht. Ist es doch nie gelungen, vom Hämatin rückwärts zum Hämin zu gelangen!<sup>3)</sup> Wird nun das Dehydrochlorid-

<sup>1)</sup> Auch damit, daß es ganz außerordentlich schwierig ist, das Chlor wirklich völlig herauszunehmen. Dann spielt das Alkali eine Rolle, wie ich schon früher zeigte; längere Dauer der Einwirkung bei erhöhter Temperatur erniedrigen die Werte für Kohlen- und Wasserstoff.

<sup>2)</sup> Vergl. Seite 413.

<sup>3)</sup> Auch v. Zeynek konnte aus Hämatin, welches aus Hämin nach Schalfejeff hergestellt war — also durch Lösen in NaOH — keine schönen Häminkrystalle mittels Aceton und Salzsäure erhalten, welche Methode bei dem Hämatinschlamm, der sich aus saurer Lösung — bei der Verdauung von Hämoglobin — abgesetzt hatte, zum Ziele führte.

hämin, welches, wie erwähnt, wieder in Hämin übergeführt werden kann, in Lauge gelöst, dann durch eine Säure gefällt, so resultiert ein Körper vom Aussehen des Hämatins, dessen prozentische Zusammensetzung aber völlig dem Dehydrochloridhämin entspricht. Trotzdem ist eine Rückverwandlung in Hämin nicht möglich; bei dahin zielenden Versuchen wurde vielmehr ein undeutlich krystallinisches Produkt erhalten, welches nur die Hälfte der Chlormenge aufweist, welche das Hämin besitzt. Ähnlich wie Natronlauge kann jedenfalls Ammoniak wirken, und das ist die Ursache des Mißlingens so mancher Versuche, Hämin mit Hilfe von weingeistigem Ammoniak umzukrystallisieren.

### Experimenteller Teil.

#### A. Darstellung und „Umkristallisation“ von Acethämin.

1. Der von Schalfejeff-Nencki ausgearbeiteten Methode zur Herstellung von Acethämin habe ich nur hinzuzufügen, daß sie auch auf Kohlenoxydblut mit Erfolg angewendet werden kann. Hierbei wurde einmal ein Produkt in schlechter Ausbeute, 3,5 g aus 2 Liter Blut, erhalten, welches aus sehr kleinen Krystallen bestand und nach erfolgter Umkrystallisation bei der Analyse Werte gab, welche auf ein Kohlenoxydhämin zu deuten schienen. Ein zweiter Versuch ergab aber die typischen Krystalle des Acethämins und auf dessen Formel stimmende Werte.

#### Analysen.

a) Rohacethämin (prächtig ausgebildete Krystalle).

α) 0,2681 Subst., 0,6023 CO<sub>2</sub>, 0,1268 H<sub>2</sub>O, 0,034 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Asche)  
= 61,27 % C, 5,25 % H, 8,8 % Fe;

0,2095 Subst., 0,0445 AgCl, 0,0257 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Carius) = 5,25 % Cl,  
8,59 % Fe;

0,2607 Subst., 0,0582 AgCl, 0,0325 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Carius) = 5,52 % Cl,  
8,72 % Fe;

0,3793 Subst., 23,46 ccm  $\frac{1}{10}$  N.-NH<sub>3</sub> = 0,03284 N (Kjeldahl)  
= 8,66 % N;

0,1606 Subst., 10,5 ccm  $\frac{1}{10}$  N.-NH<sub>3</sub> = 0,0147 N (Kjeldahl)  
= 9,15 % N.

β) 0,1865 Subst., 0,4223 CO<sub>2</sub>, 0,0925 H<sub>2</sub>O, 0,0236 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Asche)  
= 61,76 % C, 5,5 % H, 8,86 % Fe;

0,1274 Subst., 7,9 ccm  $\frac{1}{10}$  N.-NH<sub>3</sub>, 0,01106 N = 8,68 % N  
(Kjeldahl);

0,2030 Subst., 0,048 AgCl, 0,0268 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 5,84 % Cl, 9,24 % Fe,  
(Carius).

## Zusammenstellung.

Acethämin  $C_{34}H_{33}O_4N_4ClFe$ . Gefunden im Rohacethämin.

		$\alpha$		$\beta$		
Berechnet	%	C	62,53	61,27	61,76	
		H	5,06	5,25	5,5	
		N	8,59	8,66	9,15	8,68
		Cl	5,44	5,25	5,52	5,84
		Fe	8,59	8,59	8,72	9,24

2. Das «Umkrystallisieren» erfolgte mit Hilfe von Chinin gelöst in Chloroform oder mit alkoholischem Ammoniak nach der Vorschrift von Nencki-Zaleski.<sup>1)</sup> Die Chininmethode ist vorzuziehen, da sie stets gute Resultate liefert; statt des teuren Chinins kann man aber auch Pyridin verwenden.<sup>2)</sup>

Je 1 g Rohacethämin werden mit 5 ccm Pyridin und 40 ccm Chloroform 15 Minuten geschüttelt, die filtrierte Lösung in 150 ccm mit Kochsalz gesättigten Eisessig, welcher auf 105° erhitzt und dann mit 0,5 ccm konz. HCl versetzt ist, eingetragen. Die nach 24 Stunden abgesetzten Kristalle werden filtriert und mit verdünnter salzsäurehaltiger Essigsäure nachgewaschen. Ausbeute 0,8 g.

Das Trocknen erfolgte zunächst auf Fließpapier, dann im Vacuum über  $H_2SO_4$  und KOH.

b) Umkrystallisiertes Acethämin.

a) Mit Hilfe von Chinin und Chloroform umkryst. Präparat.  
0,1888 Subst., 0,0444 AgCl, 0,0235  $Fe_2O_3$  = 5,81 % Cl, 8,71 % Fe (Carius);

0,225 Subst., 0,0468 AgCl, 0,0278  $Fe_2O_3$  = 5,13 % Cl, 8,65 % Fe (Carius);

0,105 Subst., 6,37  $\frac{1}{10}$  N.- $NH_3$ , 0,08918 N = 8,5 % N;

0,1859 Subst., 0,0228  $Fe_2O_3$  = 8,58 % Fe (Carius);

0,155 Subst., 0,3540  $CO_2$ , 0,0745  $H_2O$ , 0,0202  $Fe_2O_3$  = 62,29 % C, 5,34 % H, 9,1 % Fe (Asche).

$\beta$ ) Ein Präparat, welches teils mit Hilfe von Chininchloroform, teils mit Hilfe von alkoholischem Ammoniak umkrystallisiert worden war.

0,3245 Subst. (120°), 0,0680 AgCl u. 0,0414  $Fe_2O_3$  = 5,18 % Cl u. 8,93 % Fe (Carius);

0,1715 Subst. (110°), 13 ccm N, 7°, 732,5 B. = 8,68 % N;

0,1327 Subst. (110°), 9,8 ccm N, 7°, 724,5 B. = 8,62 % N;

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXX, S. 391.

<sup>2)</sup> Mit Chinolin waren die Resultate unbefriedigend.

0,2063 Subst. (110°), 0,4726 CO<sub>2</sub>, 0,0945 H<sub>2</sub>O = 62,48 % C  
u. 5,09 % H.

γ) Mit Hilfe von Pyridin u. Chloroform umkrystallisiertes Präparat.  
0,2114 Subst. (110°), 0,4825 CO<sub>2</sub>, 0,0978 H<sub>2</sub>O = 62,25 % C  
u. 5,14 % H;

0,1719 Subst. (110°), 13,7 ccm N, 16°, 737,5 B. = 9,0 % N;  
0,300 Subst. (120°), 0,0662 AgCl, 0,0371 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 5,45 % Cl  
u. 8,66 % Fe (Carius).

Zusammenstellung.

Acethämin C<sub>34</sub>H<sub>33</sub>O<sub>4</sub>N<sub>4</sub>Cl Fe. Gefunden im umkryst. Acethämin.

		α	β	γ		
Berechnet %	C	62,53	62,29	62,48	62,25	
	H	5,06	5,34	5,09	5,14	
	N	8,59	8,5	8,68	8,62	9,00
	Cl	5,44	5,81	5,13	5,18	5,45
	Fe	8,59	8,71	8,65	8,93	8,66
			8,58			

Anhang.

1. Präparat aus Kohlenoxydblut (umkrystallisiert).

0,1432 Subst. (110°), 0,3293 CO<sub>2</sub>, 0,0629 H<sub>2</sub>O.

2. Präparat, ebenfalls umkrystallisiert.

0,1548 Subst. (110°), 0,3525 CO<sub>2</sub>, 0,0708 H<sub>2</sub>O.

Kohlenoxydacethämin C<sub>35</sub>H<sub>33</sub>O<sub>5</sub>N<sub>4</sub>Cl Fe. Gefunden

		1.	2.	
Berechnet %	C	63,19	62,72	62,16
	% H	4,85	4,88	5,08

**B. Darstellung und Umkrystallisation von Bromwasserstoffhämin.**

Die äußerst mühevoll Darstellung dieses Präparats<sup>1)</sup> wurde nicht wiederholt, die Analysen des Rohprodukts stammen aus den Jahren 1893 und 1894 und sind noch nicht veröffentlicht worden. Die Umkrystallisation gelang durch Lösen von 1 g in 2 ccm Pyridin und 20 ccm Chloroform, was äußerst glatt und rasch vor sich ging, so daß kurzes Schütteln mit der Hand genügte. Die filtrierte Lösung wurde in 100 ccm abs. Alkohols geträufelt, welcher auf 70° erwärmt und dann mit 2,5 ccm gesättigter Bromwasserstoffsäure versetzt worden war. Ausbeute aus 3,8 g Rohprodukt 2,55 umkrystallisiertes Hämin.<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 27, S. 577 (1894).

<sup>2)</sup> Die Lösung des Hämins wurde bei einem ersten Versuche in mit Bromkalium gesättigten Eisessig eingetragen, der auf 105° erhitzt und dann mit ein wenig Bromwasserstoffsäure ersetzt worden war; eine Ausscheidung von Krystallen wurde aber nach dem Erkalten nicht beobachtet.

## Analysen.

## A. Rohprodukt.

## 1. Präparat.

Aus 800 g zweimal umkryst. Oxyhämoglobin vom Pferd waren 3,5 g Hämin erhalten worden.

1. 0,2206 Subst., 0,4735 CO<sub>2</sub>, 0,1038 H<sub>2</sub>O, 0,0253 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 58,54% C, 5,33 % H u. 8,03 % Fe;
2. 0,5693 Subst., 0,1480 AgBr, 0,0663 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 11,08 % Br u. 8,15 % Fe (Carius);
3. 0,3568 Subst., 0,7659 CO<sub>2</sub>, 0,1692 H<sub>2</sub>O = 58,54 % C u. 5,27 % H.

## 2. Präparat.

1. 0,1831 Subst., 0,3830 CO<sub>2</sub>, 0,0951 H<sub>2</sub>O, 0,0215 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 57,48 % C, 5,77 % H u. 8,22 % Fe;
2. 0,4737 Subst., 0,1263 AgBr, 0,0555 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 11,37 % Br u. 8,2 % Fe (Carius).

## 3. Präparat.

1. 0,1661 Subst. (i. Vac.), 0,3297 CO<sub>2</sub>, 0,0755 H<sub>2</sub>O = 57,6 % C u. 5,37 % H;
2. 0,2922 Subst. (i. Vac.), 0,6180 CO<sub>2</sub>, 0,1366 H<sub>2</sub>O = 57,68 % C u. 5,19 % H;
3. 0,3183 Subst. (i. Vac.), 0,0827 AgBr, 0,377 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 11,1 % Br u. 8,29 % Fe (Carius).

## Zusammenstellung.

Bromwasserstoffhämin	Gefunden						
C <sub>34</sub> H <sub>33</sub> O <sub>4</sub> N <sub>4</sub> BrFe.	1.		2.		3.		
Berechnet % C	58,53	58,54	58,54	57,48	—	57,60	57,68
H	4,74	5,33	5,27	5,77	—	5,37	5,19
N	8,03	—	—	—	—	—	—
Br	11,48	—	11,08	—	11,37	—	11,1
Fe	8,03	8,03	8,15	8,22	8,2	—	8,29

## Analysen.

## B. Umkrystallisiertes Präparat.

1. 0,2155 Subst., (120°), 0,4710 CO<sub>2</sub>, 0,1022 H<sub>2</sub>O, 0,0226 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 59,6% C, 5,27 % H, 7,4 % Fe (Asche);
2. 0,1222 Subst., (120°), 8,4 ccm N 19°, 740 mm B. = 7,69 % N;
3. 0,2636 Subst., (120°), 0,0666 AgBr, 0,0295 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 10,75% Br u. 7,83 % Fe (Carius).

Aus diesen Analysen ergibt sich, daß sich der Äthyläther gebildet hat, auch war das Präparat nicht mehr in kalten Alkalien löslich.

C <sub>34</sub> H <sub>33</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> O <sub>4</sub> N <sub>4</sub> BrFe = C <sub>36</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub> N <sub>4</sub> BrFe.	Gefunden		
Berechnet % C	1.	2.	3.
C	59,59	59,6	—
H	5,14	5,27	—
N	7,72	—	7,69
Br	11,04	—	10,75
Fe	7,72	7,4	7,83

C. I. Darstellung von  $\beta$ -Hämin.

a) Aus Blut.

Der von Mörner<sup>1)</sup> gegebenen und auch von mir<sup>2)</sup> in dieser Zeitschrift beschriebenen Methode zur Herstellung von  $\beta$ -Hämin habe ich nur anzufügen, daß an Stelle von Salzsäure auch Chlorammonium gewählt werden kann.

Der alkoholische Extrakt, welcher das Hämatin aus 1,7 l Blut enthielt, wurde siedend mit einer Lösung von 5 g Chlorammonium in heißem Weingeist versetzt. Nach drei Tagen wurde der reichliche Ausfall abfiltriert und mit verdünnter kalter Salzsäure behandelt, darauf chlorfrei gewaschen. — Die Asche des  $\beta$ -Hämins habe ich stets phosphorsäurehaltig gefunden.

Analysen.

Präparat A aus dem Blute eines Rindes erhalten<sup>3)</sup>.

0,6073	Subst.,	1,396	CO <sub>2</sub> ,	0,2450	H <sub>2</sub> O =	62,69	% C u.	4,48	% H (?)	
0,2223	»	0,5122,	0,1125,	62,88	% C u.	5,42	% H;			
0,2651	»	20 ccm	N,	11°	732 mm	B =	8,65	% N;		
0,2839	»	18 ccm	$\frac{1}{10}$ N.-NH <sub>3</sub>	=	0,0252	N =	8,88	% N;		
0,2598	»	0,055	AgCl	0,0293	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	=	4,81	% Cl u.	7,92	% Fe;
0,3012	»	0,0584	»	=	4,86	% Cl;				
0,5037	»	0,1025	»	=	4,98	% Cl.				

Präparat B aus dem Blute mehrerer Rinder.

0,2761	Subst.,	0,6343	CO <sub>2</sub> ,	0,1368	H <sub>2</sub> O =	62,64	% C u.	5,50	% H;	
0,2778	»	20,5 ccm	N,	11°,	734 B.	=	8,49	% N;		
0,2367	»	14,5	» $\frac{1}{10}$ N.-NH <sub>3</sub> ,	0,0202	N =	8,53	% N;			
0,3245	»	19,0	» $\frac{1}{10}$	»	0,0266	» =	8,19	% »		
0,2731	»	0,0561	AgCl =	5,05	% Cl;					
0,2659	»	0,0538	»	0,0304	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	=	4,96	% Cl u.	8,0	% Fe.

Präparat C aus dem Blut eines Pferdes.

0,1881	Subst.,	0,4332	CO <sub>2</sub> ,	0,0874	H <sub>2</sub> O =	62,81	% C u.	5,22	% H;
0,2778	»	21 ccm	N,	10°,	733,5 B.	=	8,7	% N.	

Präparat D mit Hilfe von Chlorammonium gewonnen

0,2296	Subst.,	(110°)	0,5305	CO <sub>2</sub> ,	0,1295	H <sub>2</sub> O,	0,0303	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>			
					=	63,01	% C,	6,10	% H,	9,23	% Fe.
0,3598	»	(110°)	26,8 ccm,	737 B.	22,8°	C =	8,37	% N			
0,4343	»	(105°)	0,0845	AgCl =	4,81	% Cl.					

<sup>1)</sup> Nordisk med. Ark., Festband 1897 No. 1 u. 27.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXIX, S. 187.

<sup>3)</sup> Die Analysen der Präparate A, B u. C verdanke ich Herrn Apotheker Dr. Strobel.

## Zusammenfassung.

Berechnet $C_{34}H_{33}O_4N_4ClFe.$	Gefunden			
	A.	B.	C.	D.
% C 62,53	62,69	62,88	62,64	62,81
% H 5,06	—	5,42	5,50	5,22
% N 8,59	8,65 (D.)	8,88 (Kj.)	8,49 (D.)	8,53, 8,19 (Kj.)
% Cl 5,44	4,81	4,86	4,98 (C.)	5,05
% Fe 8,59	7,92	8,0	4,96	8,70 (D.)
			8,0	8,37 (D.)
				4,81 (C.)
				9,23 (Asche).

## b) Aus Blutkörperchen vom Pferde.

Die abgesetzten Blutkörperchen werden in der dreifachen Menge Wasser gelöst, die Koagulation, das Abpressen etc. wie üblich vorgenommen, dann wurde die einem Liter Blutkörperchen, also fast zwei Liter Blut entsprechende Menge mit 1750 ccm 90 %igen Alkohols und 40 ccm eines Gemisches, aus gleichen Volumteilen konz. Schwefelsäure und 90 %igem Alkohol vorher bereitet, versetzt, eine Stunde unter Umrühren digeriert, filtriert und der Filtrerrückstand sehr scharf abgepreßt. Die einem Liter Blutkörperchen entsprechende Menge des alkoholischen Auszugs wurde dann zum lebhaften Sieden erhitzt, worauf 10 ccm Salzsäure von spez. Gewicht 1,125 eingetragen wurden.

Ausbeute: fast 6 g Hämin pro Liter Blutkörperchen. Die angegebene Modifikation bedeutet demnach eine ganz beträchtliche Ersparnis an Alkohol.

## c) Aus Blutkörperchen vom Rinde.

Rinderblut zu verwenden ist natürlich weniger günstig, da ja die Körperchen erst durch Ausschleudern abgetrennt werden müssen. Die hier obwaltenden Verhältnisse möge folgender Versuch veranschaulichen:

Vier Liter Blutkörperchen wurden mit zwölf Liter Wasser verkocht, der abgepreßte Blutkuchen wog 2460 g. Diese wurden in vier Portionen mit je 1800 ccm 90 %igen Alkohols und 40 ccm des Gemisches aus gleichen Volumteilen konz. Schwefelsäure und 90 %igen Alkohols versetzt. Nach eineinhalbstündiger Einwirkung bei niederer Temperatur wurde filtriert und abgepreßt. Der Extrakt in vier Portionen mit je 10 ccm Salzsäure (1,125 spez. Gewicht) siedend versetzt. Ausbeute: 20,4 g getrocknetes Hämin, also 5,1 g pro Liter Blutkörperchen.

Analysen von  $\beta$ -Hämin aus Blutkörperchen.

Präparat A aus Blutkörperchen vom Pferd, im Vacuum über Schwefelsäure neben Kaliumhydroxyd eine Woche getrocknet.

0,2200 Subst. 0,5055  $\text{CO}_2$ , 0,105  $\text{H}_2\text{O}$ , 0,0281  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  = 62,66% C, 5,3% H, 8,94% Fe;

0,1877 » (110°), 0,4298  $\text{CO}_2$ , 0,0865  $\text{H}_2\text{O}$ , 0,024  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  = 62,45% C, 5,12% H, 8,95% Fe<sup>1)</sup>;

0,1367 » 10,5 ccm N, 10°, 729 mm = 8,82% N;

0,1455 » 8,5 »  $\frac{1}{10}$  N.- $\text{NH}_3$  = 0,119 N = 8,2% N;

0,173 » 0,021  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ , 0,038 AgCl = 8,5% Fe u. 5,43% Cl;

0,2207 » (110°), 0,5029  $\text{CO}_2$ , 0,1032  $\text{H}_2\text{O}$  = 62,2% C » 5,19% H.

Präparat B, aus Rindsblutkörperchen.

0,2422 Subst. (110°), 0,5535  $\text{CO}_2$ , 0,1150  $\text{H}_2\text{O}$  = 62,33% C u. 5,28% H.

Präparat C, B mit Äther extrahiert.

0,2351 Subst. (110°), 0,5380  $\text{CO}_2$ , 0,1092  $\text{H}_2\text{O}$  = 62,41% C u. 5,16% H = 8,47% Fe;

0,3769 » (100°), 0,0456  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ , = 8,74% Fe durch Einäschern, Lösen in HCl und Fällen. Die Asche enthielt deutliche Mengen von Phosphorsäure.

0,271 » (110°), 0,0566 AgCl, 0,0343  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  = 5,17% Cl u. 8,86% Fe.

Präparat D (sehr lange mit Salzsäure ausgewaschen).

0,2215 Subst. (110°), 0,0461 AgCl, 0,0278  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  = 5,13% Cl u. 8,79% Fe.

0,195 » (110°), 0,4445  $\text{CO}_2$ , 0,0917  $\text{H}_2\text{O}$ , 0,0238  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  = 62,17% C 5,22% H, 8,56% Fe.

Zusammenstellung.

Berechnet für:

$\text{C}_{34}\text{H}_{33}\text{O}_4\text{N}_4\text{ClFe}$	A		B		C		D			
% C	62,53	62,66	—	62,2	62,45	62,33	62,41	—	62,17	—
% H	5,06	5,3	—	5,19	5,12	5,28	5,16	—	5,22	—
% N	8,59	8,82	8,2	—	—	—	—	—	—	—
% Cl	5,44	—	5,43	—	—	—	—	5,17	—	5,13
% Fe	8,59	8,94	8,5	—	8,95	—	8,47	8,86	8,56	8,79

C. 2. Umkrystallisation von  $\beta$ -Hämin.

Wie ich bereits in der vorläufigen Mitteilung erwähnte, ist es nicht möglich gewesen, das  $\beta$ -Hämin mit Hilfe alkoholischen Ammoniaks nach der von Nencki-Zalesky gegebenen Vorschrift umzukrystallisieren. Man erhält entweder gar keinen oder einen unbedeutenden und dazu undeutlich krystallinischen Ausfall.

<sup>1)</sup> Diese Substanz war mit Äther extrahiert worden.

Bessere Resultate wurden mit folgendem Verfahren erhalten:

a) 2 g Hämin aus Blut, 2 g Chinin und 50 ccm Chloroform wurden 10 Min. geschüttelt, vom geringen Rückstand filtriert. Das Filtrat wurde in 300 ccm Eisessig, der Kochsalz aufgelöst enthielt und auf  $110^{\circ}$  erhitzt war, eingetragen.

Bis zum nächsten Tage hatte sich ein allerdings undeutlich kristallisiertes Produkt abgeschieden, in einer Menge von 1,5 g.

b) 1 g Hämin aus Blutkörperchen vom Rinde analog behandelt. Ausbeute 0,6 g.

c) 2 g Hämin aus Blut, 5 ccm Pyridin, 25 ccm Chloroform, sonst analog. Ausbeute 1,5 g sehr kleine Kristalle.

d) 4 g Hämin aus Pferdeblutkörperchen wurden mit einer Mischung aus 40 ccm Pyridin und 200 ccm Chloroform 15 Min. geschüttelt und filtriert. Das Hämin hatte sich bis auf einen geringen Rest gelöst. Das Filtrat wurde in 600 ccm Eisessig eingetragen, welcher über Kochsalz gestanden hatte und auf  $105^{\circ}$  erhitzt worden war. Kurz vor dem Eingießen waren dem Eisessig noch 2 ccm konzentrierte Salzsäure beigemischt worden. Beim langsamen Abkühlen bildeten sich schon nach kurzer Zeit Krystalle, nach 24 Std. wurden sie filtriert, mit ganz verdünnter Salzsäure nachgewaschen, dann abgesaugt auf Fließpapier, schließlich im Vacuum neben KOH getrocknet. Ausbeute: 2,9 g kleine, aber deutliche Kristalle, in der Form dem Acet-hämin ähnlich.

#### Analysen.

- a) 0,2643 Subst. ( $110^{\circ}$ ) 0,0600 AgCl, 0,0327  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  = 5,61 % Cl u. 8,66 % Fe  
(Carius)
- b) 0,2427 » ( $110^{\circ}$ ) 0,555  $\text{CO}_2$ , 0,1103  $\text{H}_2\text{O}$  = 62,37 % C u. 5,05 % H  
0,2380 » ( $110^{\circ}$ ) 0,0515 AgCl, 0,0300  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  = 5,35 % Cl u. 8,82 % Fe  
(Carius)
- c) 0,2328 » ( $110^{\circ}$ ) 0,0530 AgCl, 0,0294  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  = 5,62 % Cl u. 8,84 % Fe  
(Carius)
- d) 0,1908 » ( $110^{\circ}$ ) 0,4354  $\text{CO}_2$ , 0,0909  $\text{H}_2\text{O}$ , 0,0231  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  = 62,2 % C,  
5,29 % H 8,48 % Fe (Asche)
- 0,1956 » ( $110^{\circ}$ ) 0,0433 AgCl, 0,0245  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  = 5,47 % Cl u. 8,77 % Fe  
(Carius).

Zusammenstellung

der Analysen von umkrystallisiertem  $\beta$ -Hämin =

$C_{34}H_{33}O_4N_4ClFe$	a	b	c	d
Berechnet	% C 62,53	62,37	—	62,2
	% H 5,06	5,05	—	5,29
	% N 8,59	—	—	—
	% Cl 5,44	5,61	5,35	5,62
	% Fe 8,59	8,66	8,82	8,84
	} C		} C	
	}		}	
	}		}	
	}		}	

D. 1. Darstellung von Hämin p. e.

Die Darstellung von Hämin unter Verwendung von Amylalkohol wurde nicht wiederholt, ich gebe hier die Analyse eines Rohproduktes aus Ochsenblut, welche 1892 ausgeführt wurde und noch nicht veröffentlicht ist. Sie stimmt merkwürdig genau auf Acethämin, der Wasserstoff ausgenommen.

Analysen.

0,1910 Subst. (135°), 0,4389 CO<sub>2</sub>, 0,0996 H<sub>2</sub>O, 0,0225 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 62,67% C, 5,79% H, 8,25% Fe (Asche);

0,2035 » (135°), 0,4658 CO<sub>2</sub>, 0,1090 H<sub>2</sub>O = 62,43% C, u. 5,95% H;

0,1978 » (135°), 15,4 ccm N, 736 mm B., 18,5° = 8,68% N;

0,1350 » 10,2, 737,5 18 = 8,58 N.

Berechnet  $C_{34}H_{33}O_4N_4Fe Cl$ .

	Berechnet	Gefunden		
% C	62,53	62,67	62,43	—
% H	5,06	5,79	5,95	—
% N	8,59	—	—	8,68
% Cl	5,44	—	—	—
% Fe	8,59	8,25	—	—

D. 2.

Eine Methode zur Umkrystallisation von Hämin p. e. auszuarbeiten, ist mir wegen Mangels an Material nicht geglückt. Es wurde einmal 1 g eines Präparates, dessen Analyse ergeben hatte: 62,46% C, 5,83% H, 9,08% N, 4,62% Cl und 8,76% Fl (diese Zeitschrift, Bd. XXVIII, S. 12, Nr. III) in 4 ccm Pyridin und 50 ccm Chloroform durch Schütteln gelöst, dann filtriert, wobei die carcasse Schalfejeffs zurückblieben, das Filtrat in 150 ccm Eisessig, der Chlornatrium enthielt, auf 103° erhitzt war und dem dann 1 ccm konzentrierte HCl zugefügt worden war, eingetragen. Nach mehreren Tagen hatte sich ein Ausfall im Gewichte von 0,75 g gebildet, der aber ganz undeutlich

kristallisiert war. Die Analyse ergab auch, daß kein reines Hämin vorlag:

- |    |        |                |        |                   |        |                                |        |                                |
|----|--------|----------------|--------|-------------------|--------|--------------------------------|--------|--------------------------------|
| 1. | 0,1923 | Subst. (110°), | 0,4508 | CO <sub>2</sub> , | 0,0912 | H <sub>2</sub> O,              | 0,0242 | Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> |
|    |        |                | =      | 63,93             | % C,   | 5,26                           | % H,   | 8,81                           |
|    |        |                |        |                   |        |                                |        | Fe;                            |
| 2. | 0,1752 | > (110°),      | 0,215  | AgCl,             | 0,0227 | Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | =      | 3,04                           |
|    |        |                |        |                   |        |                                |        | % Cl                           |
|    |        |                |        |                   |        |                                |        | u. 9,07                        |
|    |        |                |        |                   |        |                                |        | % Fe (Carius).                 |

### E. 1. Darstellung von Hämin nach Rosenfeld.

3,8 l Rinderblut wurden im ganzen verarbeitet; nach Vorschrift<sup>1)</sup> wurden sie ausgeschleudert, nachdem mit dem dreifachen Volumen 2%iger Glaubersalzlösung verdünnt worden war, die Blutkörperchen wurden darauf durch 96%igen Alkohol koaguliert, dann wurde die Masse auf ein Filter gebracht und darauf gelassen, bis der Alkohol abgelaufen war, dann abgepreßt und gemahlen; erhalten wurden 1290 g Blutkuchen mit 35,9% festen Bestandteilen.<sup>2)</sup> Von der nun fein zerriebenen Masse wurden je 340 g entsprechend 1 l Blut mit 17,50 ccm 96%igen Alkohols angerieben und bei niedriger Temperatur 78 ccm alkoholische Oxalsäurelösung = 28 g Oxalsäure<sup>3)</sup> hinzugefügt. Der Farbstoff geht hierbei gut in Lösung; nach einstündigem Digerieren wurde filtriert, der Filtrückstand scharf ausgepreßt. Das gesamte Filtrat betrug 6400 ccm, es blieb 24 Std. stehen, ohne daß sich ein Absatz gebildet hatte. Dann wurde es in 4 Portionen mit je 7,6 ccm 25%iger Salzsäure, denen 5 ccm absoluter Alkohol vorher beigemischt waren, in der Kälte versetzt.<sup>4)</sup> Hierbei bildet sich sofort ein Niederschlag; so ist es verständlich, daß das Hämin auch unter dem Mikroskop als aus braunen Flocken bestehend erscheint, es macht einen einheitlichen Eindruck, ist aber nicht kristallinisch. Nur kleine Mengen, welche sich innerhalb der nächsten 24 Std. an einem

<sup>1)</sup> Archiv f. exp. Path. u. Pharmak., Bd. 40, S. 142/143 (1893).

<sup>2)</sup> 3,409 g hinterließen nach dem Trocknen bei 110° 1,223 g Rückstand.

<sup>3)</sup> Die Lösung stand bereits vier Tage, enthielt also Oxalsäureester.

<sup>4)</sup> Pro Liter Blut also 8 ccm 25%ige Salzsäure; die Mengen sind nach Mörners Angaben berechnet; Rosenfeld gibt für die Verarbeitung des Blutkuchens die Mengen des Alkohols, der Oxalsäure und der Salzsäure nicht in Zahlen an.

in der Flüssigkeit befindlichen Glasstabe abgesetzt hatten, waren deutlich kristallisiert. Der Niederschlag wurde auf einem Filter gesammelt, mit 1% Salzsäure haltendem Weingeist nachgewaschen, dann wie üblich getrocknet. Die Ausbeute betrug etwa 10 g.

Analysen.

- 0,1431 Subst. (120°), 0,3301 CO<sub>2</sub>, 0,065 H<sub>2</sub>O, 0,0179 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 62,91% C, 5,05% H, 8,75% Fe (Asche);  
 0,1014 » (110°), 7,6 ccm N, 731 mm B. 14° = 8,46% N<sup>1)</sup>;  
 0,2412 » (90°), 18,5 » » 736 » » 15° = 8,69% »<sup>1)</sup>  
 0,3225 » (105°), 0,0635 AgCl (durch zweimaliges Lösen in reiner KOH, = 4,87% Cl Fälln. des Ht. durch HNO<sub>3</sub> u. Fällung des Filtrats durch AgNO<sub>3</sub>).<sup>2)</sup>  
 0,355 Subst. = 0,0775 AgCl u. 0,0432 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 5,39% Cl u. 8,5% Fe (Carius)<sup>1)</sup>

Zusammenstellung.

Berechnet für C <sub>34</sub> H <sub>33</sub> O <sub>4</sub> N <sub>4</sub> ClFe	Gefunden	
% C 62,53	62,91	
% H 5,06	5,05	
% N 8,59	8,46	8,69
% Cl 5,44	4,87	— 5,39
% Fe 8,59	8,75	— 8,5

Die Analysen dieses Rohproduktes stimmen also im Gegensatz zu den von Rosenfeld ausgeführten auf die Formel des «Acethämins», namentlich was den Stickstoff betrifft. Daß Rosenfeld nur 7,64% Stickstoff im Mittel fand, liegt an der Methode;<sup>3)</sup> er hat die Bestimmungen nach Kjeldahl ausgeführt; dagegen bleibt mir unerklärlich, daß sich ein Eisengehalt von im Mittel 9,72% ergeben hat.

E. 2. Umkristallisation von Hämin nach Rosenfeld.

1 g Hämin, 1 g Chinin und 25 ccm Chloroform wurden 5 Min. lang geschüttelt, darauf die fast klare Lösung filtriert, es hinterblieben nur geringe Reste. Das Filtrat wurde in 120 ccm mit Kochsalz gesättigten Eisessigs von 104° eingetragen, dem kurz vorher 0,5 ccm konzentrierte Salzsäure zu-

<sup>1)</sup> Diese Analysen verdanke ich Herrn Apotheker Haas in Tübingen.

<sup>2)</sup> Die Analyse wurde im chem. Laboratorium der tierärztlichen Hochschule zu Stuttgart ausgeführt, in welchem leider eine Bestimmung nach Carius einstweilen unmöglich ist; die Methode macht wahrscheinlich, daß zu wenig Chlor gefunden wurde.

<sup>3)</sup> Vergl. die Bemerkung auf S. 421.

gesetzt worden waren. Nach Verlauf mehrerer Tage hatte sich erst ein Absatz von Hämin eingestellt, der wie üblich gereinigt und getrocknet wurde.

Analysen.<sup>1)</sup>

1. 0,337 Subst. 0,0683 AgCl und 0,0419 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Carius)  
 = 5,01% Cl > 8,7% Fe.  
 2. 0,0902 Subst., 6,8 ccm N. 14° 730 mm B. = 8,5% N.  
 Berechnet für C<sub>34</sub>H<sub>33</sub>O<sub>4</sub>N<sub>4</sub>ClFe

	Gefunden	
	1.	2.
% Cl	5,01	
% Fe	8,7	
% N		8,5

F. 1. Darstellung von Dehydrochloridhämin aus Acethämin.

5 g umkristallisiertes Acethämin werden mit 110 g Anilin 2 Stunden geschüttelt, worauf filtriert und mit Anilin nachgewaschen wird. Der Rückstand pflegt minimal zu sein, wenn die angegebenen Mengen eingehalten werden.<sup>2)</sup>

Die Lösung wird nun ganz langsam und unter stetem Rühren in etwa 2 l 20%iger Essigsäure eingetropft, wobei sich das Reaktionsprodukt als anfangs harzige, nach ein paar Tagen krümlig werdende schwarze Masse absetzt. Sie wird auf einem Filter gesammelt, in der Reibschale mit verdünnter Essigsäure zerrieben, wieder auf ein Filter gebracht und nun so lange mit verdünnter Essigsäure ausgewaschen, bis im Filtrat Brom keine Trübung mehr hervorruft. Aber auch dann hält das Dehydrochloridhämin noch Anilin zurück, wie aus den angeführten Analysen der Präparate A hervorgeht: man muß das Präparat nach dem Trocknen — erst auf Fließpapier, dann im Vacuum — noch 2—3 Tage mit Äther extrahieren, bis der Rückstand, welchen der Äther immer, wenn auch in geringer Menge hinterläßt, an verdünnte Essigsäure Anilin nicht mehr abgibt. Jetzt stellt das Präparat eine grauschwarze amorphe Masse dar, welche sich leicht in Alkalien, Ammoniak, Soda-lösung und Eisessig auflöst, schwer löslich ist in Äther und Chloroform, nicht löslich ist in Alkohol oder Aceton, auch nicht in verdünnter Salz-, Schwefel-, Phosphorsäure, hier aber auf Zusatz

<sup>1)</sup> Von Herrn Haas in Tübingen ausgeführt.

<sup>2)</sup> Bei Verwendung von Rohacethämin bleiben auch hierbei die «carcasse» Schalfefejeffs zurück.

von Aceton sofort in Lösung gehend; durch konzentrierten Bromwasserstoff bildet sich Hämatoporphyrin.

Bei der Analyse zeigte sich nun, daß das Chlor des Hämins durch die Einwirkung des Anilins doch nicht immer vollständig herausgenommen worden war — ähnliche Erfahrungen macht man ja bei der Darstellung des Hämatins.

Meine Dehydrochlorid-Häminpräparate enthielten Spuren bis zu 0,5% Chlor; durch eine Wiederholung des Lösens in kaltem Anilin konnte solcher Gehalt herabgedrückt werden, nur war es recht umständlich das fertige Dehydrochlorid-Häminpräparat in Anilin vollständig zu lösen.

Analysen.

Präparat A (nicht mit Äther extrahiert).

0,1946 Subst. (110°), 0,4741 CO<sub>2</sub>, 0,0905 H<sub>2</sub>O, 0,0243 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 66,44% C  
 5,17% H, 8,74% Fe (Asche);  
 0,244 » (110°), 0,0033 AgCl, 0,0308 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 0,33% Cl, 8,9% Fe,  
 (Carius).

Präparat A<sub>2</sub>.

0,179 Subst. (125°), 0,4378 CO<sub>2</sub>, 0,082 H<sub>2</sub>O, 0,0218 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 66,7% C,  
 5,03% H, 8,5% Fe (Asche);  
 0,1605 » » 0,390 CO<sub>2</sub>, 0,0765 H<sub>2</sub>O, 0,0201 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 66,27% C.,  
 5,29% H, 8,77% Fe (Asche);  
 0,0935 » » 6,1 ccm <sup>1</sup>/<sub>10</sub> N.-NH<sub>3</sub> = 0,00854 g N = 9,13% N;  
 0,1963 » » 0,0045 AgCl, 0,026 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 0,57% Cl, 9,27% Fe  
 (Carius).

Präparat A<sub>3</sub>. (A<sub>2</sub> nochmals mit Anilin behandelt.)

0,1989 (i. V.), 0,0013 AgCl, 0,0247 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 0,16% Cl, 8,7% Fe (Carius);

Präparat B. (A mit Äther extrahiert.)

0,1787 Subst. (110°), 0,4283 CO<sub>2</sub>, 0,0855 H<sub>2</sub>O = 65,4% C, 5,31% H.

Präparat C. (B auch noch mit Aceton extrahiert.)

0,2125 Subst. (115°), 0,513 CO<sub>2</sub>, 0,0997 H<sub>2</sub>O, 0,0265 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 65,84% C,  
 5,21% H, 8,7% Fe (Asche);

0,0955 » = 7,5 ccm N, 739 mm B., 14° = 8,98% N.

Zusammenstellung der Analysen von Dehydrochlorid-Häminpräparaten  
 aus Acethämin.

Berechnet für:	Gefunden									
	C <sub>34</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub> N <sub>4</sub> Fe	A <sub>1</sub>		A <sub>2</sub>		A <sub>3</sub>	B	C		
% C	66,23	66,44	—	66,7	66,27	—	—	65,4	65,84	—
% H	5,19	5,17	—	5,3	5,29	—	—	5,31	5,21	—
% N	9,09	—	—	—	9,13(Kj)	—	—	—	—	8,98 (D)
% Fe	9,09	8,74	8,9	8,5	8,77	9,27	8,7	—	8,7	—
% Cl	0,00	—	0,33	—	—	0,57	0,16	—	—	—

F. 2. Darstellung von Dehydrochloridhämmin aus  $\beta$ -Hämmin.

Die Darstellung von Dehydrochloridhämmin aus  $\beta$ -Hämmin gestaltet sich ganz analog der aus Acethämmin.  $\beta$ -Hämmin, welches aus Blut hergestellt worden ist, hinterläßt beim Lösen in Anilin etwa 8% Rückstand, solches aus Blutkörperchen dagegen höchstens 1%. Ausbeute ca. 4 g aus 5 g Hämmin. Die Eigenschaften decken sich durchaus mit denen des Dehydrochloridhämmins aus Acethämmin, auch die Analysen geben ganz ähnliche Werte, sodaß an der Identität dieser Dehydrochloridhämme wohl nicht zu zweifeln ist.

Analysen.

Präparat A<sub>1</sub>

(nicht mit Äther extrahiert (stammt von  $\beta$ -Hämmin aus Pferdeblutkörperchen).

0,1925 Subst. (100°), 0,4733 CO<sub>2</sub>, 0,096 H<sub>2</sub>O, 0,024 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 67,05% C, 5,54% H, 8,7% Fe;

0,1610 » (105°), 13,5 ccm N, 735 B, 18,5° = 9,33% N;

0,1623 » (110°), 0,0033 AgCl, 0,021 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 0,5% Cl, 9,06% Fe (Carius).

Präparat A<sub>2</sub>. (Herkunft und Behandlung wie bei A<sub>1</sub>.)

0,2080 Subst. (110°), 0,5047 CO<sub>2</sub>, 0,1013 H<sub>2</sub>O, 0,0255 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 66,18% C, 5,41% H, 8,6% Fe (Asche).

Präparat B<sub>1</sub>. (A<sub>1</sub> mit Äther extrahiert.)

0,1683 Subst. (110°), 0,3981 CO<sub>2</sub>, 0,083 H<sub>2</sub>O, 0,0213 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 64,55% C, 5,48% H, 8,86% Fe (Asche);

0,2260 » (120°), 0,5399 CO<sub>2</sub>, 0,109 H<sub>2</sub>O, 0,029 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 65,17% C, 5,31% H, 8,98% Fe (Asche);

0,1701 » (120°), 14,5 ccm N, 20°, 732 mm B. = 9,38% N;

0,2945 » (110°), 0,036 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 8,56% Fe (Carius), AgCl merkliche Spuren;

0,2150 » (120°), 0,0034 AgCl, 0,0281 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 0,39% Cl, 9,1% Fe (Carius).

Präparat B<sub>2</sub>. (A<sub>2</sub> mit Äther extrahiert.)

0,2028 Subst. (100°), 0,489 CO<sub>2</sub>, 0,0956 H<sub>2</sub>O, 0,0257 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 65,76% C, 5,23% H, 8,87% Fe (Asche);

0,2400 » 0,0008 AgCl, 0,0298 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 0,08% Cl, 8,7% Fe (Carius).

Präparat C<sub>1</sub>. (B<sub>1</sub> nochmals mit Anilin behandelt.)

0,2036 Subst. (125°), 0,490 CO<sub>2</sub>, 0,0975 H<sub>2</sub>O, 0,0257 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 65,64% C, 5,32% H, 8,84% Fe (Asche);

0,2655 » (100°), 0,0013 AgCl, 0,033 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 0,12% Cl, 8,7% Fe (Carius);

Präparat C<sub>2</sub>. (B<sub>2</sub> auch noch mit Aceton extrahiert.)

0,1846 Subst. (115°), 0,4485 CO<sub>2</sub>, 0,087 H<sub>2</sub>O, 0,0227 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 66,26 % C, 5,29 % H, 8,7 % Fe (Asche).

Zusammenstellung der Analysen von Dehydrochloridhäminpräparaten aus β-Hämin.

Berechnet für	Gefunden													
	A 1	A 2	B 1	B 2	C 1	C 2								
C <sub>34</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub> N <sub>4</sub> Fe														
% C	66,23	67,05	—	—	66,18	64,55	65,17	—	—	65,76	—	65,64	—	66,26
% H	5,19	5,54	—	—	5,41	5,48	5,31	—	—	5,23	—	5,32	—	5,29
% N	9,09	—	9,33	—	—	—	—	9,38	—	—	—	—	—	—
% Fe	9,09	8,7	9,06	8,6	8,86	8,98	8,56	9,1	}	8,87	8,7	8,84	8,7	8,7
% Cl	0,00	—	0,5	—	—	—	Spur			0,39	—	0,08	—	0,12

F. 3. Darstellung von Dehydrochloridhämin aus Hämin p. e.

Die Darstellung erfolgte genau in der Weise, wie ich es beim Acethämin angegeben; aus 2 g wurden 1,5 g Dehydrochloridhämin erhalten.

Analysen.

0,2218 g Subst. (110°), 0,5363 CO<sub>2</sub>, 0,1115 H<sub>2</sub>O, 0,0283 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 65,94 % C, 5,58 % H, 8,93 % Fe (Asche)

0,0854 » » (110°), 7 ccm N, 18,5° 732 mm B. = 9,09 % N

0,2198 » » (110°), Spuren AgCl, 0,0277 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 8,82 % Fe (Carius).

Zusammenstellung.

Berechnet für	Gefunden			
C <sub>34</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub> N <sub>4</sub> Fe				
% C	66,23	65,94	—	—
% H	5,19	5,58	—	—
% N	9,09	—	9,09	—
% Fe	9,09	8,93	—	8,82
% Cl	0,00	—	—	Spuren

G. Darstellung von Hämin aus Dehydrochloridhämin.

1. Aus Dehydrochloridacethämin.

Versuch 1. 1 g aus Acethämin gewonnenes Dehydrochloridhämin wurde in 50 ccm alkoholischem Ammoniak<sup>1)</sup> unter Schütteln gelöst und filtriert — die Zeit bis zum vollständigen Abfließen betrug 50 Min. —, das Filtrat wurde in 150 ccm mit Kochsalz gesättigten Eisessigs bei 110° eingetragen. Nach

<sup>1)</sup> Nach Nenckis Vorschrift, Diese Zeitschr., Bd. XXX, S. 391.

eintägigem Stehen hatten sich 0,55 g Krystalle abgesetzt, welche wie üblich gereinigt und getrocknet wurden. Präparat A.

Versuch 2. 1 g Dehydrochloridhämin wurde mit 1 g Chinin und 25 ccm Chloroform 15 Min. geschüttelt, dann filtriert — das Präparat hatte sich ohne Rest gelöst — das Filtrat in 150 ccm Eisessig von 110° eingetragen. Am nächsten Tage hatten sich Kristalle abgesetzt, welche in der Form dem ursprünglichen Acethämin glichen, nur waren sie etwas corrodirt, sie wurden filtriert, mit etwas Alkohol, dann mit salzsäurehaltigem Wasser nachgewaschen und wie üblich getrocknet. Präparat B.

Analysen.

Präparat A.

0,1711	Subst.	(110°),	0,3947	CO <sub>2</sub> ,	0,0785	H <sub>2</sub> O =	62,9%	C u.	5,1%	H;
0,0966	>	(110°),	0,2231	CO <sub>2</sub> ,	0,0453	H <sub>2</sub> O =	62,98%	C u.	5,2%	H;
0,1121	>		7,8	ccm N,	6°,	733	mm B.	=	8,17%	N;
0,1850	>	(110°),	0,0393	AgCl,	0,0228	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> =	5,27%	Cl,	8,62%	Fe

(Carius).

Präparat B.

0,160	Subst.	(125°),	0,3688	CO <sub>2</sub> ,	0,747	H <sub>2</sub> O =	62,86%	C u.	5,18%	H;
0,2104	>	(120°)	0,0468	AgCl,	0,0259	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> =	5,5%	Cl,	8,61%	Fe

(Carius).

#### Zusammenstellung.

Berechnet für		Gefunden			
C <sub>34</sub> H <sub>33</sub> O <sub>4</sub> N <sub>4</sub> ClFe		A		B	
% C	62,53	62,9	62,98	62,86	
% H	5,06	5,1	5,2	5,18	
% N	8,59	—	8,17	—	—
% Fe	8,59	—	8,62	—	8,61
% Cl	5,44	—	5,27	—	5,5

#### 2. Aus Dehydrochlorid-β-Hämin.

2 Versuche, die Verwandlung von Dehydrochlorid-β-Hämin in Hämin mit Hilfe des Lösens in alkoholischem Ammoniak und Eintragen in Eisessig durchzuführen, mißlangen insofern, als ein deutlich kristallisiertes Produkt mit richtigem Chlorgehalt nicht erhalten wurde, wie aus folgenden Analysen hervorgeht:

1. Präparat

0,1682	Subst.	(110°),	0,3964	CO <sub>2</sub> ,	0,0815	H <sub>2</sub> O =	64,27%	C u.	5,38%	H;
0,1451	>	(105°),	11,6	ccm N,	12°,	737	mm =	9,19%	N;	
0,2232	>	(110°),	0,0202	AgCl u.	0,0291	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> =	2,24%	Cl u.	9,13%	Fe

(Carius).

2. Präparat

0,2134 Subst. (115°), 0,0293 AgCl = 3,39 % Cl.

3. Versuch: 1 g Dehydrochlorid-β-Hämin wurde mit 1 g Chinin und 25 ccm Chloroform geschüttelt, dann filtriert; das Filtrat in 150 ccm kochsalzhaltigem Eisessig von 110° eingetragen. Am nächsten Tage hatten sich Kristalle abgeschieden, welche den unter gleichen Bedingungen aus Dehydrochloridacethämin erhaltenen durchaus glichen. Ausbeute 0,8g.

Analyse.

0,1798 Subst, (125°), 0,4121 CO<sub>2</sub> u. 0,0845 H<sub>2</sub>O = 62,51 % C u. 5,22 % H  
 0,2387 » (120°), 0,0518 AgCl und 0,0293 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 5,37 % Cl und  
 8,59 % Fe (Carius).

Berechnet für	Gefunden
C <sub>34</sub> H <sub>33</sub> O <sub>4</sub> N <sub>4</sub> ClFe	
% C 62,53	62,51 —
% H 5,06	5,22 —
% Cl 5,44	— 5,37 }
% Fe 8,59	— 8,59 }

**G 3. Versuch zur Darstellung eines Bromwasserstoffhämins aus Dehydrochloridhämin.**

1 g Dehydrochlorid-β-Hämin wurde mit 1 g Chinin und 25 ccm Chloroform 15 Min. geschüttelt, die Lösung filtriert und das Filtrat in 150 ccm mit Bromkalium gesättigten Eisessig, der auf 110° erhitzt war, eingetragen. Am nächsten Tage hatten sich reichlich würfelförmige Kristalle abgeschieden, eine Form, welche nach früheren Befunden für das Bromwasserstoffhämin charakteristisch ist. Die Analyse ergab jedoch einen zu niederen Bromgehalt:

0,2012 Subst. (110°), 0,0445 AgBr u. 0,0247 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Carius) = 9,41 % Br und 8,59 % Fe, während C<sub>34</sub>H<sub>33</sub>O<sub>4</sub>N<sub>4</sub>BrFe 11,4 % Br erfordert.

Der Versuch bedarf also der Wiederholung.

**H. 1. Darstellung von Dehydrohämatin aus Dehydrochloridhämin.**

Wie schon erwähnt, lösen sich die Dehydrochloridhäminpräparate leicht in Alkalien, auch in kohlensauren Alkalien, auf. Fällt man alsdann die filtrierte Lösung durch eine verdünnte Säure, so erhält man einen voluminösen Niederschlag,

der sich schwer auswaschen läßt und nach dem Trocknen eine metallglänzende, schwarzblaue, amorphe Masse vorstellt, im Aussehen also dem Hämatin durchaus gleichartig ist, aber die Zusammensetzung des Dehydrochloridhämins besitzt. Diesen neuen Körper will ich als Dehydrohämatin bezeichnen.

#### Analysen.

1. Präparat aus Dehydrochloridacethämin:  
 0,1696 Subst. (110°), 0,4084 CO<sub>2</sub>, 0,0800 H<sub>2</sub>O, 0,221 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Asche)  
 = 65,68% C, 5,24% H, 9,12% Fe.
2. Präparat aus Dehydrochlorid-β-Hämin:  
 0,1600 Subst. (110°), 0,3852 CO<sub>2</sub>, 0,0745 H<sub>2</sub>O, 0,020 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Asche)<sup>1)</sup>  
 = 65,66% C, 5,17% H, 8,75% Fe.

Berechnet für	Gefunden	
C <sub>34</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub> N <sub>4</sub> Fe	1	2
% C 66,23	65,68	65,66
% H 5,19	5,24	5,17
% Fe 9,09	9,12	8,75

#### H. 2. Versuch zur Überführung von Dehydrohämatin in Hämin.

Während sich Dehydrochloridhämin, wie ich zeigte, wieder in Hämin überführen läßt, gelingt es nicht, unter den gleichen Bedingungen aus Dehydrohämatin Hämin zu erhalten. 0,5 g Dehydroacethämin werden mit 0,5 g Chinin und 15 ccm Chloroform 7 Min. geschüttelt, die Lösung filtriert, wobei so gut wie kein Rückstand blieb, das Filtrat in 75 ccm mit Chlornatrium gesättigten Eisessigs bei 110° eingetragen. Nach einem Tage hatten sich 0,4 g eines nicht kristallinisch erscheinenden Produkts abgesetzt, das wie üblich gereinigt und getrocknet wurde.

#### Analyse.

0,1452 Subst. (110°), 0,0170 AgCl und 0,0191 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Carius)  
 = 2,9% Cl > 8,73% Fe.

Hier hatte sich also ein Körper gebildet, der nur etwa die Hälfte des einem Hämin zukommenden Chlorgehalts enthielt. Auch das Hämatin läßt sich bekanntlich nicht in Hämin überführen. Beide Körper sind aber mit Hilfe von Lauge hergestellt. So glaube ich, daß das Alkali eine Umlagerung des

<sup>1)</sup> In dieser Asche waren noch Spuren von Phosphorsäure nachweisbar.

Farbstoffmoleküls bewirkt, nach deren Vollendung eine Anlagerung von Chlorwasserstoff nicht mehr eintreten kann.

### J. Über das Hämatin.

Ich gebe hier nur die Analysen einiger Hämatinpräparate, welche unter verschiedenen Bedingungen dargestellt worden waren, und verweise auf frühere Bemerkungen;<sup>1)</sup> nur möchte ich nochmals<sup>2)</sup> hervorheben, daß die Mehrzahl der Analysen — und hierzu kommen die in den früheren Arbeiten von mir bekannt gegebenen — leidlich, einige sogar recht gut auf die Formel  $C_{34}H_{34}O_5N_4Fe$  stimmen, welche sich aus  $C_{34}H_{33}O_4N_4ClFe$  ergibt, wenn Chlor durch Hydroxyl ersetzt wird. Nur die Werte für den Wasserstoff sind fast durchgehends niedriger, als jene Formel verlangt, fast hat es den Anschein, daß eine Formel  $C_{34}H_{32}O_5N_4Fe$  den Vorzug verdient, deren Entstehen durch folgende Gleichung wiedergegeben werden kann:

$$C_{34}H_{33}O_4N_4ClFe + NaOH + O = C_{34}H_{32}O_5N_4Fe + H_2O + NaCl.$$

#### I. Präparate aus Hämin p. e. nach Nencki.

##### Analysen.

Präparat A, im Januar 1892 hergestellt:

0,2166 Subst. 0,5081  $CO_2$ , 0,1149  $H_2O$ , 0,0271  $Fe_2O_3$  = 64,06% C, 5,8% H, 8,76% Fe (Asche).

0,3109 » 0,7305  $CO_2$ , 0,1495  $H_2O$ , 0,0388  $Fe_2O_3$  = 64,08% C, 5,38% H, 8,73% Fe (Asche).

0,228 » 18,4 ccm N, 13° C., 720 mm B. = 8,98% N.

Präparat B. Das zur Darstellung dienende Hämin war aus umkrystallisiertem Oxyhämoglobin vom Pferde erhalten worden (Analysen desselben vergl. Habil.-Schrift, S. 13/14). Über Einzelheiten bei der Umwandlung in Hämatin habe ich hier keine Angaben vorgefunden.

1. 0,5264 Subst., 1,2248  $CO_2$  und 0,2515  $H_2O$  = 63,64% C, 5,31% H, (Verbrennung im geschlossenen Rohr mit  $CuO$ ).

2. 0,6840 » 1,5964  $CO_2$  und 0,3532  $H_2O$  = 63,65% C, 5,72% H,<sup>3)</sup> (Verbrennung im geschlossenen Rohr mit  $CuO$ ).

Präparat C. Hämin wie bei B.; es war zweimal in Ammoniak gelöst und wieder gefällt worden.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr., Bd. XXVIII, S. 14/15 und Habil.-Schrift, S. 23 (Tübingen, Pietzker) und Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 29, S. 823.

<sup>2)</sup> Vergl. S. 396.

<sup>3)</sup> Sicher zu viel Wasser nach einer Bemerkung im Wägebuch.

0,3867 Subst., 0,9068 CO<sub>2</sub>, 0,1871 H<sub>2</sub>O = 63,95% C, 5,25% H (im geschlossenen Rohr).<sup>1)</sup>  
 0,4427 > 0,0555 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Asche) = 8,77% Fe.

## Zusammenstellung.

Berechnet für		Gefunden					
C <sub>34</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub> N <sub>4</sub> Fe	C <sub>34</sub> H <sub>32</sub> O <sub>5</sub> N <sub>4</sub> Fe	A.		B.		C.	
% C	64,35	64,55	64,06	64,08	63,46	63,65	63,95
% H	5,36	5,07	5,8	5,38	5,31	5,72	5,25
% N	8,83	8,86	—	8,98	—	—	—
% Fe	8,83	8,86	8,76	8,73	—	—	8,77

## II. Präparate aus nicht umkristallisiertem Acethämin vom Rind.

A. Das mit Alkohol etwas befeuchtete Hämin wurde in kalter verdünnter Natronlauge gelöst, durch verdünnte Schwefelsäure gefällt, das Verfahren wiederholt und erschöpfend ausgewaschen.

0,179 Subst., 0,4200 CO<sub>2</sub>, 0,0838 H<sub>2</sub>O, 0,0216 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 63,99% C, 5,2% H, 8,45% Fe (Asche).

B. Präparat A nochmals in kalter Natronlauge gelöst und wieder gefällt.

0,1878 Subst. (100°), 0,4337 CO<sub>2</sub>, 0,0880 H<sub>2</sub>O, 0,0244 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 62,98% C, 5,21% H, 9,09% Fe (Asche).

0,1773 > (110°), 0,4070 CO<sub>2</sub>, 0,0837 H<sub>2</sub>O, 0,0234 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 62,61% C, 5,24% H, 9,24% Fe (Asche).

C. Präparat B 4 Tage lang mit absolutem Alkohol extrahiert.

0,1760 Subst. (110°), 0,3940 CO<sub>2</sub>, 0,0911 H<sub>2</sub>O, 0,0190 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 61,06% C, 5,75% H, 7,56% Fe (Asche).

0,2120 > (110°), 0,4752 CO<sub>2</sub>, 0,1020 H<sub>2</sub>O, 0,025 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 61,13% C, 5,32% H, 8,26% Fe (Asche).

A 1. Aus demselben Hämin wie A, aber in der Hitze gelöst und gefällt.

0,2393 Subst., 0,5510 CO<sub>2</sub>, 0,117 H<sub>2</sub>O, 0,0306 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 62,79% C, 5,43% H, 8,96% Fe (Asche).

B 1. A 1 nochmals siedend gelöst und gefällt.

0,2245 Subst. (110°), 0,5196 CO<sub>2</sub>, 0,1049 H<sub>2</sub>O, 0,0288 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 63,12% C, 5,18% H, 8,98% Fe (Asche).

C 1. Präparat B 1 mit kaltem absolutem Alkohol behandelt, wobei sich nur Spuren lösen.

0,1616 Subst. (110°), 0,374 CO<sub>2</sub> und 0,0196 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 63,12% C und 8,5% Fe (Asche).

0,2040 > (110°), 0,4731 CO<sub>2</sub>, 0,0987 H<sub>2</sub>O, 0,0252 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 63,25% C, 5,37% H, 8,65% Fe (Asche).

0,2130 > (110°), 0,4920 CO<sub>2</sub>, 0,1043 H<sub>2</sub>O, 0,0269 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 62,99% C, 5,44% H, 8,85% Fe (Asche).

<sup>1)</sup> Diese Analyse verdanke ich Herrn Dr. Gmelin.

Es liegen also die Werte für den Kohlenstoff, ausgenommen bei Präparat A, sämtlich etwa 1% unter dem Wert, welcher sich für  $C_{34}H_{34}O_5N_4Fe$  berechnet, also herrschen ganz ähnliche Verhältnisse wie beim nicht umkristallisierten Hämin.

Aus den Analysen von Präparat C geht hervor, daß die Extraktion mit siedendem Alkohol einen Eingriff bedeutet, welcher mit einer Änderung der prozentischen Zusammensetzung verknüpft erscheint.

### III. Präparate aus umkristallisiertem Acethämin.

- A. 0,1663 Subst. (110°), 0,3938  $CO_2$ , 0,0775  $H_2O$ , 0,0207  $Fe_2O_3$  = 64,58% C, 5,18% H, 8,7% Fe (Asche).  
 0,1815 » (110°), 14,3 ccm N, 14°, 733 B. = 8,93% N.
- B. Das Präparat wird mit Hilfe alkoholischer Kalilauge hergestellt; die Verarbeitung geschieht möglichst schnell.  
 0,1571 Subst. (110°), 0,3705  $CO_2$ , 0,0775  $H_2O$ , 0,0206  $Fe_2O_3$  = 64,32% C, 5,48% H, 9,4% Fe (Asche)  
 0,2033 » (110°), 0,003  $AgCl$ , 0,0269  $Fe_2O_3$  = Spuren Chlor, 9,26% Fe (Carius).
- C. Das Präparat wird mit Hilfe 1%iger Kalilauge erhalten, die alkalische Lösung bleibt einen Tag lang stehen.  
 0,191 Subst. (110°), 0,4457  $CO_2$ , 0,090  $H_2O$ , 0,0243  $Fe_2O_3$  = 63,64% C, 5,23% H 8,9% Fe.
- D Das Präparat wird mit Hilfe von heißer Natronlauge hergestellt.  
 0,2384 Subst. (110°), 0,5537  $CO_2$ , 0,1083  $H_2O$ , 0,0308  $Fe_2O_3$  = 63,35% C, 5,05% H, 9,04% Fe (Asche).

### Zusammenstellung.

Berechnet für		Gefunden				
$C_{34}H_{34}O_5N_4Fe$	$C_{34}H_{32}O_5N_4Fe$	A.	B.	C.	D.	
% C	64,35	64,55	64,58	64,32	63,64	63,35
% H	5,36	5,07	5,18	5,48	5,23	5,05
% N	8,83	8,86	—	8,93	—	—
% Fe	8,83	8,86	8,7	9,4	9,26	8,9

### IV. Präparate aus Mörner-Hämin.

- A. Das Hämin stammt aus Blutkörperchen vom Pferde, es ist zweimal in Natronlauge gelöst und durch Schwefelsäure resp. Essigsäure wieder gefällt worden.  
 0,2240 Subst. (105°), 0,5217  $CO_2$ , 0,1055  $H_2O$ , 0,0276  $Fe_2O_3$  = 63,52% C, 5,23% H, 8,6% Fe (Asche).  
 0,1613 » (110°), 0,3772  $CO_2$ , 0,0765  $H_2O$ , 0,0212  $Fe_2O_3$  = 63,77% C, 5,27% H, 9,2% Fe (Asche).

- 0,2783 Subst. (110°), 0,0334 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 8,4% Fe (Carius), Chlor nur merkliche Spuren.
- 0,149 > (110°), 12,5 ccm N, 716 mm, 21° = 9,22% N.
- B. Das Hämin stammt aus Blutkörperchen vom Rinde.
- 0,1814 Subst. (110°), 0,4322 CO<sub>2</sub>, 0,0888 H<sub>2</sub>O, 0,0232 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 64,98% C, 5,43% H, 8,95% Fe (Asche); †)
- 0,2163 > (110°), 17,2 ccm N, 13°, 737 mm = 9,11% N.
- C. Hämin wie B. Das Präparat wird mit Hilfe 1%iger Kalilauge erhalten; die alkalische Lösung bleibt einen Tag lang stehen.
- 0,1937 Subst. (110°), 0,4582 CO<sub>2</sub>, 0,0930 H<sub>2</sub>O, 0,0249 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 64,09% C, 5,33% H, 8,99% Fe (Asche).
- D. Hämin wie B. Das Präparat ist mit Hilfe alkoholischer Kalilauge erhalten und möglichst schnell hergestellt worden.
- 0,2043 Subst. (110°), 0,4807 CO<sub>2</sub>, 0,0948 H<sub>2</sub>O, 0,0257 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 64,17% C, 5,16% H, 8,81% Fe (Asche);
- 0,2713 > (110°), 0,0020 AgCl, 0,0351 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, = Spuren Cl, 9,06% Fe (Carius).
- E. Hämin wie A. Das Präparat wird mit Hilfe von heißer Natronlauge gewonnen.
- 0,2546 Subst. (110°), 0,5980 CO<sub>2</sub>, 0,1218 H<sub>2</sub>O, 0,0324 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 64,06% C, 5,31% H, 8,91% Fe (Asche).

## Zusammenstellung.

	Berechnet für		Gefunden							
	C <sub>84</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub> N <sub>4</sub> Fe u. C <sub>94</sub> H <sub>32</sub> O <sub>5</sub> N <sub>4</sub> Fe.		A.	B.	C.	D.	E.			
% C	64,35	64,55	63,52	63,77	—	64,98	64,09	64,17	—	64,06
% H	5,36	5,07	5,23	5,27	—	5,43	5,33	5,16	—	5,31
% N	8,83	8,86	—	—	9,22	9,11	—	—	—	—
% Fe	8,83	8,86	8,6	9,2	8,4(C)	8,95	8,99	8,81	9,06	8,91

## V. Präparate aus Bromwasserstoffhämin.

## Analysen.

Präparat A (durch zweimaliges Lösen in heißer Natronlauge und Fällen mit verdünnter Salzsäure gewonnen.

- 0,3060 Subst. (115°), 0,7061 CO<sub>2</sub>, 0,1547 H<sub>2</sub>O = 62,93% C u. 5,62% H;
- 0,2795 > (115°), 0,6499 CO<sub>2</sub>, 0,1362 H<sub>2</sub>O = 63,42% C u. 5,41% H.

Die Asche aus beiden Analysen gelöst und wieder gefällt = 0,0733 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 8,76% Fe.

- 0,1836 Subst. (115°), 0,4344 CO<sub>2</sub> u. 0,0977 H<sub>2</sub>O = 64,53% C u. 5,91% H.

Analyse mit PbCrO<sub>4</sub> im geschlossenen Rohr.

### Anhang. Versuche zur Darstellung von Äthern des β-Hämins.

Während das β-Hämin bei der Einwirkung von Jodwasser-

stoff nach Zeisel kein Alkyljodid abspaltet, wie Versuche an zwei verschiedenen Präparaten ergaben, welche Herr Galler ausgeführt hat, gelingt es, durch ein zweites Lösen des Hämins in Mineralsäure haltendem Alkohol leicht Produkte zu erhalten, welche bei der Zeiselschen Äthoxylbestimmung positive Resultate ergeben.

1. Schüttelt man  $\beta$ -Hämin andauernd mit Alkohol, so lösen sich kleine Mengen, bei Wiederholung der Operation geht von neuem Hämin in Lösung.

a) 10 g  $\beta$ -Hämin werden mit 100 ccm 96%igen Alkohols 1 Stunde geschüttelt, dann wird filtriert, 10 ccm des Filtrats geben 0,044 g Rückstand.

b) Das abfiltrierte Hämin wird mit 200 ccm 96%igen Alkohols wiederum 1 Stunde geschüttelt, 10 ccm des Filtrats hinterlassen 0,0176 g.

c) Nach Wiederholung geben 10 ccm des Filtrats 0,0172 g Rückstand.

Die alkoholischen Filtrate zum Sieden erhitzt und mit wenig Salzsäure versetzt, geben bei langsamem Erkalten von neuem Häminkristalle.

50 ccm des ersten alkoholischen Filtrats enthalten ca. 0,2 g Hämin, sie werden auf dem Wasserbade zum Sieden erhitzt und alsdann 0,5 ccm 25%ige Salzsäure<sup>1)</sup> gemischt mit 0,5 ccm Alkohol eingetragen. Am nächsten Morgen fanden sich würfelförmige Kristalle abgesetzt vor, und ähnliches wurde bei der Verarbeitung des 2. und 3. Filtrats (s. o.) beobachtet.

Diese Kristalle lösten sich in kaltem Ammoniak.

2. Schüttelt man  $\beta$ -Hämin mit Alkohol, welcher 1,75 % Schwefelsäure enthält, so wird bedeutend mehr als durch Alkohol allein gelöst.

2,5 g Hämin werden in 1 Liter 90%igen Alkohols, der 10 ccm konzentrierte Schwefelsäure enthält, eingetragen, die Lösung bleibt unter öfterem Umschütteln drei Stunden stehen, dann wird von ungelösten geringen Resten filtriert, das Filtrat zum Sieden erhitzt und nun 7,5 ccm 25%ige Salzsäure, mit 7,5 ccm Alkohol gemischt, eingetragen. Nach zweitägigem Stehen wird der Ausfall — Kristalle in Gestalt zu Kugeln vereiniger Nadeln — filtriert und wie üblich gereinigt.

Aus 7,5 g Hämin wurden 3,3 g eines Körpers erhalten,

---

<sup>1)</sup> Dieser Bemessung liegt folgende Rechnung zugrunde: Bei der Darstellung des  $\beta$ -Hämins werden nach Mörners Vorschrift pro Liter Blut 8 ccm Salzsäure verwendet, und man erhält im besten Falle 3,5 g Hämin. Danach erfordern 0,2 g Hämin die angegebene Menge Salzsäure.

der sich in verdünntem kaltem Ammoniak nicht löst, durch alkoholische Natronlauge aber aufgenommen wird.

Die Analysen dieses Produkts lassen erkennen, daß eine Ätherifikation eingetreten ist, daneben ist aber Stickstoff abgespalten worden, was auch aus folgendem Versuch hervorgeht.

Die von den abgesetzten Kristallen filtrierte Flüssigkeit wurde im Vacuum zur Trockne gebracht, der Rückstand in stickstofffreier Natronlauge aufgenommen, die alkalische Lösung destilliert, das Übergehende in 10 ccm  $\frac{1}{10}$  N.-Salzsäure aufgefangen. Zum Zurücktitrieren waren nur 8 ccm  $\frac{1}{10}$  N.-Ammoniak erforderlich. Man darf wohl annehmen, daß die Differenz von 2 ccm auf Rechnung von abgespaltenem Ammoniak zu setzen ist. Diese entsprechen 0,0028 g Stickstoff oder, da in den zur Verwendung gelangten 2,5 g Hämin ca. 0,22 g Stickstoff enthalten sind,  $\frac{1}{50}$  des Häminstickstoffs.

Die Stickstoffbestimmung ergab aber eine weit größere Differenz, der Monoäthyläther des Hämins sollte 8,23, der Diäthyläther sollte 7,9% N enthalten; gefunden wurden als Mittelwert etwa 7% N in dem neuen Produkt. Demnach muß der abgespaltene Stickstoff noch in einem Körper enthalten sein, der bei der Destillation mit Natronlauge kein Ammoniak gibt; die Natur desselben ist noch unbekannt.

Bei längerem Erwärmen des Hämins mit dem angesäuerten Alkohol vergrößert sich allerdings auch die Menge der flüchtigen Base.

2,5 g Hämin wurden in 1000 ccm Alkohol, dem 10 ccm konzentrierte Schwefelsäure zugesetzt waren, gelöst, die Lösung wurde vier Tage lang am Rückflußkühler im Sieden erhalten. Nach Abdestillation des Alkohols und Übersättigen des Rückstands mit Natronhydrat wurde destilliert; hierbei ging eine 4 ccm  $\frac{1}{10}$  N.-HCl entsprechende Menge der flüchtigen Base über.

#### Analysen. Präparat A.

0,3779 Subst. ergaben bei der Äthoxylbestimmung 0,1256 AgJ = 4,1%  $C_2H_5$ .

#### Präparat B.

0,4393 Subst. 0,2345 AgJ = 6,58%  $C_2H_5$   
 0,3634 > (nach Herzig) 0,2102 AgJ = 7,13%  $C_2H_5$   
 0,2099 > (110°), 0,4815  $CO_2$ , 0,104  $H_2O$ , 0,0256  $Fe_2O_3$  = 62,8% C  
 6,18% H, 8,57% Fe (Asche).  
 0,2853 > (110°), 17,5 ccm N, 20°, 728 mm = 6,71% N  
 0,1554 > 7,4 >  $\frac{1}{10}$  N.- $NH_3$  = 6,7% N.

#### Präparat C.

0,1108 Subst. 7 ccm N, 24,5°, 733 mm = 6,8% N  
 0,1255 > 6,5 >  $\frac{1}{10}$  N.- $NH_3$  = 0,0091 N = 7,25% >  
 0,248 > (130°), 0,048 AgCl u. 0,029  $Fe_2O_3$  = 4,8% Cl u. 8,22% Fe  
 (Carius).

0,1758	Subst.	(125°),	0,4158	CO <sub>2</sub> ,	0,0875	H <sub>2</sub> O,	0,0192	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	= 63,98%	C,
										5,53%
										7,64%
										Fe (Asche)
0,1650	»	(125°),	0,3822	CO <sub>2</sub> ,	0,0775	H <sub>2</sub> O,	0,0194	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	= 63,17%	C,
										5,22%
										8,23%
										Fe (Asche).

### Bemerkungen zu den analytischen Ergebnissen.

Die große Anzahl von Analysen, welche ich seit mehr als zehn Jahren mit aus dem Blutfarbstoff dargestellten Präparaten ausgeführt habe, und von denen ein Teil in der vorstehenden Arbeit wiedergegeben ist, veranlassen mich zu folgenden Bemerkungen. Alle Hämine verbrennen im offenen Rohr beim Überleiten von Sauerstoff vollständig, ist neben der Kupfer- eine Silberspirale vorgelegt, so werden die Resultate genau, so daß ein zu geringer Befund an Kohlenstoff mit Sicherheit auf ein unreines Präparat zurückgeführt werden kann. Anders beim Hämatin. Die besten Resultate wurden immer erhalten, wenn diese Substanz mit Kohlenoxydflamme verbrannte. Als Absorptionsmittel für das Kohlendioxyd habe ich stets Natronkalk verwendet und nur selten in der zweiten vorgelegten Röhre eine Zunahme gefunden, das Wasser wurde durch Schwefelsäure zurückgehalten. Es kann aber doch vorkommen, daß ein und dasselbe fein gepulverte und sorgfältig gemischte Präparat bei zwei Analysen Differenzen im Kohlenstoffgehalt zeigt. Bei der Schwerverbrennlichkeit des Hämatins, selbst im Sauerstoffstrom, kann es nicht wundernehmen, wenn bei der Bestimmung des Stickstoffs nach Dumas nur ein außergewöhnlich langes und heftiges Glühen mit gepulvertem Kupferoxyd zum Ziele führt.

Bei der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl habe ich nur dann richtige Werte erhalten, wenn zum Zerstören von je 0,1 g Substanz 10 ccm rauchende Schwefelsäure unter Zusatz eines Körnchens Kupferoxyd verwendet wurden, und das Erhitzen mindestens 24 Std. dauerte.

Die Zerstörung der Substanz bei Carius-Bestimmungen wurde zuerst bei 190 bis 200° bewirkt, dabei bildet sich ein Ansatz von Eisenoxyd an den Wänden der Röhren, was sehr lästig ist, da eine recht große Menge von konzentrierter Salzsäure zur Lösung notwendig wird. Zur Zersetzung des Hämins

genügt aber bereits eine Temperatur von  $130^{\circ}$ , wonach dann ein solcher Anflug von Eisenoxyd niemals beobachtet wurde. Das Hämin dürfte also keine «aromatische Gruppe» enthalten. Durch Erhitzen auf  $105^{\circ}$  wird nur eine Oxydation erreicht, der Farbstoff verschwindet, aber es konnte ein Säuregemenge ausgeäthert werden, von dem nur gesagt werden kann, daß es keine Oxalsäure enthielt.

Übrigens ist die Einwirkung hoch konzentrierter Salpetersäure auf Hämin so heftig, daß es zur Entflammung kommt.

Die vorstehende Arbeit wurde im physiologisch-chemischen Institut zu Tübingen ausgeführt mit Benutzung von Geldmitteln, welche mir die K. Akademie der Wissenschaften zu Berlin gütigst bewilligt hatte.

Stuttgart, im Oktober 1903.

---