

# Beiträge zur Kenntnis des Blutfarbstoffs.

Von

**William Küster.**

(Aus dem chemischen Institut der tierärztl. Hochschule zu Stuttgart.)

(Der Redaktion zugegangen am 23. April 1910.)

- I. Über das Dehydrochloridhämin.
- II. Über die Abspaltung des Hämatineisens und die Bildung des Hämatoporphyrins.
- III. Über die Salzbildung des Hämatins.
- IV. Über die chemischen Beziehungen zwischen Hämin und Hämatin und über das Bromhämin.
- V. Über die Valenz des Eisens in den Komponenten des Blutfarbstoffs und die Beziehungen derselben zu den Modifikationen des Hämoglobins.

## 1. Abschnitt.

### I. Über das Dehydrochloridhämin.

Das bei der Einwirkung von kaltem Anilin im großen Überschuß auf Hämin unter Abspaltung von Chlorwasserstoff entstehende Dehydrochloridhämin läßt sich, wie ich früher zeigte,<sup>1)</sup> unter denselben Bedingungen wieder in Hämin überführen, die bei der Umscheidung des Hämins nach Schalfejeffs Methode eingehalten werden, d. h. durch Lösen in chininhaltigem Chloroform und Eingießen der Lösung in einen Überschuß von auf 110° erhitztem Eisessig, der mit Kochsalz gesättigt ist. Ende Juli 1908 machte ich nun die Beobachtung, daß zwei ältere Präparate von Dehydrochloridhämin, das eine aus Mörner-Hämin, das andere aus Acethämin dargestellt, bei der Umscheidung versagten. Das letztere z. B., von dem eine Probe nach der Herstellung glatt in typisches Hämin zurückverwandelt

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XL, S. 408/13 (1904). Vgl. die Anm. auf Seite 226.

werden konnte, löste sich  $\frac{3}{4}$  Jahre darauf nur zu etwa 50% beim Schütteln mit Chinin und Chloroform, und aus der Lösung schieden sich nach dem Eintragen in Eisessig beim Erkalten keine Krystalle ab, auch nicht nach dem Verjagen des Chloroforms. (Versuch 1.)

Versuch 2. 1 g des im Dezember 1907 dargestellten Mörner-Dehydrochloridhämins hinterließ 0,3 g Rückstand, eine Ausscheidung im Betrage von 0,6 g stellte sich auch erst nach Verjagung des Chloroforms und Zusatz von etwas Salzsäure ein, und diese übrigens undeutlichen Krystalle stellten kein typisches Hämin vor, wie die Analyse bewies.

0,1743 g Substanz bei 100° getrocknet gaben 0,0118 g AgCl und 0,0211 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  (Carius) = 1,67% Chlor und 8,47% Eisen.

Versuch 3. Um diese Beobachtung zu kontrollieren, wurde zunächst noch ein aus dem Jahre 1902 stammendes Präparat von Dehydrochloridhämin, das damals bei der Analyse richtige Werte ergeben hatte, der Umscheidung unterworfen. 1 g wurde mit 1 g Chinin und 20 ccm Chloroform  $\frac{1}{4}$  Stunde geschüttelt, die Lösung filtriert und mit 10 ccm Chloroform nachgespült, wonach 0,09 g zurückblieben. Die Lösung wurde in 150 ccm mit Kochsalz gesättigtem Eisessig bei 106° unter starkem Rühren eingetragen. Beim Erkalten fand kein Absatz von Krystallen statt, erst bei längerem Stehen wurden 0,3 g erhalten, doch erwies sich auch hier der Chlorgehalt als viel zu niedrig.

0,1820 g Substanz (100°) gaben 0,0276 g AgCl und 0,0250 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3$   
= 2,88% Cl und 9,6% Fe (Carius).

Der folgende Versuch bewies dann in der Tat die Unmöglichkeit, ein längere Zeit aufbewahrtes Dehydrochloridhäminpräparat wieder in Hämin zu verwandeln. Zur Verwendung gelangte Mörner-Hämin, das zunächst einmal erschöpfend mit Äther extrahiert wurde, wobei Spuren von Farbstoff herausgenommen wurden, die sich in Natronlauge lösten. Dann wurden 10 g in zwei Portionen in Dehydrochloridhämin übergeführt. Es ist nämlich nicht ratsam, eine größere Menge auf einmal zu verarbeiten, da alsdann eine annähernd völlige Herausnahme des Chlors nicht gelingt. Erhalten wurden 9,4 g Dehydrochloridhämin, die nun bei der Extraktion mit Äther 0,2 g des von

Fuchs und mir<sup>1)</sup> beschriebenen Körpers lieferten, womit nebenher sicher bewiesen wurde, daß sich dieser erst unter dem Einfluß des Anilins bildet.

#### Analyse des Dehydrochloridhämins:

0,1449 g Substanz (110°) gaben 0,3488 g CO<sub>2</sub> und 0,0692 g H<sub>2</sub>O.  
 0,1182 » » (110°) » 9,25 ccm N (17°, 750 mm).  
 0,1415 » » (110°) » 10,9 » » (16,5°, 740 mm).  
 0,1396 » » (110°) » 0,0178 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> und Spuren von Chlor (Carius).

Berechnet für C <sub>34</sub> H <sub>31</sub> O <sub>4</sub> N <sub>4</sub> Fe:	Gefunden:
% C 66,34	65,65
% H 5,04	5,3
% N 9,15	8,8 und 8,75
% Fe 9,15	8,9.

14 Tage nach der Darstellung (am 13. X. 08) wurde dann das Dehydrochloridhämin mit Hilfe von Chinin und Chloroform umgeschieden, wobei es sich restlos löste; 2 g gaben 1,5 g typisches Hämin.

0,1265 g Substanz (110°) gaben 0,2920 g CO<sub>2</sub>, 0,0587 g H<sub>2</sub>O und 0,0160 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Asche).

0,1467 g Substanz (110°) gaben 11,6 ccm N (14,5° 750 mm).

0,2033 » » (110°) » 0,0434 g AgCl und 0,0264 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Carius).

Berechnet für C <sub>34</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub> N <sub>4</sub> FeCl:	Gefunden:
% C 62,62	62,95 — —
% H 4,91	5,15 — —
% N 8,59	— 9,07 —
% Fe 8,59	8,85 — 9,09
% Cl 5,43	— — 5,28.

Versuche 4 und 5. Fast ein Jahr nach der Herstellung wurden alsdann zwei weitere Versuche zur Umscheidung gemacht; am 24. resp. 30. September 1909; beide wurden mit je 1 g Dehydrochloridhämin ausgeführt, wobei es sich zeigte, daß die Auflösung nur sehr allmählich erfolgte, auch blieb trotz Nachspülens mit Chloroform viel Farbstoff im Filter hängen; die Ausscheidung betrug trotzdem 0,75 resp. 0,7 g, doch ließen sich in ihr unter dem Mikroskop deutlich drei verschiedene Formen erkennen, nämlich amorphe braune Partikel neben

<sup>1)</sup> Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XL, S. 2021 (1907).

hantelförmigen und typischen Häminkrystallen. Beide Ausscheidungen enthielten dann auch zu wenig Chlor.

1. 0.2143 g Substanz (110°) gaben 0,0286 g AgCl und 0,0295 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
= 3,3% Cl und 9,63% Fe (Carius).
2. 0.2430 g Substanz (100°) gaben 0,0120 g AgCl und 0,0304 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
= 1,22% Cl und 8,75% Fe (Carius).

Die Versuche zeigen also eine Übereinstimmung insofern, als bei keinem die glatte Bildung typischen Hämins beobachtet werden konnte; die Ursache dieses Verhaltens ist in der Herausnahme des Chlors zu suchen, denn Hämin hält sich, nach allem, was bisher bekannt ist, jahrelang unverändert, und es ist bemerkenswert, daß sich das Dehydrochloridhämin überhaupt mehr dem Hämatin anschließt als dem Hämin, wie aus dem Verhalten gegen Säuren hervorgeht, das im nächsten Abschnitt beschrieben ist. Ich glaube daher auch hier den Grund für das Versagen der Umscheidungsversuche in einer allmählich auch im festen Zustande eintretenden Polymerisation suchen zu können, obgleich es nicht ganz ausgeschlossen erscheint, daß der Luftsauerstoff eingewirkt hat.<sup>1)</sup> Die Elementaranalysen haben uns nämlich gerade in den letzten drei Jahren des öfteren ganz unbefriedigende Resultate ergeben, für den Kohlenstoff sowohl wie für den Wasserstoff wurden zu niedrige Werte erhalten, so daß die Entscheidung, ob ein analytischer Fehler

<sup>1)</sup> Das zu Versuch Nr. II benutzte Dehydrochloridhämin ergab gleich nach der Darstellung folgende Resultate:

I. 0,2065 g Substanz (110°): 0,5000 g CO<sub>2</sub>, 0,1025 g H<sub>2</sub>O und 0,0255 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Asche).

0,1993 g Substanz (110°): 16 ccm N bei 14° und 734 mm B.

0,2156 g Substanz (110°): 0,0065 g AgCl und 0,028 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Carius).

Nach 2 Jahren wurde dasselbe Präparat von mir mit folgendem Erfolg analysiert:

0,1807 g Substanz (100°): 0,4291 g CO<sub>2</sub>, 0,0865 g H<sub>2</sub>O und 0,0239 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Asche).

Berechnet für C<sub>34</sub>H<sub>31</sub>O<sub>4</sub>N<sub>4</sub>Fe:

Gefunden:

	1906	1908
% C 66,34	65,9	64,77
% H 5,04	5,5	5,3
% N 9,15	9,1	—
% Fe 9,15	8,6 u. 9,0	9,2
% Cl 0,0	0,7	—

vorliegt oder ob sich das betreffende Präparat verändert hatte, schwer fällt.<sup>1)</sup> Während sich aber in den beiden zuletzt beschriebenen Versuchen (4 u. 5) der in Lösung gegangene Farbstoff aus der essigsäuren Lösung beim Erkalten größtenteils wieder ausgeschieden hatte, war bei den ersten (1 u. 2) eine Abscheidung überhaupt nicht eingetreten, und der dritte Versuch nimmt eine Mittelstellung ein. Nun ist es immer möglich, die in Lösung gebliebenen Teile des Farbstoffs — denn quantitativ sind die Ausbeuten an Hämin niemals, wie schon Nencki und Zaleski angegeben haben<sup>2)</sup> — dadurch wiederzugewinnen, daß der Eisessig unter vermindertem Druck abdestilliert und der Rest der Lösung in angesäuertes Wasser eingetragen wird. War auch nicht zu hoffen, daß die so erhaltenen Niederschläge<sup>3)</sup> sich als einheitlich erweisen würden, so konnte doch die Analyse vielleicht über die Art der Veränderung, die der Farbstoff erlitten hatte, Aufschluß geben. Es ist deshalb auch noch der Versuch gemacht worden, durch Wiederholung des ganzen Verfahrens

<sup>1)</sup> Das zum Versuch Nr. I benutzte Acet-Dehydrochloridhämin hatte meinem Assistenten Dr. Lacour bei der Analyse nur 60,7% C und 4,9% H ergeben, ich fand dann 64,98% C und 5,14% H.

Auch mein Assistent, Herr Apotheker Eppler, bekam bei seinen ersten Analysen zu niedrige Werte und zwar bemerkenswerterweise sowohl für C wie für H.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXX, S. 392.

<sup>3)</sup> Bei einem Präparat gelang es, aus ihnen noch krystallisiertes, allerdings nicht ganz reines Hämin zu gewinnen, hier handelte es sich aber um einen in sehr reichlicher Menge entstandenen Körper, da bei der betreffenden Umscheidung von Acethämin die Ausbeuten an auskrystallisiertem Farbstoff verhältnismäßig gering waren, aus 38,5 g waren nur 20,8 g wiedererhalten worden. 5,5 g desselben wurden mit Hilfe von 30 g Pyridin und 150 ccm Chloroform gelöst, die filtrierte Lösung in 600 ccm Eisessig von 110° eingetragen, Ausbeute 2 g typisch krystallisiertes Hämin.

0,1750 g Subst. (Vak. u. 120°): 0,3933 g CO<sub>2</sub>, 0,0855 g H<sub>2</sub>O, 0,0212 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
= 61,29% C, 5,42% H, 8,48% Fe.

0,1302 g Subst. (Vak. u. 110°): 0,2935 g CO<sub>2</sub>, 0,0639 g H<sub>2</sub>O, 0,0170 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
= 61,48% C, 5,45% H, 9,14% Fe.

0,127 g Subst. (110°): 9,9 ccm N bei 21° und 746 mm B. = 8,7% N.

0,2193 g Subst. (Vak. u. 105°): 0,0520 g AgCl und 0,028 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
= 5,86% Cl und 8,94% Fe.

das Resultat sicherer zu gestalten. Diese Niederschläge enthalten nun fast alle weniger Eisen wie das Hämin, so daß also eine Herausnahme des Eisens als Grund für die nur 80 % oder weniger betragende Ausbeute an Hämin angesehen werden kann; sie enthalten aber auch Chlor, und zwar in festerer Bindung als das Hämin — es wird durch Ammoniak nicht oder nur sehr schwer entfernt —, und dieser Befund läßt die Deutung zu, daß bei der Umscheidung des Hämins eine Anlagerung von Chlorwasserstoff auch an einem der Pyrrolringe erfolgt. Die folgenden Analysen betreffen größere Mengen solcher Fällungen, wie sie bei der Umscheidung von 40 g Mörner-Hämin und 83 g Acethämin erhalten wurden, nämlich 8 g (Präp. BI) resp. 5 g (Präp. BII). (Die Ausbeuten an umgeschiedenem Hämin sind bei Verwendung von Acethämin immer wesentlich besser.) Die Präparate sind durch 1 %ige Salzsäure chininfrei gewaschen und dann im Vakuum neben Kaliumhydroxyd getrocknet; an kaltes Wasser geben sie immer wieder Spuren von Cl' ab, selbst nachdem das Auswaschen schon tagelang fortgesetzt worden war.

Präp. B I. 0,2107 g Subst. (i. Vak.) gaben 0,0380 g AgCl u. 0,0241 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
= 4,46% Cl und 8,01% Fe.

» » 0,2665 g Subst. (120°) gaben 0,0474 g AgCl und 0,0298 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
= 4,4% Cl und 7,8% Fe.

BI in Ammoniak gelöst, durch verdünnte Salpetersäure gefällt und chlorfrei gewaschen.

0,2078 g Subst. (110°) gaben 0,0262 g AgCl = 3,12% Chlor (Carius).

1 g des Präparates B II wird erneut «umgeschieden», wobei 0,8 g einer B entsprechenden Fällung erhalten werden (BB).

Analyse des kalt möglichst chlorfrei gewaschenen Präparats:

0,2177 g Substanz (110°) gaben 0,0408 g AgCl und 0,0234 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
= 4,63% Chlor und 7,53% Eisen (Carius).

Darauf wird es mit heißem Wasser chlorfrei gewaschen:

0,1975 g Substanz (110°) gaben 0,0283 g AgCl und 0,0220 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
= 3,5% Chlor und 7,81% Eisen (Carius).

Endlich wird BB in Ammoniak gelöst, durch verdünnte HNO<sub>3</sub> gefällt, der erhaltene Niederschlag chlorfrei gewaschen und getrocknet:

0,1340 g Substanz (110°) gaben 0,0150 g AgCl und 0,0151 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
= 2,7% Chlor und 7,88% Eisen (Carius).

Ein anderes Präparat B, es war bei dem 3. oben beschriebenen Versuche und zwar in einer Menge von 0,4 g erhalten worden, enthielt 2,26% Chlor und 7,6% Eisen (0,1675 g Substanz (100°) gaben 0,0153 g AgCl und 0,0182 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ). ihm wurde durch lange Zeit fortgesetzte Behandlung mit Ammoniak das Chlor bis auf Spuren entzogen:

0,1743 g Substanz (105°) gaben 0,0196 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3 = 7,8\%$  Eisen.

Die Anlagerung von Chlorwasserstoff an Dehydrochloridhämין kann auch noch auf einfachere Weise erfolgen und zwar nach derselben Methode, deren sich Zeynek<sup>1)</sup> bediente, um sein Verdauungshämatin in Hämין überzuführen. Schwemmt man nämlich Dehydrochloridhämין (1 g) in Aceton (150 ccm) auf und setzt einige (5) Tropfen 25%iger Salzsäure zu, so geht der Farbstoff rasch in Lösung. Im Filtrat erscheinen dann nach kurzer Zeit typische Häminkristalle. Ein reines Produkt wurde bisher nicht erhalten, die Analyse ergab zu wenig Chlor (0,2065 g Substanz gaben 0,0318 g AgCl und 0,0271  $\text{Fe}_2\text{O}_3 = 3,81\%$  Cl und 9,18% Fe), doch wird es sicher gelingen, das Verfahren zweckmäßiger zu gestalten, und es ist bemerkenswert, daß auch ein längere Zeit aufbewahrtes Dehydrochloridhämין nach dieser Methode Chlorwasserstoff addierte.

Auf Seite 166/167 wurde ein Versuch erwähnt, aus dem hervorgeht, daß der von Fuchs und mir beschriebene, bei 205 bis 210° schmelzende Körper sich erst durch die Behandlung mit Anilin aus dem Hämין bildet. Die Erklärung, die wir auf Grund der von Fuchs ausgeführten Analysen für die Bildung desselben gaben, wonach die kleinen Mengen von Äthylester, die dem Mörner-Hämין beigemischt zu sein pflegen, in Betracht kamen, wird aber durch die Tatsache hinfällig, daß auch «Acethämין» nach der Behandlung mit Anilin scheinbar denselben Körper lieferte. Herr Lacour erhielt z. B. bei Verarbeitung von 97 g Acethämין 1,1 g der neuen Verbindung. Nach dreimaliger Umkrystallisation aus siedendem 90%igem Alkohol zeigte die aus langgestreckten rhombischen Prismen bestehende Krystallmasse, die sich beim Trocknen filzig zusammenlegte, den Schmelzpunkt 205°, wie es auch Fuchs beobachtet hatte.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXX, S. 28.

Zur weiteren Aufklärung über die Herkunft dieses Körpers haben wir noch die folgenden Versuche angestellt.

a) Ein mit Äther erschöpfend extrahiertes Dehydrochloridhämin wurde von neuem mit Anilin behandelt, wobei sich, wie es auch früher schon beobachtet war (Diese Zeitschrift, Bd. XI., S. 409), zeigte, daß der Farbstoff sich recht schwierig löste, was übrigens ein Beweis dafür ist, daß die Löslichkeit des Hämins in Anilin auf einer Salzbildung beruht, im Dehydrochloridhämin ist die saure Gruppe an das Eisen gebunden.<sup>1)</sup> Im gegebenen Fall hatten 100 g Anilin nur 0,6 g des Farbstoffs gelöst, welche Lösung nun wieder auf Dehydrochloridhämin verarbeitet wurde. Bei der Extraktion des getrockneten Produkts mit Äther gingen dann doch Spuren farbiger Substanz in das Lösungsmittel, so daß es nicht unwahrscheinlich ist, daß sich der gesuchte Körper gebildet hat.

b) Acethämin wurde mit o- und p-Toluidin behandelt, das erstere löste so gut wie nichts auf, das letztere dagegen ebenso reichlich wie Anilin, eine Beobachtung, die wohl wiederum dafür spricht, daß die Auflösung auf einer Salzbildung beruht, die beim o-Toluidin aus sterischen Gründen verhindert ist. Das aus 5 g Hämin und 100 g geschmolzenem p-Toluidin hergestellte Dehydrochloridhämin gab dann an Äther den gesuchten Körper scheinbar nicht ab, d. h. es sammelte sich im Extraktionsgefäß ein harziger Absatz, der aber sehr leicht in Äther löslich war.

Weitere Versuche über den bei 205° schmelzenden Körper sind beabsichtigt.

### Zusammenfassung.

1. Dehydrochloridhämin erleidet beim Aufbewahren eine Veränderung, durch welche eine glatte Anlagerung von Chlorwasserstoff unter Rückbildung von typischem Hämin verhindert wird.

2. Andererseits erfolgt die Bildung von Häminkristallen aus Dehydrochloridhämin bereits bei der Einwirkung von Salzsäure, wie es Zeynek bei seinem Verdauungshämatin beobach-

<sup>1)</sup> Vgl. Seite 234.

tet hat, während bei dem aus Hämin durch Alkalien hergestellten Hämatin eine analoge Umsetzung nicht erreicht werden kann.

3. Bei der Umscheidung von Hämin nach Schalfjeff bleibt stets ein Teil des Farbstoffs in Lösung, dieser enthält weniger Eisen wie Hämatin und weist einen Gehalt an Chlor auf, der sich durch Behandlung mit Alkalien nicht abtrennen läßt.

4. Hämin löst sich wie in Anilin so auch in p-Toluidin auf, was auf Salzbildung zurückzuführen ist, o-Toluidin löst nicht, so daß es den Anschein hat, als ob hier eine sterische Hinderung der Salzbildung vorläge.

## 2. Abschnitt.

### Über die Abspaltung des Hämatineisens und die Bildung des Hämatoporphyrins.

Die Abspaltung des Eisens aus dem Hämatin, und zwar unter dem Einfluß konzentrierter Schwefelsäure, ist zuerst von Mulder und van Goudoever<sup>1)</sup> beobachtet, von Hoppe-Seyler<sup>2)</sup> alsdann näher verfolgt worden, der auch noch andere Säuren auf ihre Wirkung untersucht hat. Nach seinen Erfahrungen wird das Eisen aus dem Blutfarbstoff und aus dem Hämochromogen leichter herausgenommen als aus dem Hämatin, das sein Eisen erst bei der Behandlung mit konzentrierter Schwefelsäure oder mit rauchender Salzsäure bei 160° verliert. «Wird aber das Hämatin in schwach saurer alkoholischer Lösung bei Anwesenheit von Zink oder Zinn bis zum Sieden des Lösungsmittels erhitzt, so erleidet es bereits dieselbe Umwandlung, ohne Zweifel weil hier zunächst Hämochromogen entsteht.»<sup>3)</sup>

Cazeneuve<sup>4)</sup> faßt seine sich in gleicher Richtung bewegenden Untersuchungen dahin zusammen, daß ein großer Überschuß von konzentrierter Salzsäure auf Hämatin sehr lang-

<sup>1)</sup> Journ. f. prakt. Chem., Bd. XXXII, S. 186 (1844).

<sup>2)</sup> Lehrbuch der physiol. Chemie, S. 312 u. 396.

<sup>3)</sup> Die Umsetzung muß hier rascher verlaufen, weil es sich um eine Lösung handelt.

<sup>4)</sup> Bull. de la Soc. chim., Bd. XXVII, S. 488 (1877).

sam in der Kälte, viel rascher bei 100° und sehr prompt bei 150° einwirkt, wobei ein eisenarmes und ein eisenreiches Produkt entsteht, welche Beobachtung ich insofern bestätigen kann, als das Eisen bei einer ersten Behandlung niemals vollständig entfernt werden kann; das eisenreiche Produkt dürfte allerdings wohl nur ein Gemenge von etwas Farbstoff mit Eisenoxyd gewesen sein.

Die Beobachtungen Hoppe-Seylers sind dann durch van Klaveren<sup>1)</sup> und R. v. Zeynek<sup>2)</sup> bestätigt worden. In dem eisenarmen Kathämoglobin des ersteren kann ich wenigstens nur ein Gemisch erblicken, in dem ein Teil der Molekeln des Blutfarbstoffs das Eisen verloren hat; es ist nicht, wie Klaveren glaubt, ein Teil des Hämatinmoleküls abgesprengt worden, sondern nur das Eisen. R. v. Zeynek findet, daß sein durch Verdauung des Blutfarbstoffs erhaltenes Hämatin leichter Eisen verliert, als das auf dem Umwege über das Hämin hergestellte Hämatin, daß es sich also dem Hämochromogen anschließt.

Endlich hat Nencki,<sup>3)</sup> der zuerst das Eisen gleichfalls mit Hilfe von Schwefelsäure entfernte, ein Verfahren angegeben, das Eisen durch mit Bromwasserstoff gesättigten Eisessig zu eliminieren.<sup>4)</sup>

Mit der Herausnahme des Eisens gehen nun Veränderungen der organischen Materie Hand in Hand, die je nach den Arbeitsbedingungen verschieden ausfallen. Hoppe-Seyler nannte Hämatoporphyrin ein in Alkalien lösliches, in verdünnten Säuren unlösliches Produkt, das unter der Einwirkung von konzentrierter Schwefelsäure bei Luftzutritt aus Hämatin entstand und für das er die Zusammensetzung  $C_{68}H_{74}O_{12}N_8$  ermittelte; es löste sich in der konzentrierten Säure, fiel aber beim Eintragen in Wasser aus. Daneben erhielt er ein «Hämatolin» genanntes Produkt, das in Alkalien und auch in der konzentrierten Säure unlöslich war; es entstand ausschließlich, wenn

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 293 (1901).

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XLIX, S. 472 (1906).

<sup>3)</sup> Archiv f. exp. Pathol. u. Pharmak., Bd. XXIV, S. 430 (1888).

<sup>4)</sup> Es wird noch davon die Rede sein, daß man das Eisen auch mit Hilfe von Oxalsäure herausnehmen kann.

der Luftzutritt gehindert wurde. Bei einer Wiederholung dieser Versuche fand Nencki,<sup>1)</sup> daß sich Hämin zur Darstellung dieses Hämatoporphyrins besser eignet als Hämatin, da es sich in der konzentrierten Schwefelsäure nahezu völlig löst, während Hämatin zum größten Teil in «Hämatolin» übergeführt wird. Nach meinen Erfahrungen, die Herr Dr. Nicole durchaus bestätigen konnte, löst sich Hämatin aber überhaupt nicht in konzentrierter Schwefelsäure<sup>2)</sup> auf, dagegen bleibt bei Verwendung von Hämin ein wenn auch nur geringer Teil des entstandenen Farbstoffs in der durch Eingießen in Wasser stark verdünnten Säure löslich, während der größere Teil gefällt wird, eine Beobachtung, die wir stets gemacht haben, während ich eine Angabe hierüber in Nenckis Beschreibung des Vorgangs vermisse.<sup>3)</sup> Letzterer hat diesen Prozeß nicht eingehender verfolgt, da er in der Einwirkung von Eisessig-Bromwasserstoff ein Mittel fand, zu einem krystallisierende Salze gebenden Derivat des Hämatins zu gelangen, das er nun auch mit dem Namen «Hämatoporphyrin» belegte. Auch hier entsteht ein «Nebenprodukt», das in verdünnten Säuren nicht löslich ist. Endlich hat Cazeneuve neben einem in verdünnter Salzsäure löslichen Farbstoff einen hierin unlöslichen erhalten.

Vergleichen wir nun die Angaben über die Eigenschaften der erhaltenen Produkte, so ergeben sich wesentliche Unterschiede nicht nur zwischen Hoppe-Seylers Hämatoporphyrin und den in verdünnten Säuren löslichen Porphyrinen, sondern auch zwischen den letzteren selbst, was die folgende Tabelle veranschaulichen mag. Ich komme auf diese Ergebnisse noch zurück (vgl. Seite 182).

Nach allem schien die Einwirkung von Salzsäure bei einer zwischen 100 und 150° liegenden Temperatur auf Hämatin für die von uns ins Auge gefaßte Herstellung der Muttersubstanz

---

<sup>1)</sup> Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm., Bd. XVIII, S. 401. — Omnia opera, Bd. I, S. 755 (1884).

<sup>2)</sup> Wohl aber in rauchender Schwefelsäure.

<sup>3)</sup> Er sagt: «Das durch Eingießen der schwefelsauren Lösung in Wasser in amorphen, braunroten Flocken abgeschiedene Hämatoporphyrin war in Alkohol, Äther und verdünnten Säuren fast unlöslich.

Darstellung	Farbe der sauren Lösung	Natronlauge	Bemerkungen
1. Aus Hämatin durch konzentrierte Salzsäure im Überschuß bei 150°	Im durchfallenden Licht blutrot, im auffallenden apfelgrün	—	Cazeneuve.
2. Aus Hämin durch 10%ige Salzsäure bei 150°	Violett (Nuance zwischen Lösung von Jod in CS <sub>2</sub> und in CHCl <sub>3</sub> )	Fällt den Farbstoff, löst im Ue. nicht	W. Küster. Es liegt nur ein Versuch mit ca. 0,5 g Substanz vor, wobei sich nur sehr wenig Hp. gebildet hatte, daneben war ein in Säuren u. Alkalien unlöslicher Körper entstanden.
3. Aus Hämin durch Eisessig-Bromwasserstoff bei Z.-T.	Lebhaft rot mit bläulichem Stich	Löst unter Salzbildung	Nencki.
4. Aus Hämin durch konzentrierte Schwefelsäure bei Z.-Temp. entstehen anscheinend mehrere «Hämatoporphyrine»	Kirschsaftrot ( a) bläulicher Stich ( b) kirschsaftrot brauner Stich	Löst  Fällt aus, sobald die Lösung des Farbstoffs in verdünnter Schwefelsäure fast neutralisiert ist, löst nicht	Der Hauptanteil des Farbstoffs wird aus der Lösung des Hämins in konzentrierter Schwefelsäure durch Wasser gefällt. Wird diese Fällung nach dem Trocknen von neuem in konzentrierter H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> gelöst und die Lösung in Wasser gegossen, so erhält man ein nicht gefärbtes Filtrat. Durch fortgesetzte Behandlung mit H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> entsteht also ein in verdünnten Säuren unlösliches Produkt.

des Hämatins noch am günstigsten zu sein, da hierbei die Hämatoporphyrinbildung am ehesten vermieden wird, was auch einige Vorversuche zu bestätigen schienen. Ihre Eigenschaften kennen zu lernen, war für uns aber von Interesse, nachdem der von Fuchs und dem einen von uns<sup>1)</sup> beschriebene Körper nach dem Ausfall der ersten Analysen in Beziehung zu dieser von uns Hämaterinsäure genannten Verbindung stehen konnte, ganz abgesehen von ihrer Wichtigkeit für die Theorie der Hämatoporphyrinbildung. Daneben stand zu hoffen, daß uns die

<sup>1)</sup> Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XL, S. 2021 (1907).

Versuche eine Aufklärung über den Zustand des Eisens im Hämatin bringen würden, denn es war bisher nicht erwiesen, ob es zwei- oder dreiwertig auftritt. Nach der Einwirkung konzentrierter Schwefelsäure wurde das Eisen von Hoppe-Seyler<sup>1)</sup> und von Nencki<sup>2)</sup> als Ferrosulfat vorgefunden; letzterer gibt ferner an, daß es, durch Eisessig-Bromwasserstoff entfernt, als Ferro- und als Ferrisalz in den Filtraten vom Hämatoporphyrinnatrium angetroffen wird,<sup>3)</sup> und letztere Beobachtung erhielt ich bei einigen diesbezüglichen Versuchen durch meine Assistenten immer wieder bestätigt. Nur einmal habe ich mit Kölle<sup>4)</sup> zusammen bei der Einwirkung von Eisessig-Bromwasserstoff auf in Eisessig gelösten (wasserhaltigen) Hämatinschlamm, wobei kein Hämatoporphyrin entstand, das gesamte Eisen als Ferriverbindung erhalten, auch war hier das Eisen restlos entfernt.<sup>5)</sup> Eppinger<sup>6)</sup> gibt an, das Eisen werde als Ferriverbindung abgespalten, andererseits wollen meine Assistenten Dr. Nicole und Dr. Schäfer je einmal nur Ferrosalz beobachtet haben.

Endlich hat Zaleski<sup>7)</sup> das Eisen in das Mesoporphyrin unter Benutzung von Ferroacetat eingeführt, glaubt aber in seinem «hydrogenisierten Hämin» doch eine Ferriverbindung erblicken zu müssen.

Quantitative Versuche, die Menge der nebeneinander erhaltenen Ferro- und Ferri-Ionen zu bestimmen, und zwar nach der Einwirkung von konzentrierter Schwefelsäure, hat Herr Dr. Nicole bereits vor 5 Jahren ausgeführt, wobei er feststellen konnte, daß das Verhältnis von  $Fe^{II}$  zu  $Fe^{III}$  jedenfalls nicht = 1 : 1 war, was dahin hätte gedeutet werden können, daß doch, wie Hoppe-Seyler es annahm, zwei Atome Eisen im

<sup>1)</sup> Med.-chem. Untersuchg., S. 529.

<sup>2)</sup> Omnia opera, Bd. I, S. 756.

<sup>3)</sup> Ebenda, Bd. II, S. 76. An einer anderen Stelle spricht er nur von Oxydulsalz (Bd. II, S. 754/55).

<sup>4)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXVIII, S. 34 (1899).

<sup>5)</sup> 5,5 g Hämin gaben 0,65 g  $Fe_2O_3$ , während 0,67 g enthalten sein konnten, vgl. die Analyse auf S. 183.

<sup>6)</sup> Dissertation, München 1907, S. 19.

<sup>7)</sup> Diese Zeitschrift. Bd. XLIII, S. 11.

Hämatin enthalten sind. Eine genauere Durchführung scheiterte daran, daß beim Hämin immer lösliches Hämatoporphyrin auftrat, das wegen des starken Färbevermögens eine Titrierung nicht ermöglichte, während beim Hämatin die Eisenabspaltung immer unvollständig blieb, was wohl darauf zurückzuführen ist, daß es sich nicht wie Hämin in der Schwefelsäure löst. Dehydrochloridhämin nahm eine Mittelstellung ein, insofern es sich wie das Hämin in der konzentrierten Säure löste, beim Eingießen dieser Lösung in Wasser aber vollständige Fällung ohne Bildung eines färbenden Salzes eintrat. So erschien es für unser Vorhaben besonders geeignet; leider enthielt ein zweites Präparat offenbar noch größere Mengen von Hämin, so daß hier die verdünnte Lösung stark gefärbt war. Weitere Versuche unterblieben damals, da Herr Dr. Nicole in die Praxis übertrat. — Unsere neuen Versuche wurden mit 10 %iger Salzsäure unter Druck bei 130° angestellt<sup>1)</sup> und führten in bezug auf die eisenfreie Muttersubstanz des Hämatins bisher nicht zum Ziel, wohl aber schafften sie uns Aufklärung über die Bindungsart des Eisens, und zugleich wurde ein wesentlicher Unterschied im Verhalten des Hämins einerseits und des Dehydrochloridhämins und Hämatins andererseits aufgefunden, Beobachtungen, die auch einige Aufklärung über den Chemismus der Hämatoporphyrinbildung ermöglichen. Unter den angegebenen Bedingungen verlieren Dehydrochloridhämin und Hämatin den größten Teil des Eisens (etwa  $\frac{4}{5}$ ) ohne Hämatoporphyrinbildung,<sup>2)</sup> während das Hämineisen nur zum kleineren Teil (etwa  $\frac{1}{5}$ )<sup>3)</sup> abgespalten wird, dabei entsteht in geringer Menge Hämatoporphyrin.

<sup>1)</sup> Bei höherer Temperatur tritt Hämatoporphyrin auf, wie schon Cazeneuve beobachtet hat. Bei 100° wirkt selbst ca. 40%ige Salzsäure viel langsamer, hier wurde aus Dehydrochloridhämin bei einer ersten Behandlung nur 53,5% des Eisens herausgelöst, durch fortgesetzte Einwirkung wurden noch 30,6 und 6,5% weggenommen, wobei es zur Bildung von Hämatoporphyrin kam.

<sup>2)</sup> Unter Hämatoporphyrin ist hier der in verdünnter Salzsäure lösliche Farbstoff gemeint.

<sup>3)</sup> Meine kurze Mitteilung in den Berichten d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XLIII, S. 370, enthält die Angabe, daß 5% des Eisens abgespalten werden, was unrichtig ist.

Übrigens verhalten sich verschiedene Häminpräparate verschieden,

Eine quantitative Loslösung des Eisens gelang bisher nicht, und es würde auch zwecklos — im Hinblick auf unser Vorhaben — gewesen sein, eine solche erreichen zu wollen, da das Hämatin zugleich sehr wesentliche Veränderungen erleidet: das Reaktionsprodukt ist auch in Alkalien unlöslich geworden, eine Eigenschaft, die Hoppe-Seyler an seinem Hämatolin beobachtete, das aus Hämatin durch konzentrierte Schwefelsäure unter Abschluß von Luft entsteht, und außerdem hat es eine Oxydation erfahren.

Nach beendeter Einwirkung der Salzsäure fand sich nämlich auch bei diesen Versuchen das Eisen als Ferro- und als Ferrisalz in der Lösung vor, und zwar bestand der weitaus größte Teil aus ersterem. Nun hatte der eine von uns schon gelegentlich der Untersuchungen von Nicole vermutet, daß das Ferrosalz von einer sekundären Reaktion herrühre, d. h. daß primär abgespaltenes Ferrisalz durch die organische Materie reduziert sein könnte, jetzt bot sich die Gelegenheit, diese Anschauung durch das Experiment zu prüfen, und es zeigte sich in der Tat, daß noch fast ebensoviel Eisenchlorid in Ferrosalz übergeführt wurde, als aus dem verwendeten Gewicht Hämatin abspaltbar war. Damit halte ich es nun für erwiesen, daß das Eisen im Hämatin und Hämin dreiwertig auftritt, und die von Hoppe-Seyler<sup>1)</sup> wie von Nencki<sup>2)</sup> für die Hämatoporphyrinbildung mittels Schwefelsäure aufgestellten Gleichungen müssen insofern eine Korrektur erfahren, als der zur Bildung ihres Farbstoffs nötige Sauerstoff<sup>3)</sup> wenigstens zur Hälfte aus dem Eisensalz stammt. Ich unterlasse es, des näheren auf den Chemismus dieses Vorganges einzugehen, weil es wenig wahr-

---

das nach Mörners Methode bereitete Hämin z. B. gab mehr Eisen ab als «Acethämin», was ohne Zweifel darauf zurückzuführen ist, daß solche Präparate weniger rein sind als die nach Schalfjeffs Verfahren gewonnenen.

<sup>1)</sup> Med. chem. Unters., S. 532.

<sup>2)</sup> Omnia opera, Bd. I, S. 756.

<sup>3)</sup> Dieser Sauerstoff wird nicht während der Einwirkung der Schwefelsäure aufgenommen, wie ein Versuch erwies; Nencki nimmt daher an, daß der entstandene Farbstoff sich erst oxydiert, wenn er in alkalische Lösung gebracht worden ist.

scheinlich ist, daß hierbei ein einheitliches Produkt erhalten wird, enthält doch dasselbe z. B., wie schon Hoppe-Seyler gefunden hat, stets kleine Mengen von Schwefel, die sich auch durch Auswaschen mit heißem Wasser nicht vollständig entfernen lassen. Recht wenig erklärlich ist auch die Bildung des Hämatolins, das sich bei Abschluß der Luft aus Hämatin bildet. Das Nächstliegende wäre, an eine Abspaltung von Wasser zu denken, wodurch sowohl die sauren wie die basischen Eigenschaften aufgehoben werden könnten, mit welcher Annahme allerdings die von Hoppe-Seyler<sup>1)</sup> ermittelte Zusammensetzung ganz und gar nicht übereinstimmt. Herr Nicole fand dann auch für ein solches in Alkalien und Säuren unlösliches Produkt ganz andere Werte,<sup>2)</sup> ferner beobachtete er das Auftreten von Schwefeldioxyd,<sup>3)</sup> so daß sich also auch die Schwefelsäure an der Oxydation der organischen Materie beteiligen dürfte.

Wir haben nun auch durch die Einwirkung von Salzsäure bei 130° Produkte erhalten, die sich in Natronlauge und zwar selbst bei längerem Kochen nicht lösen; die Bildung hämatolinartiger Derivate scheint also sehr leicht einzutreten. Eine Ausnahme machen die unter Zusatz von Oxalsäure oder

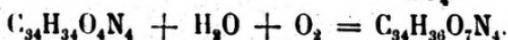
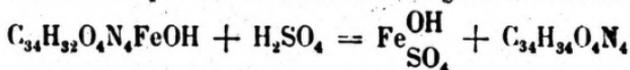
<sup>1)</sup> Hoppe-Seyler gibt für das «Hämatolin» die Formel  $C_{63}H_{78}O_7N_4$  an und bemerkt selbst, daß die fast vollständige Übereinstimmung der gefundenen mit den berechneten Werten eine zufällige sein wird.

<sup>2)</sup> 0,1620 g Subst. gaben 0,3946 g  $CO_2$ , 0,0837 g  $H_2O$  u. 0,0010 g Asche  
0,1517 „ „ „ 12 ccm N bei 12° u. 736 mm B.

1,1210 „ „ „ 0,0072 g  $BaSO_4 = 0,0024$  g  $SO_3$ ,

woraus sich unter Abzug der  $SO_3$  berechnet: 67,0 % C, 5,84 % H, 9,3 % N, was am besten mit  $C_{34}H_{36}O_7N_4$  übereinstimmt: 66,66 % C, 5,88 % H, 9,15 % N.

Ein solcher Körper könnte sich nach folgenden Gleichungen bilden:



Wenn also die Schwefelsäure Anhydridbildung zwischen den sauren und basischen Gruppen bewirkt hat, muß an anderen Stellen des Moleküls eine Wassereinlagerung erfolgt sein.

<sup>3)</sup> Ebenso wie Nencki, Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XVIII. S. 415.  $SO_2$  tritt auch auf, wenn  $H_2SO_4$  bei Luftzutritt auf Hämatin einwirkt.

durch Oxalsäure allein dargestellten Produkte, auch zeigt die Analyse derselben annähernde Übereinstimmung der Werte mit dem aus der Formel  $C_{34}H_{34}O_4N_4$  berechneten Prozentgehalt. Ein so zusammengesetzter Körper könnte sich nach der Gleichung  $2C_{34}H_{34}O_4N_4FeOH + 4HCl + C_2H_2O_4 = 2C_{34}H_{34}O_4N_4 + 2FeCl_2 + 2H_2O + 2CO_2$  gebildet haben und stellt vielleicht sogar die von uns gesuchte organische Muttersubstanz des Hämatins vor. Die durch die Wirkung der Salzsäure allein aus Hämatin entstehenden Produkte enthalten etwas weniger Kohlenstoff und bekunden dadurch, daß das abgespaltene Ferrichlorid oxydierend gewirkt hat.

Berechnet für	Gefunden <sup>1)</sup>				
	II 1.	III 3.	III 1.	III 4.	III 6.
$C_{34}H_{34}O_4N_4$ Ht mit Oxals.		Ht mit HCl + Oxals.	Ht mit HCl	Ht mit HCl + FeCl <sub>2</sub>	
% C 72,6	69,93	70,69	69,76	69,58	69,72
% H 6,05	5,8	5,67	6,01	5,79	5,82

Jedenfalls läßt sich auf Grund dieser Beobachtungen das Ausbleiben der Hämatoporphyrinbildung dahin deuten, daß das Hämatin zunächst den größten Teil des Eisens verliert und nun durch das Ferrichlorid an der Stelle des Moleküls die Oxydation erfährt, an der sonst durch Anlagerung von Wasser die Porphyrinbildung bewirkt wird. Hämin verliert das Eisen schwerer, so kommt es hier vielleicht früher zur Addition des Wassers und die Porphyrinbildung beginnt, ehe die Oxydation erfolgt, die dann an einer anderen Stelle einsetzen muß, denn auch beim Hämin findet sich das abgespaltene Eisen in überwiegender Menge als Ferrosalz.<sup>2)</sup> Daß die Oxydation durch das Ferrisalz eine Rolle spielt, geht bereits aus den eingangs erwähnten Angaben Hoppe-Seylers hervor. Er findet, daß

<sup>1)</sup> Die Analysen sind auf eisenfreie Substanz umgerechnet und es ist zu beachten, daß die Präparate II 1 und III 3 einen größeren Aschengehalt aufwiesen als die übrigen. Die Zahlen beziehen sich auf die Angabe der analytischen Daten im experimentellen Teil (Seite 189/190).

Die Versuche, mit Hilfe von Oxalsäure zur «Hämaterinsäure» zu kommen, sollen fortgesetzt werden.

<sup>2)</sup> Es bot sich hier oft Gelegenheit, die oxydierende Wirkung des Ferrisalzes zu beobachten, der anfänglich rot gefärbte Röhreninhalt verblaßte nämlich, sobald er einige Zeit aufbewahrt wurde, was auf eine Zerstörung des Farbstoffs zurückgeführt werden kann.

Hämochromogen glatt durch Einwirkung von Salzsäure Hämatoporphyrin bildet, hier wird das Eisen sehr leicht herausgenommen, aber als Ferrosalz, und ferner, daß die Hämatoporphyrinbildung aus Hämatin dann leicht erfolgt, wenn ein reduzierendes Mittel zugefügt wird.<sup>1)</sup>

Im vollen Gegensatz zu diesen Angaben steht nun seine Beobachtung, wonach Hämatin unter dem Einfluß von Schwefelsäure nur dann Hämatoporphyrin bildet, wenn die Luft hinzutreten kann. Dieses Resultat läßt wohl nur den einen Schluß zu, daß die beiden Reaktionsprodukte verschiedene Körper sind. Hierfür spricht auch eine Beobachtung von Nicole, wonach sich das durch Schwefelsäure erzeugte Hämatoporphyrin durch Eisessig-Bromwasserstoff nicht oder nur spurenweis in das Hämatoporphyrin von Nencki verwandeln läßt, während aus dem letzteren durch Schwefelsäure<sup>2)</sup> ein in verdünnten Säuren unlöslicher Körper entsteht. Dann zeigt sich aber auch ein Unterschied zwischen diesen Hämatoporphyrinen in der Farbe der Lösungen ihrer salzsauren Salze; wie bereits in der Tabelle auf Seite 176 vermerkt ist, besaß z. B. der mit Hilfe von Salzsäure erhaltene Farbstoff rotviolette Farbe, während die des anderen am besten als kirschsaftrot bezeichnet werden kann.

Endlich spricht für die Verhinderung der Hämatoporphyrinbildung durch eine Oxydation die Tatsache, daß die Abspaltung des Eisens durch Bromwasserstoff bei Vermeidung eines Zutritts von Wasser glatt zum Entstehen des Hämatoporphyrins von Nencki führt. Auch hier geben aber Hämin und Dehydrochloridhämin bessere Resultate als Hämatin, wie Nencki<sup>3)</sup> mehrmals betont, während Eppinger<sup>4)</sup> keinen Unterschied gefunden hat. Wie sehr hier kleine Mengen von

<sup>1)</sup> Bei einer Wiederholung dieses Versuches habe ich zunächst keine Bestätigung erhalten, doch zweifle ich nicht daran, daß sich das Resultat unter bestimmten Bedingungen, die aber noch der Festlegung bedürfen, einstellen wird.

<sup>2)</sup> Selbst verdünnte Schwefelsäure bewirkt bei schwachem Erwärmen diese Umwandlung.

<sup>3)</sup> Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XXIV, S. 439; Diese Zeitschrift, Bd. XXX, S. 424, und Omnia op., Bd. II, S. 82 u. 755.

<sup>4)</sup> l. c. S. 24.

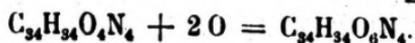
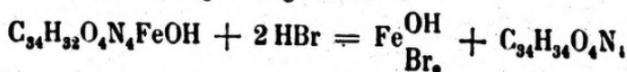
Wasser eine Rolle spielen, geht daraus hervor, daß ich bei Verwendung einer Lösung des noch etwas feuchten Hämatins in der 30fachen Menge Eisessig eine Bildung von Hämatoporphyrin niemals beobachten konnte, sondern unter Abspaltung des Eisens einen in verdünnten Säuren unlöslichen Körper erhielt.<sup>1)</sup>

Beim Hämatin geht eben, wie es scheint, die Abspaltung des Eisens allen andern Prozessen voraus. Bromwasserstoff ist nun aber jedenfalls geeignet, der oxydierenden Wirkung des Ferrisalzes zu begegnen, so daß die Hämatoporphyrinbildung vor sich gehen kann; vollständig wird sie nie werden, wie sich denn auch nach den meisten Beobachtungen auch stets Ferrisalz vorfindet, und ferner oft in reichlicher Menge<sup>2)</sup> ein «Nebenprodukt» auftritt, das in verdünnten Säuren unlöslich ist. Diesen Körper durch eine zweite Behandlung mit Eisessig-Bromwasserstoff auch noch in Hämatoporphyrin überzuführen, ist mir nie gelungen, an ihm könnte sich also die schon erwähnte Oxydation,<sup>3)</sup> welche die Porphyrinbildung unmöglich macht, voll-

<sup>1)</sup> Einmal wurde er analysiert mit folgendem Ergebnis:

0.1722 g Substanz (100°, aschefrei) gaben 0,4345 g CO<sub>2</sub> u. 0,0884 g H<sub>2</sub>O  
= 68,81% C und 5,7% H.

Nun berechnet sich für C<sub>34</sub>H<sub>34</sub>O<sub>6</sub>N<sub>4</sub>: 68,68% C und 5,72% H. so daß auch dieser Körper nur entstanden gedacht werden kann, wenn man dem Luftsauerstoff eine Rolle zuschreibt, und zwar dürfte die Aufnahme von O auch hier in alkalischer Lösung erfolgt sein. Das analysierte Produkt war wenigstens durch Aufnahme in schwacher Natronlauge und Fällen mit Schwefelsäure gereinigt worden.



<sup>2)</sup> Herr Nicole erhielt z. B. folgende Ausbeuten an Rohmaterial aus je 25 g Hämin:

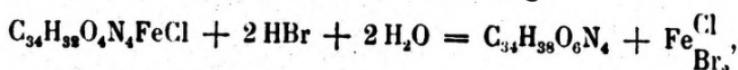
	I.	II.
Hämatoporphyrin	17,5	18
Nebenprodukt	7	6

Seitdem haben wir beobachtet, daß sich doch ein Erwärmen auf dem Wasserbade empfiehlt, die Menge des «Nebenprodukts» wurde dadurch auf 10% des verwendeten Hämins herabgedrückt.

<sup>3)</sup> Ich will nicht unerwähnt lassen, daß wir in diesem Körper einstens (Diese Zeitschrift, Bd. XXVIII, S. 38, 1899) ein Reduktionsprodukt

zogen haben, auch wurde es stets eisenhaltig befunden; es stellt also ein Übergangsprodukt vor, doch handelt es sich nicht um einen einheitlichen Körper, da es sich z. B. durch Alkohol in einen hierin löslichen und einen unlöslichen Teil trennen läßt. In einem neuerdings erhaltenen Präparat fand ich nun einen nicht unbedeutenden Gehalt an Brom, wodurch eine in der Einleitung zur Dissertation von Eppinger wohl von be-  
 rufenster Stelle ausgesprochene Ansicht, daß die Einwirkung des Bromwasserstoffs primär in einer Anlagerung seiner Elemente besteht, eine erste experimentelle Stütze findet.<sup>1)</sup>

Es ist also sicher, daß die Gleichung:



die uns die Bildung des Hämatoporphyrins von Nencki zurzeit versinnbildlicht, in mehr wie einer Hinsicht einer Präzisierung bedarf. Ich habe die Absicht, die Darstellung solcher Körper zu versuchen, die zwischen Hämatin und Hämatoporphyrin stehen, zu ihnen gehört zunächst die eisenfreie organische Mutter-  
 substanz des Hämatins, die voraussichtlich mit Hilfe von Oxal-  
 säure zu erhalten sein wird.

#### Experimenteller Teil.

Ein Versuch, mit Hilfe von Chlorwasserstoff, der in Äther gelöst war, eine Abspaltung des Eisens aus dem Hämin zu erzielen, schlug fehl.

vermuteten, wozu der bei der Analyse gefundene Wasserstoffgehalt den Anlaß gab. Als ein reines Produkt haben wir dieses Präparat auch damals nicht angesprochen.

<sup>1)</sup> Das mit Hilfe von Eisessig gelöste und durch Eintragen der  
 filtrierten Lösung in Wasser wieder gefällte Nebenprodukt enthielt:

6,91% Br und 5,93% Fe

(0,1557 g Substanz (100%) gaben 0,0253 g AgBr und 0,0132 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>).

Das Präparat löste sich in Alkohol nur zur Hälfte auf.

Der alkohollösliche Teil enthielt: 5,38% Br und 6,51% Fe

(0,1494 g Substanz gaben 0,0189 g AgBr und 0,0139 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)

der unlösliche Teil enthielt: 3,6% Br und 4,68% Fe

(0,2257 g Substanz gaben 0,0191 g AgBr und 0,0151 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>).

Dennoch dürfte durch die Behandlung mit Alkohol eine Heraus-  
 nahme von Brom stattgefunden haben.

1 g Acethämin (100<sup>o</sup>) wurde mit 50 ccm Äther, der mit Chlorwasserstoff gesättigt war, 6 Tage unter häufigem Schütteln in Berührung gelassen, wobei eine allmählich zunehmende Braunfärbung des Äthers zu bemerken war. Die filtrierte ätherische Lösung wurde nun mit Wasser ausgeschüttelt, wobei nur Spuren von Eisen in dieses übergingen, und dann verdunstet. Es hinterließ eine schwarze amorphe Masse in geringer Menge, deren Eisengehalt — 0,0475 g gaben 0,0068 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 0,00476 g Fe — fast dem des Hämins entsprach. Dementsprechend erschien das Acethämin unter dem Mikroskop unverändert, bei einer Chlorbestimmung wurde indessen ein größerer Gehalt an diesem Element gefunden (6,28 %), als dem Hämin zukommt.

0,1918 g Subst. (Vak. u. 110<sup>o</sup>) gaben 0,0487 g AgCl u. 0,0245 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
= 6,28% Cl und 8,91% Fe.

Es ist anzunehmen, daß der Überschuß durch Adsorption an dem Farbstoff haftete.

Der größte Teil der folgenden Versuche ist mit Salzsäure verschiedener Konzentration ausgeführt worden, bei zwei Versuchen wurde Oxalsäure verwendet. Bestimmte Mengen der Substanz (Hämin, Dehydrochloridhämin und Hämatin) wurden mit der etwa 10fachen Menge der Säure 3—4 Stunden im Rohr auf 130—140<sup>o</sup> erhitzt. Nach dem Öffnen — Druck war nur in den beiden Oxalsäureversuchen zu konstatieren — wurde der Inhalt der Röhren auf einem Filter gesammelt, mit heißem Wasser eisenfrei gewaschen<sup>1)</sup> und das Filtrat entweder direkt eingeeengt und mit Salpetersäure oxydiert oder, und zwar dann, wenn der Ferroanteil durch Titration festgestellt werden sollte, in 200 ccm einer 10%igen Schwefelsäure aufgefangen, wobei Kohlendioxyd hindurchgeleitet wurde. Schließlich wurde auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt und in aliquoten Teilen

a) der Gehalt an Ferroeisen durch Titration mit Kaliumpermanganat

b) der Gesamteisengehalt ebenfalls durch Titration nach Reduktion mit Schwefelwasserstoff oder

<sup>1)</sup> Bei den Oxalsäureversuchen wurde der Rückstand mit Salzsäure extrahiert, das gleiche geschah, wenn sich Hämatoporphyrin gebildet hatte.

Nr.	Substanz in g	Säure	T.	Dauer in Std.	Vorhd. Fe in g	Abgespaltenes Fe in g	Fe gefunden als Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> als Fe, in % in %	Bildung von Hp.	Produkt in Alkalien	Bemerkungen
Versuche mit Essigsäure und Hämatin.										
I 1.	0,9937	15 ccm 20%	130	4	0,0914	0,0048	90	0	löslich	
Ia.	0,861	20 „ 40%	130	3	0,0754	0,0072	100	0	unlöslich	
2.	1,0795	20 „ 5%	130	3	0,0956	0,00035	—	0	löslich	
Versuche mit Oxalsäure und Hämatin (1), Hämin (2).										
II 1.	0,4589	1 g 10ccmaq.	130	3 1/2	0,042	0,03514	83,7	0	löslich	
2.	1,0	4 „ 20 „	130	3	0,0859	0,02702	31,5	Spuren	„	
Versuche mit Salzsäure und Hämatin.										
III 1.	1,2	12,5 ccm 10%	135	3	0,1062	0,09135	86	Spuren	unlöslich	
2.	1,0003	10 „ 10%	130	3 1/2	0,0915	0,063	68,8	„	kalt unlöslich beim Erwärmen teilweise	
3.	0,4234	5 „ 10%	130	3 1/2	0,03874	0,03129	80,8	0	in der Wärme löslich	Es fand ein Zusatz von 0,05 g Oxalsäure statt.
4.	1,8212	18 „ 10%	135	3	0,1606	0,1492	92,9	Spuren	unlöslich	
5.	0,4591	10 „ 25%	150	3	0,0420	0,0379	90	„	„	
6.	1,0291	11,6 „ 9%	135	3	0,09084	—	—	0	„	2,7 ccm 40% ige HCl- + 8,9 „ FeCl <sub>3</sub> -Lösung, die 0,08265 g Fe enthielt.
Versuche mit Salzsäure und Dehydrochloridhämin.										
IV 1.	1,2364	12,3 ccm 10%	130	3	0,1121	0,09085	80,9	Spuren	unlöslich	
2.	0,6	5 „ 25%	140	3	0,0549	0,042	76,5	deutlich	löslich	
3.	1,0	25 „ 40%	100	36	0,0915	0,049	53,5	0	—	
3a.	—	25 „ 40%	100	9	—	0,028	30,6	0,04 g Hp.	—	Die 30,6% beziehen sich auf 0,0915 g Fe.
4.	1,0026	10 „ 25%	130	3	0,0912	0,08814	96,6	stark	—	

Nr.	Substanz in g	Säure	T.	Dauer in Std.	Vorhand. Fe in g	Abgespaltenes Fe in g	Fe gefunden als Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> in %	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> in %	Bildung von Hp.	Produkt in Alkalien	Bemerkungen
<b>Versuche mit Acethämin und Salzsäure.</b>											
V 1.	1,5639	15,6 ccm 10%	130	3	0,1339	0,03005	22,4	86	14	deutlich	—
1a.	1,4135	14 „ 10%	130	3	0,0957	0,01435	10,7	—	—	schr „	—
2.	1,0996	15 „ 20%	130	3	0,0945	0,0194	20,5	—	—	„ „	—
3.	0,9482	12 „ 30%	130	3	0,0815	0,0343	42,0	—	—	„ „	—
<b>Versuche mit Mörner-Hämin und Salzsäure.</b>											
VI 1.	0,6161	6 ccm 10%	130	3 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	0,053	0,0154	29	—	—	deutlich	z. T. löslich
2.	0,595	12 „ 25%	130	3	0,05117	0,0207	40,4	—	—	„	löslich
3.	0,5217	6 „ 10%	160	3	0,0448	0,0413	92,2	—	—	stark	spurenweis in heißer NaOH lösl.
4.	0,5218	6 „ 10%	130	3	0,0449	0,01834	40,87	—	—	Spuren	unlöslich
<b>Versuche mit Siewert-Hämin und Salzsäure.</b>											
VIII 1.	0,5227	6 ccm 10%	130	3	0,04595	0,02562	51,4	—	—	Spuren	löslich
2.	0,9826	10 „ 10%	130	3	0,0835	0,04312	51,6	—	—	0	—
3.	0,8655	12 „ 10%	130	3	0,0757	0,0738	85,3	—	—	0	unlöslich
<b>Versuche mit Eppinger-Hämin und Salzsäure.</b>											
VIII 1.	1,4665	16 ccm 10%	130	3	0,1276	0,1202	94,2	—	—	0	unlöslich
	0,5376	6 „ 10%	130	3	0,047	0,04697	100	—	—	Spuren	„
	0,8198	8 „ 10%	130	3	0,0713	0,05145	72,1	—	—	—	—

Es handelt sich um den Rückstand von I.

Der Röhreninhalt ist rot gefärbt, nach dem Öffnen findet ein Abblässen d. Farbe statt.

Ein schlechtes Präparat.

Das Präparat ist mit Hilfe von Eisessig hergestellt. Aus dem Ba-Salz gewonnen. Desgl. die alkalische Lösg. des Ht. hatte 8 Tage gestanden.

Präp. Nr. 2, Teil IV, S. 230.  
 „ „ 4, „ IV, „ 231.  
 „ „ 3, „ IV, „ 231.

c) gravimetrisch nach der Oxydation mit Salpetersäure bestimmt.

Die Titrationsen sind sämtlich von meinem Assistenten J. Eppler ausgeführt worden, der nach einiger Übung auch in den Lösungen, die nur Spuren von Hämatoporphyrin enthielten, genügende Genauigkeit erzielte, natürlich wurde der störende Einfluß der Salzsäure durch Zusatz von Mangansulfat beseitigt. Daß einige mangelhafte Resultate unterliefen, ist bei den sehr kleinen Mengen, um die es sich immer handelte, wohl zu begreifen.

In allen Fällen wurde das Eisen größtenteils als Ferroion angetroffen, auch hier macht das Hämin eine Ausnahme. Abgesehen von einem Fall, machte hier das mit in Lösung gegangene Hämatoporphyrin eine Titration unmöglich, dabei wurde aber die Beobachtung gemacht, daß bei etwas längerer Aufbewahrung die Stärke der Färbung zurückging, was unzweifelhaft auf eine Oxydation des Farbstoffs durch das primär gebildete Ferrisalz schließen läßt.

Einmal wurde der Ferroanteil in der stark rot gefärbten Flüssigkeit dadurch ermittelt, daß nach Zusatz von Sublimat alkalisch gemacht und ein paar Stunden auf dem Wasserbade erwärmt wurde. Nach dem Wiederansäuern wurde dann das gebildete Calomel gesammelt und gewogen; da Kontrollversuche nicht ganz befriedigende Resultate gaben, ist diese Bestimmung jedoch nicht als genau zu bezeichnen.

#### Analytische Belege.

##### I. Behandlung von Hämatin mit Essigsäure:

1. Das Filtrat wurde auf 200 ccm gebracht. Die Kaliumpermanganatlösung entspricht pro 1 ccm 0,0015225 g  $\text{Fe}$ ; es werden 1,45 ccm davon für 100 ccm des Filtrats verbraucht, 200 ccm enthalten 0,0044 g  $\text{Fe}$

40 ccm des Filtrats gaben nach der

Oxydation mit  $\text{HNO}_3$ : 0,0012 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ , 200 „ „ 0,0042 „ „

Am Rohr fanden sich 0,0007 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  abgesetzt = 0,0005 „ „

1a. Das Filtrat wurde auf 250 ccm gebracht.

120 ccm erfordern 2,85 ccm obiger  $\text{KMnO}_4$ -Lösung,

in 250 ccm demnach 0,009035 g  $\text{Fe}$

100 ccm gaben nach der Oxydation

mit  $\text{HNO}_3$ : 0,0041 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ , „ 250 „ „ 0,007175 „ „

(die beiden Bestimmungen differieren also erheblich).

## II. Behandlung von Hämatin resp. Hämin mit Oxalsäure:

- 1a. Das Reaktionsprodukt wird mit verdünnter HCl Fe-frei gewaschen, das Gesamtfiltrat enthält nach der Oxydation mit Salpetersäure  
 $0,0502 \text{ g Fe}_2\text{O}_3 = 0,03514 \text{ g Fe}$ .
- β.  $0,1503 \text{ g Subst. (100}^\circ\text{): } 0,3777 \text{ g CO}_2, 0,0769 \text{ g H}_2\text{O}, 0,0043 \text{ g Fe}_2\text{O}_3$   
 $= 68,54\% \text{ C}, 5,72\% \text{ H}, 2,00\% \text{ Fe}$   
 oder  $69,93\% \text{ C}, 5,8\% \text{ H}$ , bezogen auf eisenfreie Substanz.
2. Die Menge des aus dem Gesamtfiltrat erhaltenen  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  beträgt  
 $0,0386 \text{ g} = 0,02702 \text{ g Fe}$ .

## III. Behandlung von Hämatin mit Salzsäure:

1. Das Gesamtfiltrat ergab nach der Oxydation mit  $\text{HNO}_3$ :  
 $0,1305 \text{ g Fe}_2\text{O}_3 = 0,09135 \text{ g Fe}$   
 $0,1929 \text{ g Subst. (100}^\circ\text{) gaben } 0,4924 \text{ g CO}_2, 0,1031 \text{ g H}_2\text{O}, 0,0006 \text{ g Fe}_2\text{O}_3$   
 $= 69,76\% \text{ C}, 6,01\% \text{ H}$ , auf Fe-freie Substanz berechnet.  
 $0,2870 \text{ g Subst. (100}^\circ\text{) enthielten höchstens Spuren von Chlor (Carius).$
2. Das Gesamtfiltrat gab nach der Oxydation mit  $\text{HNO}_3$ :  
 $0,0900 \text{ g Fe}_2\text{O}_3 = 0,0630 \text{ g Fe}$ .
3. Das Gesamtfiltrat gab nach der Oxydation mit  $\text{HNO}_3$ :  
 $0,0447 \text{ g Fe}_2\text{O}_3 = 0,03129 \text{ g Fe}$ .  
 $0,1986 \text{ g Subst. (100}^\circ\text{) gaben } 0,5012 \text{ g CO}_2, 0,0987 \text{ g H}_2\text{O}, 0,0075 \text{ g Fe}_2\text{O}_3$   
 $= 68,83\% \text{ C}, 5,56\% \text{ H}, 2,64\% \text{ Fe}$   
 $70,69\% \text{ C}, 5,67\% \text{ H}$ , auf eisenfreie Substanz bezogen.
4. Das Filtrat wird auf 500 ccm gebracht.
- a) 40 ccm gaben nach der Oxydation mit  $\text{HNO}_3$ :  $0,0184 \text{ g Fe}_2\text{O}_3$ .  
 500 ccm enthalten:  $0,1609 \text{ g Ges.-Fe}$
- β) 100 ccm verbrauchen nach der  
 Reduktion mit  $\text{H}_2\text{S}$  17,9 ccm  
 $\text{KMnO}_4$ -Lösung<sup>1)</sup> 500 > >  $0,1492$  > >
- γ) 50 ccm verbrauchen im Durch-  
 schnitt 8,7 ccm  $\text{KMnO}_4$ -Lösg. 500 > >  $0,1450$  >  $\text{FeO}$ .
- Da das Reaktionsprodukt noch  $0,8\%$  Eisen enthielt, dürfte bei der gravimetrischen Bestimmung ein Fehler gemacht worden sein.
- δ)  $0,2001 \text{ g Subst. gaben } 0,5064 \text{ g CO}_2, 0,1032 \text{ g H}_2\text{O}, 0,0023 \text{ g Fe}_2\text{O}_3$   
 $= 69,02\% \text{ C}, 5,78\% \text{ H}, 0,804\% \text{ Fe}$   
 oder  $69,58\% \text{ C}, 5,79\% \text{ H}$ , auf eisenfreie Substanz berechnet.
5. Das Gesamtfiltrat gibt nach der Oxydation:  
 $0,0541 \text{ g Fe}_2\text{O}_3 = 0,0379 \text{ g Fe}$ .
6. Das Filtrat wird auf 500 ccm gebracht.
- α) 50 ccm gaben nach der Oxydation:  $0,0258 \text{ g Fe}_2\text{O}_3$   
 $= 0,1805 \text{ g Ges.-Fe in 500 ccm}$
- β) 25 ccm erfordern nach d. Reduktion  
 mit  $\text{H}_2\text{S}$ :  $5,05 \text{ ccm KMnO}_4$ -Lösung<sup>2)</sup>  $= 0,1773$  > >  $500$  >

1) 1 ccm =  $0,001667 \text{ g Fe}$ .2) 1 ccm =  $0,001756 \text{ g Fe}$ .

γ) 25 ccm erfordern direkt titriert im

Durchschn.: 4,825 ccm  $\text{KMnO}_4$ -Lösg. = 0,16946 g  $\text{Fe}_0$ .

Da 0,08265 g Fe zugefügt worden waren, sind 0,1773 — 0,08265 = 0,09465 g Fe abgespalten, welcher Wert etwas zu hoch ausgefallen sein dürfte, da die verwendete Hämatinmenge bei 8,85% Fe nur 0,09084 g Fe enthalten hat.

Nehmen wir an, daß das Eisen vollständig abgespalten worden wäre, was aber doch nicht der Fall war, und daß es nur als  $\text{Fe}_0$  vorhanden war, so würden vom zugefügten Eisen (0,08265 g): 0,16946 — 0,09084 = 0,07862, also weitaus der größte Teil reduziert worden sein.

δ) 0,1862 g Substanz (100°) gaben 0,4737 g  $\text{CO}_2$ , 0,0970 g  $\text{H}_2\text{O}$  und 0,0013 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  = 69,33% C, 5,78% H, 0,5% Fe

oder 69,72% C, 5,82% H, auf Fe-freie Substanz.

IV. 1. Das Filtrat wird auf 500 ccm gebracht.

α) 50 ccm gaben nach der Oxydation: 0,0136 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  (gravim.)

500 ccm enthielten 0,09514 g Ges.-Fe

β) 50 ccm erforderten nach Reduktion mit  $\text{H}_2\text{S}$ : 5,45 ccm

$\text{KMnO}_4$ -Lösung <sup>1)</sup> 500 > > 0,09085 > >

γ) 50 ccm erforderten direkt:

5,35 ccm  $\text{KMnO}_4$ -Lösung <sup>2)</sup> 500 > > 0,08715 >  $\text{Fe}_0$ .

2. Das Gesamtfiltrat wird nach dem Einengen durch  $\text{NH}_3$  gefällt und liefert 0,06 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ .

3. Das Gesamtfiltrat wird nach dem Einengen durch  $\text{NH}_3$  gefällt und liefert 0,07 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ .

3a. Das Gesamtfiltrat wird nach dem Einengen durch  $\text{NH}_3$  gefällt und liefert 0,04 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ .

4. Das Filtrat wird auf 500 ccm gebracht. Da diese Lösung zu stark gefärbt ist, um mit  $\text{KMnO}_4$  titriert zu werden, wird versucht, den Ferroanteil durch Umsetzung mit Hydrargyrioxyd in alkalischer Lösung zu bestimmen.

α) 200 ccm gaben nach der Oxydation 0,0504 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3$

500 ccm enthalten 0,08814 g Ges.-Fe

β) 100 ccm gaben 0,0403 g  $\text{HgCl}_2$  500 > > 0,04781 >  $\text{Fe}_0$ .

V. 1. Das Filtrat wird auf 500 ccm gebracht.

α) 45 ccm gaben nach der Oxydation 0,003 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3$

500 ccm enthalten 0,02331 g Ges.-Fe

β) 100 ccm erford. nach Reduktion

mit  $\text{H}_2\text{S}$  3,6 ccm  $\text{KMnO}_4$  <sup>1)</sup> 500 > > 0,03005 > >

γ) 50 ccm direkt titriert erforderten 1,55 ccm  $\text{KMnO}_4$

500 > > 0,025876 g  $\text{Fe}_0$ .

<sup>1)</sup> 1 ccm = 0,001667 g Fe.

<sup>2)</sup> 1 ccm = 0,0016694 g Fe.

1a.	Eine Titration war wegen der starken Färbung nicht möglich. Das Filtrat enthält nach der Oxydation 0,0205 g $F_2O_3 = 0,1435$ g Fe.
2.	Eine Titration ist unmöglich. Das Filtrat enthält nach der Oxydation 0,02775 g $Fe_2O_3 = 0,0194$ g Fe
3.	» » » » » » 0,049 » » = 0,0343 » »
VI. 1.	Das Gesamtfiltrat gab » » » 0,0220 » » = 0,0154 » »
2.	» » » » » » 0,0296 » » = 0,0207 » »
3.	» » » » » » 0,0590 » » = 0,0413 » »
4.	» » » » » » 0,0262 » » = 0,01834 » »
VII. 1.	» » » » » » 0,0366 » » = 0,02562 » »
2.	» » » » » » 0,0616 » » = 0,04312 » »
3.	» » » » » » 0,1054 » » = 0,0738 » »
VIII. 1.	» » » » » » 0,1717 » » = 0,1202 » »
2.	» » » » » » 0,0671 » » = 0,04697 » »
3.	» » » » » » 0,0735 » » = 0,05145 » »

### Zusammenfassung.

1. Bei der Herstellung von Hämatoporphyrin ist eine Oxydation in saurer Lösung zu vermeiden, daher sind Schwefelsäure, welche schon an und für sich und dann durch das abgespaltene Ferrisulfat oxydierend wirkt, sowie Salzsäure nicht geeignet.

2. Das durch Säuren abgespaltene Eisen findet sich primär als Ferrisalz vor, im Hämin und Hämatin ist also das Eisen dreiwertig.

3. Hämin ist gegen die Einwirkung von Säuren im allgemeinen beständiger als Hämatin und Dehydrochloridhämin, dies zeigt sich besonders bei Verwendung von Salzsäure und von Oxalsäure, während Schwefelsäure aus dem Hämin Chlorwasserstoff abspaltet und dann das Eisen ebenso vollständig wie aus Hämatin herausnimmt.

4. Essigsäure wirkt selbst bei hoher Temperatur auf Hämatin sehr schwach ein, das Ferriacetat gibt ebenfalls Sauerstoff an die organische Materie ab.

### 3. Abschnitt.

#### Über die Salzbildung des Hämatins.

Die Salze des Hämatins sind bisher wenig untersucht worden. Hoppe-Seyler<sup>1)</sup> fand es schwierig, solche Verbindungen

<sup>1)</sup> Med. chem. Untersuchg. S. 526.

dungen völlig rein zu erhalten, und hat die Untersuchung ganz unterlassen. Auch Cazeneuve<sup>1)</sup> hat nur das Baryumsalz analysiert und einen Gehalt von 9,84% Ba neben 8,76% Fe festgestellt, der zwar mit der Formel  $C_{68}H_{68}O_{10}N_8Fe_2Ba$  genügend übereinstimmt, von meinem Befund aber ganz bedeutend abweicht.

Ich habe die Salzbildung des Hämatins und der ihm nahestehenden Körper genauer verfolgt, um über die saure Natur derselben Klärung zu schaffen, d. h. um Belege dafür zu erhalten, ob die in ihren Molekülen vorhandenen vier Sauerstoffatome zwei Carboxylen zukommen, ob ein Carboxyl und zwei saure oder ob vier saure Hydroxylgruppen vorhanden sind. Nach dem ganzen Verhalten des Hämatins erschien es ausgeschlossen, daß hier der Sauerstoff in Form von anderen Gruppen auftrete.

I. Es war natürlich, daß zunächst die Frage entschieden werden mußte, ob bei der Umsetzung mit Carbonaten<sup>2)</sup> Kohlendioxyd auftritt oder nicht; der Versuch entschied dahin, daß eine Entwicklung von Kohlensäure nicht stattfindet.

Versuch 1. 5 g Hämin wurden durch einen Überschuß von verdünnter Sodalösung, die durch einen Hahntrichter zugelassen wurde, nachdem die Luft durch Wasserstoff verdrängt worden war, in Lösung gebracht. Das vorgelegte Barytwasser trübte sich nicht, auch nicht als der die Lösung enthaltende Kolben im Wasserbade schwach erwärmt wurde. Das Hämin hatte sich restlos gelöst; diese Lösung konnte der Dialyse

<sup>1)</sup> Bull. de la soc. chim. de Paris, Bd. XXVII, S. 487 (1877).

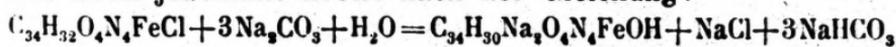
<sup>2)</sup> In sauren Carbonaten löst sich weder Hämin noch Hämatin auf, und ebenso sind beide Körper in zweifach sauren Phosphaten unlöslich, eine 0,1%ige Lösung von Dinatriumphosphat löst nur in der Wärme auf und auch eine 0,5%ige verhält sich nicht wesentlich verschieden. Wenn das Hämatin also auch eine zweibasische Säure ist wie das Glaukophyllin und Rhodophyllin von Willstätter (beide werden von 0,5%igen Lösungen des Phosphats aus ihrer ätherischen Lösung aufgenommen, aber nicht von 0,1%igen, Ann. d. Chem., Bd. CCCLXXI, S. 39 u. 67), so ist doch ein kleiner Unterschied im sauren Charakter zu konstatieren, der wohl auf den Gehalt an verschiedenem Metall hauptsächlich zurückzuführen ist.

unterworfen werden, ohne daß Farbstoff in das Außenwasser trat, dasselbe enthielt vielmehr nach einiger Zeit Natriumcarbonat, wie leicht nachgewiesen werden konnte, daneben natürlich Chlorionen. Nach diesem Befunde mußte es möglich sein, den Nachweis direkt zu führen, daß bei der Umsetzung von Hämin mit neutralem Natriumcarbonat saures Carbonat entstanden ist, wie von vornherein anzunehmen war, zugleich sollte festgestellt werden, in welchem molaren Verhältnis die Umsetzung vor sich ging.

Versuch 2. 4 g Hämin wurden mit 12,25 ccm N.-Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> und 187,75 ccm Wasser 8 Stunden lang geschüttelt, dann wurde filtriert und mit etwas Wasser nachgespült. Es zeigte sich, daß 2 g Hämin ungelöst geblieben waren, die alsdann durch weitere 12,25 ccm N.-Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> und der entsprechenden Wassermenge glatt in Lösung gingen. Nach diesem orientierenden Versuch schien sich ein Grammolekül Hämin mit 4 l N.-Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, d. h. mit 2 Molekülen Soda umzusetzen, da sich 2 : 12,25 verhält wie 651,5 : 3990. Weitere Versuche zeigten, daß eine glatte Umsetzung nicht oder nur schwierig zu erzielen ist.

Versuch 2a. Bei einstündigem Schütteln von 1,93 g Acet-hämin mit 12 ccm N.-Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> und 200 ccm Wasser blieben 0,5 g Hämin unverändert zurück, wie eine Betrachtung unter dem Mikroskop ergab; da aber andererseits auch noch neutrales Carbonat vorhanden war, hatte die einstündige Digestion nicht genügt, um vollständige Umsetzung zu erreichen.

Versuch 2b. Bei achtstündigem Schütteln von 2,0055 g Acethämin mit 12,2 ccm N.-Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> und 200 ccm Wasser blieben 0,35 g Hämin ungelöst, das Filtrat enthielt kein neutrales Carbonat. Nach allem findet die Umsetzung zwischen Hämin und Soda jedenfalls nicht nach der Gleichung:



statt, es genügen vielmehr bereits etwa 2<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Molekeln. Da nun Dehydrochloridhämin zwei Molekeln erfordert, ist der Grund für das beobachtete Verhalten wahrscheinlich in der nicht quantitativ erfolgenden Loslösung des Chlors zu suchen.

Die bei Versuch 2 erhaltene Lösung wurde der Dialyse gegen 200 ccm Wasser unterworfen, wobei im besten Fall,

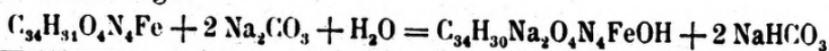
d. h. wenn alles Natriumcarbonat in das saure Salz übergegangen wäre, etwa 0,25 g des letzteren im Außenwasser zu erwarten wären<sup>1)</sup>. Es konnte sich dasselbe also einer etwa 0,1<sup>0</sup>/<sub>10</sub> igen Lösung von saurem Natriumcarbonat gleich verhalten, was nach eintägiger Dialyse in der Tat der Fall war. Das gleiche Verhalten wurde bei Versuch 2b beobachtet, d. h. das Außenwasser reagierte alkalisch gegen Methylrot, dagegen nicht mit Phenolphthaleïn, ferner gaben 180 ccm desselben mit 20 ccm Gipswasser nach 20 Stunden keine Trübung bei Zimmertemperatur, wohl aber beim Erhitzen, während bei Versuch 2a eine Rotfärbung durch Phenolphthaleïn und deutliche Trübung auf Zusatz von Gipswasser eintrat.

Nach weiterer dreitägiger Dialyse reagierte das Außenwasser auch bei Versuch 2 alkalisch, auf welche Beobachtung ich noch zurückkommen werde.

Eine zweite Versuchsreihe wurde mit Dehydrochloridhämïn ausgeführt, das sich wie auch das Hämïn<sup>2)</sup> in saurem Natriumcarbonat und zweifach saurem Natriumphosphat nicht auflöst.

Versuch 3a. 2 g Dehydrochloridhämïn wurden mit 13 ccm N.-Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (= 2 Mol) und 200 ccm Wasser 4 Stunden geschüttelt,<sup>3)</sup> wonach vollständige Lösung eingetreten war. dieselbe reagierte schwach alkalisch. (Lackmus.)

Versuch 3b. 2 g Dehydrochloridhämïn wurden mit 6,5 ccm N.-Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (= 1 Mol) und 200 ccm Wasser 6 Stunden geschüttelt;<sup>4)</sup> die Substanz war nicht vollständig in Lösung gegangen, nach dem Filtrieren durch ein extrastarkes Filter hinterblieb etwa 1 g. Demnach erfolgt die Umsetzung nach der Gleichung:



<sup>1)</sup> Vorhanden waren 0,65 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> = 0,5 g NaHCO<sub>3</sub>, wovon die Hälfte übertreten konnte; unberücksichtigt bleibt dabei, daß sich das Volumen des Außenwassers durch Übertritt eines kleinen Teils in den Inhalt des Dialysiergefäßes vermindert hatte und daß es Chlornatrium enthielt.

<sup>2)</sup> Auch das Chlor des Hämïns wird weder durch NaHCO<sub>3</sub> noch durch KHCO<sub>3</sub> herausgenommen.

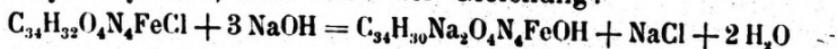
<sup>3)</sup> Zimmertemperatur 22<sup>o</sup>.

<sup>4)</sup> Zimmertemperatur 18<sup>o</sup>.

Nach eintägiger Dialyse gegen 200 ccm Wasser zeigte die Außenflüssigkeit das gleiche Verhalten wie eine 0,06%ige Lösung von saurem Natriumcarbonat, vor allem reagierte sie gegen Phenolphthalein nicht alkalisch; da die Innenflüssigkeit eine solche Reaktion wenn auch schwach aufwies, darf wohl angenommen werden, daß das Dinatriumsalz des Hämatins hydrolytische Spaltung erleidet.

II. In einer zweiten Versuchsreihe wurden die Umsetzungen mit Ätzalkalien untersucht.

A. Hämin setzt sich mit 3 Molekeln Kalium- oder Natriumhydroxyd um, also nach der Gleichung:



a) 1,995 g Acethämin wurden mit 9,45 ccm N.-NaOH (ber. 9,2 ccm für 3 Mol) und 200 ccm Wasser eine Stunde geschüttelt; die erhaltene Lösung filtrierte ohne Rückstand zu hinterlassen, das Filter wurde ausgewaschen und das Gesamtfiltrat gegen 300 ccm Wasser dialysiert; nach 21 Stunden enthielt das Außenwasser freies Alkali, daneben Chlorionen. Nachdem einen weiteren Tag gegen frisches Wasser dialysiert worden war, konnte eine alkalische Reaktion nicht mehr festgestellt werden, wohl aber war noch Cl<sup>-</sup> vorhanden, und es dauerte überhaupt auch praktisch unendlich lange, bis das Außenwasser mit Silbernitrat eine sichtbare Reaktion nicht mehr ergab. Vielleicht läßt sich der Befund so deuten, daß die dem in sehr geringer Menge vorhandenen überschüssigen Natriumhydroxyd entsprechenden Hydroxylionen sich mit den Hydroxylionen ins Gleichgewicht setzen, die sich aus der hydrolytischen Spaltung des Dinatriumhämatinats ergeben, wahrscheinlich spielt aber auch das Vorhandensein von Chlornatrium, dessen Menge bei diesem und dem folgenden Versuch das Dreifache vom Überschuß des Natriumhydroxyds betrug, eine Rolle, wenigstens wurden beim Hämatin etwas andere Resultate erhalten.

b) 1,982 g Acethämin wurden mit 9,24 ccm N.-NaOH (ber. 9,1 ccm) und 200 ccm Wasser  $\frac{3}{4}$  Stunden geschüttelt, wodurch vollständige Lösung erzielt worden war. Die Lösung wurde 24 Stunden gegen 400 ccm Wasser dialysiert; das Außenwasser reagierte jetzt alkalisch (Phenolphthalein) und erforderte

1,4 ccm  $\frac{1}{10}$  N.-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> zur Neutralisation, eine Menge, die — vielleicht zufällig — grade dem verwendeten Überschuß entsprach.

c) Bei einem dritten Versuch mit 1,980 g Acethämin wurde ein etwas größerer Überschuß von N.-Alkali verwendet, 9,64 statt 9,11 ccm, hier war nach eintägiger Dialyse nicht die ganze Menge, aber doch mehr als die Hälfte desselben in das Außenwasser getreten, es wurden 3,8 ccm  $\frac{1}{10}$  N.-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> verbraucht.

Leider erwies sich das Dialysat am zweiten Tage gefärbt, die Membran war undicht geworden.

Der Versuch, ein Dinatriumsalz des Hämatins in fester Form zu erhalten, führte bisher nicht zum Ziel.

B. Dehydrochloridhämin setzt sich mit zwei Molekeln Alkalihydroxyd um

a) 2 g wurden mit 3,25 ccm N.-KOH (ber. 6,5) und 200 ccm Wasser 6 Stunden geschüttelt, es war nicht alles in Lösung gegangen, und zwar betrug der Rückstand etwa 1 g, von dem sich ein Teil nicht sogleich, sondern erst nach längerem Stehen des ersten Filtrats abgesetzt hatte.

b) Ein zweiter Versuch bestätigte das zuerst erhaltene Resultat, vermöge eines dichteren Filters wurde hier die ganze Menge des nicht gelösten Farbstoffs sogleich zurückgehalten.

c) Bei einem dritten Versuch wurden 2 g Dehydrochloridhämin mit der zwei Molekeln entsprechenden Menge (6,5 ccm) N.-Alkali und 200 ccm Wasser 6 Stunden geschüttelt, wonach sich der Farbstoff restlos gelöst hatte.

C. Hämatin dürfte sich dem Dehydrochloridhämin analog verhalten. Hier wurde der folgende Versuch gemacht:

1,0434 g Hämatin wurden in 4,13 ccm N.-NaOH und 200 ccm Wasser gelöst, die Lösung darauf gegen je 200 ccm Außenwasser dialysiert. In dieses waren nach 6 Stunden 0,46 ccm N.-Alkali, nach weiteren 20 Stunden 0,36 ccm N.-Alkali getreten, dann wurden nach sechstägiger Dialyse 0,23, 0,18, 0,195, 0,182, 0,14, 0,145 ccm N.-NaOH pro die in der Außenflüssigkeit gefunden, nach zwei weiteren Tagen noch 0,15 ccm. Im ganzen waren also nach 9 tägiger Dialyse 2,042 ccm N.-NaOH ausgetreten, während der Überschuß nur 0,84 ccm betrug (berechnet für die verwendete Hämatinmenge 3,29 ccm). Auch

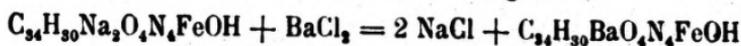
bei diesem Versuch ist bereits nach 6 Stunden mehr Alkali (0,46 ccm) ausgetreten, als der Hälfte des Überschusses (0,42 ccm) entsprach, nach eintägiger Dialyse befand sich bereits fast der ganze Überschuß im Außenwasser (0,82 von 0,84 ccm), nach 9tägiger Dialyse war endlich fast die Hälfte des überhaupt verwendeten Alkalis ausgetreten, dementsprechend stimmte die Analyse des aus der Innenflüssigkeit — sie war auf 235 ccm angewachsen — durch Eindampfen<sup>1)</sup> hergestellten Natriumsalzes ziemlich gut auf das Mononatriumsalz des Hämatins, das also auch in Lösung eine recht große Beständigkeit aufweist, während das zweite Natriumatom weitgehend hydrolytisch abspaltbar ist.

0,8511 g Substanz<sup>2)</sup> (100%) hinterließen 0,1820 g Gesamtasche, aus der 0,1026 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  und 0,0878 g NaCl hergestellt wurden, wonach die Asche aus  $0,1026 \text{ Fe}_2\text{O}_3 + 0,0797 \text{ g Na}_2\text{CO}_3 = 0,1823 \text{ g}$  insgesamt bestanden haben muß.

Berechnet für $\text{C}_{34}\text{H}_{31}\text{NaO}_4\text{N}_4\text{FeOH}$ :	Gefunden:
% Fe 8,55	8,44
% Na 3,51	4,05.

III. Eine dritte Versuchsreihe wurde mit Ammoniak ausgeführt, wobei sich zeigte, daß diese schwächere Basis sich auch weniger glatt umsetzt, da bei Anwendung der berechneten Menge (9,2 ccm N.- $\text{NH}_3$  auf 2 g Acethämin) immer wenn auch geringe Partikelchen des Farbstoffs ungelöst blieben. Nach der Dialyse war dann auch im Außenwasser freies Ammoniak durch Sublimat nachweisbar.

IV. Die Darstellung des Baryumsalzes erfolgte durch Fällung der Lösung des Natrium- oder Ammoniumsalmes mittels Chlorbaryum. Es ergab sich folgendes. 1. a) die frisch bereitete Lösung von 4 g Hämin in 400 g 0,2% iger Natronlauge (das bedeutet einen Überschuß von 0,063 g NaOH) wird durch 36,5 ccm einer 5,5% igen Lösung von  $\text{BaCl}_2 + 2 \text{H}_2\text{O} (= 2 \text{g})$ , welche Menge sich nach der Gleichung



berechnet, glatt gefällt. Das klare Filtrat enthält etwas Ba; b) die

<sup>1)</sup> Durch Alkohol konnte eine Fällung nicht erzielt werden.

<sup>2)</sup> Im ganzen waren 1,092 g des Hämatinnatriums erhalten worden.

wie bei a) bereitete Lösung des Hämatinnatriums, acht Tage aufbewahrt, wird erst durch 225 ccm obiger Chlorbaryumlösung gefällt, das Filtrat ist zunächst trübe, erst allmählich wird es klar, in mehreren Fällen wurde eine alkalische Reaktion desselben festgestellt. Der feuchte Niederschlag geht beim Auswaschen in kolloide Lösung, man kann ihn aber chlorfrei waschen, sobald er auf dem Filter lufttrocken geworden ist.

2. Auf die Zusammensetzung des erhaltenen Baryumsalzes scheint das Aufbewahren der Lösung keinen Einfluß zu haben, dagegen dürfte die Konzentration<sup>1)</sup> der Lösung insofern sich geltend machen, als ein Baryumsalz mit höherem Gehalt an Metall erhalten wird, wenn aus stark verdünnter Lösung gefällt wird.

3. Beim Auswaschen des feuchten Baryumsalzes mit Calciumacetatlösung wird Baryum durch Calcium verdrängt<sup>2)</sup>.

Versuch 1. 2.2 g Baryumsalz aus der Lösung von 2 g Hämin in 9,2 ccm N.-KOH + 500 ccm gefällt durch 18,5 ccm der erwähnten Chlorbaryumlösung + 181,5 ccm Wasser, chlorfrei gewaschen, ohne daß sich kolloide Lösung einstellt, auf Fließpapier, im Vakuum und bei 100° getrocknet.

0,6452 g Substanz gaben 0,1831 g Gesamtasche,<sup>3)</sup> hieraus 0,1576 g BaSO<sub>4</sub> und 0,0718 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

Versuch 2. Die Lösung von 1,98 g Hämin in einem kleinen Überschuß von KOH und 200 ccm Wasser wird 2 Tage dialysiert, zum Fällern sind 65 ccm obiger Chlorbaryumlösung nötig, der Niederschlag wird chlorfrei gewaschen, nachdem er lufttrocken geworden war, das Trocknen erfolgt wie angegeben. Ausbeute 2,3 g.

0,727 g Substanz gaben: 0,1795 g BaSO<sub>4</sub> und 0,0777 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

Versuch 3. 1,978 g Hämin wurden in einem geringen Überschuß von N.-NH<sub>3</sub> + 200 ccm Wasser gelöst, die Lösung

<sup>1)</sup> Beim Calciumsalz wurde dies sicher festgestellt.

<sup>2)</sup> Vgl. Oechsner de Coninck, Einwirkung löslicher Körper auf unlösliche, Bull. Acad. roy. Belgique 1909, S. 295 u. 838; Chem. C.-B. 92, S. 1529.

<sup>3)</sup> Die Veraschung erfolgte stets mit dem Spiritusbrenner von Barthel, da bei Verwendung von Leuchtgas die Asche schwefelhaltig wurde und z. B. BaSO<sub>4</sub> enthielt.

wurde zwei Tage dialysiert, die Fällung verläuft wie bei 2. angegeben. Ausbeute nur 1,8 g, da beim Auswaschen Substanzverlust eintrat.

0,5200 g Substanz gaben 0,1214 g BaSO<sub>4</sub> und 0,0572 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

Berechnet für C <sub>34</sub> H <sub>30</sub> BaO <sub>4</sub> N <sub>4</sub> FeOH:	Gefunden:	1.	2.	3.
% Ba 17,88		14,38	14,53	13,74
% Fe 7,29		7,8	7,5	7,7

Versuch 4. Der aus der Lösung von 4 g Hämin in 400 ccm 0,2%ige Natronlauge durch 36,5 ccm Baryumchloridlösung gefällte Schlamm wird mit 1%iger Calciumacetatlösung chlorfrei, dann mit Wasser Ca-frei gewaschen, was sehr lange Zeit erfordert und wobei das Filtrat schließlich trüb wird. Die Ausbeute beträgt daher nur 3,8 g.

0,6886 g Substanz gaben 0,1388 g Gesamtasche, woraus 0,025 g BaSO<sub>4</sub>, 0,083 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> und 0,0445 g CaO<sup>1)</sup> erhalten wurden oder 2,14% Ba, 8,43% Fe und 4,62% Ca.

0,8142 g Substanz gaben 0,1635 g Gesamtasche und 0,0276 g BaSO<sub>4</sub>, 0,0942 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> und 0,0511 g CaO oder 2,0% Ba, 8,08% Fe und 4,49% Ca.

Da 4,5% Ca 15,46% Ba entsprechen, kommt hier der Gehalt an Erdalkalimetall (17,46) dem berechneten (17,88) sehr nahe, doch ist es wahrscheinlich nicht ganz gelungen, das Salz vom anhängenden Ca zu befreien.

V. Bei der Darstellung des Kalksalzes wurden die gleichen Erfahrungen wie bei der des Baryumsalzes gemacht, der günstige Einfluß großer Verdünnung konnte hier sichergestellt werden, der theoretisch berechnete Wert (6,3% Ca) wurde nur einmal erreicht und zwar bei Verwendung von Dehydrochloridhämin.

Versuch 1. Die aus 1,995 g M.-Hämin, 9,2 ccm N.-KOH und 300 ccm Wasser bereitete und filtrierte Lösung wurde in 200 ccm einer Calciumchloridlösung eingetragen, die einen großen Überschuß (3 g statt 0,37 g) des Salzes enthielt. Das Filtrat war klar, reagierte nicht alkalisch, das Auswaschen des

<sup>1)</sup> Das Baryum wurde aus der stark verdünnten salzsauren Lösung der Asche durch H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, alsdann das Eisen gleichfalls aus stark verdünnter Lösung durch Ammoniak, das Calcium schließlich durch Ammoniumoxalat gefällt. Der Niederschlag vom Eisenhydroxyd wurde nochmals in HCl gelöst und erneut gefällt, das Filtrat enthielt Spuren von Calcium.

Niederschlag ließ sich glatt bewerkstelligen, er wurde dann auf Fließpapier und im Vakuum getrocknet. Ausbeute 2,1 g.

0,4425 g Substanz (100%, das getrocknete Salz ist hygroskopisch) gaben 0,0857 g Gesamtasche, woraus 0,0544 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  und 0,0360 g CaO erhalten wurden. <sup>1)</sup> Die Fällung des Eisens war zweimal ausgeführt worden. <sup>2)</sup>

Versuch 2. Die Lösung von 1,999 g M.-Hämin in 9,2 ccm N.-NaOH + 250 ccm Wasser wurde durch 30 ccm 10%ige  $\text{CaCl}_2$ -Lösung bewirkt, der Verlauf unterscheidet sich nicht von dem beim ersten Versuch geschilderten. Ausbeute 2,2 g.

0,5463 g Substanz gaben 0,0985 g Gesamtasche, hieraus 0,0645 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  und 0,0415 g CaO. <sup>1)</sup>

Berechnet für $\text{C}_{24}\text{H}_3\text{CaO}_4\text{N}_4\text{FeOH}$ :	Gefunden:	1.	2.
% Ca	6,30	5,81	5,43
% Fe	8,9	8,6	8,27.

Versuch 3. Der noch feuchte Schlamm des Calciumsalzes aus 4 g M.-Hämin wird durch 1%ige Baryumacetatlösung chlorfrei gewaschen, die Entfernung des Ba" gelingt gut. Ausbeute 3,5 g.

1,4611 g Substanz gaben 0,4043 g Gesamtasche, woraus 0,2901 g  $\text{BaSO}_4$ , 0,0177 g CaO und 0,1549 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  hergestellt werden. das Salz enthielt demnach: 11,68% Ba, 0,866% Ca und 7,4% Eisen.

Da 0,866% Ca = 2,92% Ba zu setzen sind, würde auch hier das Gesamterdalkalimetall = 14,6% sein.

4. Versuch. Die filtrierte Lösung von 2 g Dehydrochloridhämin in 8 ccm N.-KOH + 500 ccm Wasser wurde einen Tag dialysiert, dann mit Calciumchloridlösung gefällt. Ausbeute 2 g.

0,249 g Substanz gaben 0,515 g  $\text{CO}_2$ , 0,109 g  $\text{H}_2\text{O}$  und 0,049 g Asche, die keine  $\text{CO}_2$  enthält und aus der 0,030 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  und 0,0190 g CaO erhalten wurden.

5. Versuch. Die Darstellung erfolgte wie bei 4. angegeben, es wurden jedoch nur 7 ccm N.-KOH verwendet. Das Dehydrochloridhämin war aus Mörner-Hämin gewonnen. Ausbeute 2,1 g.

0,2075 g Substanz gaben 0,4405 g  $\text{CO}_2$ , 0,090 g  $\text{H}_2\text{O}$ , 0,0264 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  und 0,018 g CaO.

<sup>1)</sup> Da die Gesamtasche in beiden Versuchen ein geringeres Gewicht hat, als die Summe des erhaltenen  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  + CaO beträgt, ist wohl anzunehmen, daß sie ein niederes Oxyd des Eisens ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) enthalten hat.

<sup>2)</sup> Vgl. S. 199. Anm.

Berechnet für $C_{34}H_{30}CaO_4N_4FeOH$ :	Gefunden:	4.	5.
° C 58,1		56,4	57,89
° H 4,8		4,89	4,85
° Fe 8,9		8,4	8,8
° Ca 6,3		5,4	6,2

VI. Ein Silbersalz des Hämatins habe ich bereits vor 11 Jahren einmal aus einer dialysierten Lösung von Hämin in Natronlauge hergestellt und bei der Analyse folgende Werte erhalten:

0,2793 g Substanz (100°) gaben 0,4830 g  $CO_2$ , 0,1045 g  $H_2O$  und 0,0888 g Rückstand <sup>1)</sup> = 47,16% C und 4,16% H und 31,7% Gesamtasche.

Mit den nach der Formel  $C_{34}H_{30}Ag_2O_4N_4FeOH$  bezeichneten Werten:

48,17% C, 3,66% H, 25,5% Ag und 6,61% Fe und N stimmt der aufgefundene Gehalt nicht völlig überein, und es ist uns auch noch immer nicht gelungen, ein nach jener Formel zusammengesetztes Silbersalz zu erhalten. Die besten Resultate ergeben sich bei Verwendung von Dehydrochloridhämin, während eine Lösung von Hämin in drei Molekeln Alkali, nachdem sie anscheinend bis zum Verschwinden der Chlorionen dialysiert worden war, Salze mit sehr wechselndem Gehalt an Silber lieferte. Was hierbei alles eine Rolle spielt, ist aufzuklären noch nicht völlig gelungen, sicher ist, daß durch die lange Dialyse Alkali austritt, während immer noch Chlor zurückgehalten wird; die alsdann hergestellten Salze enthalten viel zu wenig Silber und daneben Chlorsilber, ferner spielt hier die Konzentration eine Rolle. Hämin kann also überhaupt nicht zur Darstellung eines Silbersalzes des Hämatins verwendet werden. Ferner ist aber hier im Gegensatz zu den bei der Herstellung des Baryumsalzes gemachten Erfahrungen die Dauer des Verweilens des Farbstoffes in der alkalischen Lösung von Einfluß. Nicht dialysierte, aber längere Zeit aufbewahrte Lösungen von

<sup>1)</sup> Die Trennung des Rückstandes mißglückte, weil nicht berücksichtigt wurde, daß sich  $Ag + FeCl_3$  möglicherweise in  $AgCl$  und  $FeCl_2$  umsetzt, wonach das Chlorsilber von der Salzsäure gelöst wurde, worauf mich Prof. Weinland in Tübingen aufmerksam zu machen die Freundlichkeit hatte. Von der Asche wurden damals 0,0675 g in  $HCl$  unlöslich befunden, was 24,16% Ag entsprechen würde, wahrscheinlich enthielt die Asche auch noch etwas Chlorsilber.

Dehydrochloridhämin in zwei Molekeln Alkali geben Silbersalze mit bedeutend geringerem Silbergehalt, als diejenigen aufwiesen, welche aus der frisch bereiteten Alkalifarbstofflösung gefällt wurden; dagegen scheint bei den nicht dialysierten Lösungen die Konzentration keinen Einfluß zu haben: damit überhaupt eine Fällung eintritt, muß aber auch hier wie bei den Erdalkalisalzen ein Überschuß von Silbernitrat zugesetzt werden, beim Auswaschen der Silbersalze wurde dagegen die Bildung kolloider Lösungen nicht beobachtet. Die Ursache für diese Erscheinungen ist wohl zweifellos in einer allmählich eintretenden Zurückdrängung des Dispersitätsgrades zu suchen, auch das Alkalimetall ist schließlich nicht mehr als Ion vorhanden und hierdurch die Umsetzung mit dem Elektrolyten erschwert. Der endlich entstandene Niederschlag dürfte aber doch kein Kalium oder Natrium enthalten, das geht aus den Aschenanalysen wenigstens der II. Reihe unserer Versuche hervor.

Die Eigenschaften der Silbersalze weichen erheblich von denen der Erdalkaliverbindungen ab, sie sind nicht nur in Ammoniak, sondern auch in Laugen löslich,<sup>1)</sup> die Herausnahme des Silbers durch Säuren ist kaum zu erreichen, jedenfalls findet dabei auch eine Loslösung des Hämatineisens statt, alles spricht dafür, daß das Silber ebenso oder nahezu so fest gebunden ist wie dieses, daß wir es also mit einem komplexen Salz zu tun haben.

#### I. Reihe (nach Versuchen von Herrn F. Lacour).

1. 2 g Dehydrochloridhämin wurden in der berechneten Menge (6,5 ccm N.-KOH + 200 ccm Wasser) durch sechsstündiges Schütteln gelöst, die Lösung filtriert und mit 1%iger Silbernitratlösung gefällt. Der Niederschlag wurde Ag-frei gewaschen, zwischen Fließpapier und im Vakuum getrocknet. Ausbeute 2,5 g.

<sup>1)</sup> Namentlich in der Wärme, diese Lösungen sind undurchsichtig und erscheinen im auffallenden Licht grünlich, im durchfallenden braun. Zusatz von Schwefelwasserstoff erzeugt sofort einen Niederschlag von Schwefelsilber, durch Säuren findet eine Fällung statt, hierbei dürfte aber auch etwas Silber abgegeben werden. Beim Auswaschen des noch feuchten Silbersalzes mit Baryumacetatlösung konnte dagegen im Filtrat Silber nicht nachgewiesen werden.

0,2878 g Substanz geben 0,488 g  $\text{CO}_2$ , 0,099 g  $\text{H}_2\text{O}$  und 0,1028 g Asche = 46,24% C, 3,8% H und 35,7% Asche. Letztere gab an heiße konzentrierte Salzsäure Silber und Eisen ab, der Rückstand in Salpetersäure gelöst und durch Salzsäure gefällt (gef. 0,0385 g  $\text{AgCl}$ ) entsprach 10,07% Ag

Die salzsaure Lösung gab beim

Verdünnen mit Wasser: 0,0515 g  $\text{AgCl}$  = 13,47% Ag

Durch Fällung mit Ammoniak: 0,028 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  =  $\frac{9,71\%}{6,8\%} \text{Fe}_2\text{O}_3$  = 6,8% Fe  
Summe 33,25.

Da 6,8 : 13,47 sich verhält wie 56 : 111, ist fast genau 1 Atom Silber auf 1 Atom Eisen gelöst worden, was dafür spricht, daß hier eine Umsetzung im Sinne der Gleichung:  $\text{Ag} + \text{FeCl}_3 = \text{AgCl} + \text{FeCl}_2$  eingetreten ist.

2. Die Lösung des aus Dehydrochloridhämין bereiteten Hämatinkaliums war hier einige Tage aufbewahrt worden, eine Dialyse hatte nicht stattgefunden, im übrigen war die Darstellung des Silbersalzes wie bei 1. geschildert gehandhabt worden.

0,1475 g Substanz gaben 0,2765 g  $\text{CO}_2$ , 0,0565 g  $\text{H}_2\text{O}$  und 0,0465 g Gesamtasche = 51,8% C, 4,28% H und 31,53% Asche.

Die Aufarbeitung der letzteren lieferte aus dem in HCl nicht löslichen Rückstande 0,0065  $\text{AgCl}$ , aus der salzsauren Lösung 0,0245  $\text{AgCl}$  und 0,0160  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  oder 3,3 + 12,5 = 15,8% Ag und 7,58% Fe.

3. Die Lösung des Hämatinkaliums war 9 Tage aufbewahrt worden.

0,3573 g Substanz gaben 0,6445 g  $\text{CO}_2$ , 0,116 g  $\text{H}_2\text{O}$  und 0,1018 g Asche = 49,1% C, 3,6% H und 28,49% Asche, aus der wie angegeben 0,0300 + 0,0421 g  $\text{AgCl}$  sowie 0,0352 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  erhalten wurden = 16,21% Ag und 6,89% Fe.

4. Ein wesentlich günstigeres Resultat in bezug auf die Zusammensetzung des gefällten Silbersalzes wurde erhalten, als eine Lösung von 2 g Dehydrochloridhämין in einem kleinen Überschuß von N.-KOH (7 ccm) + 500 ccm Wasser 36 Stunden dialysiert und der filtrierte Inhalt des Dialysators mit 1%iger Silbernitratlösung gefällt wurde. Ausbeute 2,3 g.

0,2363 g Substanz geben 0,408 g  $\text{CO}_2$ , 0,0795 g  $\text{H}_2\text{O}$  und 0,795 g Asche, aus der 0,0337 + 0,0454 g  $\text{AgCl}$  und 0,0238 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  erhalten wurden.<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Hier ist die Menge der Gesamtasche geringer wie die Summe des Silber- + Eisenoxyd, vielleicht enthielt jene also  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ .

Der günstige Ausfall dieser Bestimmung veranlaßte mich vor einem

Berechnet für		
$C_{34}H_{30}Ag_2O_4N_4FeOH$ :	$C_{34}H_{30}Ag_2O_4N_4FeOH + H_2O$ :	Gefunden:
° C 48,17	47,17	47,09
° H 3,66	3,81	3,76
° Ag 25,5	24,97	25,1
° Fe 6,61	6,47	7,0

## II. Reihe (eigene Versuche, die Analysen sind zum großen Teil von Herrn J. Eppler ausgeführt).

A. Aus diesen Versuchen geht zunächst einmal hervor, daß Hämin für die Herstellung des Hämatinsilbers ganz ungeeignet ist, denn die erhaltenen Salze erwiesen sich trotz tagelang fortgesetzter Dialyse als chlorhaltig, ferner beeinflusste die Konzentration der benutzten Silbernitratlösung die Zusammensetzung der Fällungen, während die Dauer der Dialyse scheinbar keine Rolle spielt.

1. Die Lösung von 2 g Acethämin in 9,2 ccm N.-NH<sub>3</sub> + 200 ccm Wasser wurde 7 Tage lang gegen je 200 ccm Wasser dialysiert, alsdann mit 10 %iger Silbernitratlösung gefällt. Ausbeute 1,7 g im Vakuum getrocknet.

0,2401 g Substanz (110°): 0,5431 g CO<sub>2</sub>, 0,1048 g H<sub>2</sub>O, 0,0325 g Asche, hieraus 0,0034 g AgCl, 0,0313 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
= 60,15% C, 4,78% H, 13,53% Asche, hierin 1,34% Ag, 9,12% Fe.

0,4858 g Substanz (110°): 0,0615 g Asche = 12,66%,  
hieraus 0,0062 g AgCl, 0,0657 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 0,91% Ag, 9,46% Fe.

2. Die Lösung von 1,9075 g Acethämin in 9,2 ccm N.-NH<sub>3</sub> + 200 ccm Wasser wurde 7 Tage dialysiert, die Fällung wurde mit 1 %iger Silbernitratlösung ausgeführt. Ausbeute: 1,5 g im Vakuum getrocknet.

0,2561 g Substanz (110°): 0,4727 g CO<sub>2</sub>, 0,0890 g H<sub>2</sub>O u. 0,0730 g Asche, hieraus 0,0561 g AgCl und 0,0286 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
= 50,34% C, 3,88% H, 28,5% Asche, hierin 16,5% Ag und 7,8% Fe.

0,4612 g Substanz (110°): 0,1294 g Gesamtasche = 28,06%,  
hierin 14,31% Ag (?) und 8,14% Fe (0,0876 g AgCl und 0,0536 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>).

Jahre (diese Zeitschrift Bd. LIX, S. 65 (1909)) zu der Bemerkung, daß es uns gelungen sei, beim Hämatin die Bedingungen zu ermitteln, unter denen normale Salzbildung erfolgt, leider wurde bei der Fortsetzung der Versuche ein entsprechendes Resultat nicht wieder erhalten.

0,2060 g Substanz (110°) durch Salpetersäure im Rohr zerstört bei 130°: 0,0045 g AgCl (direkt abgeschieden), 0,0402 g AgCl (auf Zusatz von HCl) und 0,0213 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 1,6 + 14,69 = 16,29% Ag und 7,8% Fe, außerdem 0,54% Chlor.<sup>1)</sup>

3. Die Lösung von 1,995 g Acethämin in 9,45 ccm N.-KOH + 200 ccm H<sub>2</sub>O wurde zwei Tage dialysiert, dann trat in das Außenwasser scheinbar Cl' nicht mehr über<sup>2)</sup>. Die Fällung wurde mit einer 10%igen Lösung von AgNO<sub>3</sub> ausgeführt.

0,1851 g Substanz (110°): 0,3796 g CO<sub>2</sub>, 0,0743 g H<sub>2</sub>O u. 0,0307 g Asche, hieraus 0,0056 g AgCl und 0,0224 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (?)

= 55,93% C, 4,49% H u. 16,58% Asche, hierin 2,28% Ag u. 8,43% Fe (?).

0,7191 g Substanz (110°): 0,1130 g Gesamtasche = 15,71%.

hieraus 0,0240 g AgCl und 0,0938 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 2,51% Ag und 9,13% Fe.

0,2112 g Substanz (110°): 0,0088 g AgCl und 0,0270 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

= 1,03% Cl, 3,14% Ag und 8,95% Fe.

4. Ein wie bei 3 angegeben hergestelltes Silbersalz ergab auch ähnliche Werte.

0,3178 g Stbst. (110°): 0,6976 g CO<sub>2</sub>, 0,1364 g H<sub>2</sub>O u. 0,0585 g Asche (CuO-haltig).

hieraus 0,0128 g AgCl und 0,0405 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

= 59,87% C, 4,81% H, 3,03% Ag, 8,95% Fe.

0,3078 g Substanz (110°): 0,0100 + 0,0009 g AgCl und 0,0394 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

= 0,8% Cl, 2,67% Ag und 8,96% Fe.<sup>3)</sup>

B. 1. 1 g Dehydrochloridhämin wurde in 3,25 ccm N.-KOH + 300 ccm Wasser gelöst, die filtrierte Lösung in 100 ccm einer 0,602%igen Silbernitratlösung eingetragen, die entstandene Fällung ließ sich klar filtrieren und Ag' frei waschen.<sup>4)</sup> Ausbeute 1,2 im Vakuum getrocknet.

<sup>1)</sup> Es ist hierbei daran zu erinnern, daß das Chlor durch eine einmalige Behandlung mit Laugen aus dem Hämin schwer herausgenommen wird; aus meinen Versuchen dürfte hervorgehen, daß das Chlor vom Farbstoff nicht abgetrennt wird, man ist versucht, den Vorgang mit der Bildung des Eisenoxychlorids zu vergleichen, dessen Lösung keine Chlorionen enthält.

<sup>2)</sup> Chlorbestimmungen im Außenwasser zeigten alsdann, daß doch noch nicht alles Chlor' ausgetreten war, es enthielt nach 24 Stunden 0,06804 g Cl', nach 48 Stunden noch 0,0231 g Cl', zusammen also 0,09114 g, während 0,1050 g vorhanden waren.

<sup>3)</sup> Nach der Veraschung von 0,4640 g des Salzes, wobei 0,0729 g Gesamtasche = 15,5% erhalten worden waren, betrug der wasserlösliche Teil der Asche 0,0010 g.

<sup>4)</sup> Im Filtrat waren noch 0,1165 g AgNO<sub>3</sub> vorhanden, es sind also nur 0,4855 g anstatt 0,508 g, wie berechnet, umgesetzt worden.

0,4690 g Substanz (100°): 0,1498 g Gesamtasche = 31,85%,  
 hieraus 0,1315 g AgCl und 0,0500 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
 = 21,11% Ag und 10,7% Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> oder 7,46% Fe.

Die folgenden Versuche zeigen, daß bei nicht dialysierten Lösungen der Einfluß der Konzentration der fällenden Lösung kaum in Betracht kommt.

2. 2,01 g Dehydrochloridhämין wurden in der berechneten Menge N.-KOH + 200 ccm Wasser gelöst und dann 1,114 g Silbernitrat in 11 ccm Wasser gelöst hinzugefügt.

0,2574 g Substanz (100°): 0,4496 g CO<sub>2</sub>, 0,0931 g H<sub>2</sub>O u. 0,0813 g Asche,  
 hieraus 0,0788 g AgCl u. 0,0259 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 47,67% C, 4,04% H, 33,5% Asche,  
 hierin 23,03% Ag und 10,1% Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 7,07% Fe.

0,6079 g Substanz (100°): 0,2045 g Asche = 33,64%, hieraus 0,1887 g AgCl  
 und 0,0582 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 23,36% Ag und 9,57% Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 6,7% Fe.

3. Die Lösung von 1,05 g Dehydrochloridhämין in der berechneten Menge N.-KOH + 200 ccm Wasser wurde in 20% ige Silbernitratlösung eingetragen.

0,5608 g Substanz (100°): 0,1887 g Asche = 33,65%, hieraus 0,1742 g AgCl  
 und 0,0538 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 22,85% Ag und 9,59% Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 6,71% Fe.

C. Die nächsten Versuche wurden mit Hilfe von Silbersulfat ausgeführt. Es wurde eine Lösung von 3 g Dehydrochloridhämין in 9,75 ccm N.-NaOH + 450 ccm Wasser bereitet, hiervon wurden 300 ccm sogleich nach der Filtration, nachdem noch mit 100 ccm Wasser nachgewaschen worden war, durch eine Lösung von 1,2 g Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in 240 ccm Wasser gefällt,<sup>1)</sup> aus dem übrigen Teil wurde nach dreitägiger Aufbewahrung durch 0,8 g Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> das Silbersalz hergestellt. Beide Niederschläge ließen sich gut auswaschen, im Vakuum getrocknet wurden 2,6 resp. 1,3 g erhalten.

a) 0,6359 g Substanz (100°): 0,2092 g Asche, hieraus 0,1927 g AgCl  
 = 22,81% Ag.

b) 0,4980 g Substanz (100°): 0,1635 g Asche, hieraus 0,1468 g AgCl  
 und 0,0471 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 32,85% Asche, 22,19% Ag, 9,46% Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 6,62% Fe.

Aus seiner Lösung in Ammoniak wird das Silbersalz durch verdünnte Salpetersäure nicht unverändert wieder ausgeschieden, vielmehr wird etwas Silber abgespalten. Ein

<sup>1)</sup> Diese Menge bedeutet einen kleinen Überschuß, der sich als nötig erwies, damit eine Fällung eintrat.

Silbersalz mit 19,9% Ag und 7,1% Fe (0,3302 Substanz (100<sup>o</sup>) geben 0,0874 AgCl, 0,0336 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) enthielt nach einer solchen Umfällung nur noch 17,93% Ag (0,3253 Substanz (100<sup>o</sup>) geben 0,0775 g AgCl).

Es mag noch bemerkt werden, daß das Silbersalz des Hämatins gegen Belichtung jedenfalls nicht stark empfindlich ist, doch wurde ein großer Teil der beschriebenen Präparate unter sorgfältigem Ausschluß von Licht hergestellt.

VII. Zur Darstellung des Ferrosalzes des Hämatins wurden 2,1 g Hämin in der berechneten Menge N.-NaOH + 500 ccm Wasser gelöst und die filtrierte Lösung durch 62 ccm einer <sup>1</sup>/<sub>10</sub> N.-Lösung von Mohrschem Salz (2 Moleküle) gefällt. Das vom Niederschlage klar abfließende Filtrat enthielt den Überschuß des Fällungsmittels, ersterer wurde auf Fließpapier, dann im Vakuum getrocknet.

0,6724 g Substanz (100<sup>o</sup>) gaben 0,1429 g Asche, durch Lösen in Salzsäure und Fällen mit Ammoniak wurden 0,1457 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> erhalten (die Asche bestand z. T. aus Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>).

0,2507 g eines 2. Präparats gaben 0,0535 g Asche, umgefällt 0,0554 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

Berechnet für C <sub>34</sub> H <sub>30</sub> FeO <sub>4</sub> N <sub>4</sub> FeOH:	Gefunden:
% Fe 16,3	15,16 15,47.

Das Ferrisalz wurde durch Umsetzung von Hämatinatriumlösung (<sup>1</sup>/<sub>2</sub>% ig) mit einem Überschuß von Ferrichlorid gewonnen:

0,1107 g Substanz (100<sup>o</sup>) gaben 0,0205 g Asche, umgefällt 0,0217 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
 0,4003 „ „ (100<sup>o</sup>) „ 0,0749 „ „ 0,0759 „ „

Berechnet für (C <sub>34</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub> N <sub>4</sub> FeOH) <sub>3</sub> Fe <sub>2</sub> :	Gefunden:
% Fe 13,96	13,71 13,26.

Beide Eisensalze lösen sich in Alkalien scheinbar glatt auf, was den Anschein erweckt, daß auch das auf die geschilderte Weise eingeführte Eisen komplex gebunden ist,<sup>1)</sup> es konnten z. B. 0,6459 g des Ferrosalzes in 10 ccm N.-NaOH + 250 Wasser (für ein Molekül NaOH berechnen sich 9,4 ccm) gelöst werden, bei der Dialyse traten allmählich 8,45 ccm N.-NaOH in das Außenwasser,<sup>2)</sup> wobei sich eine Abscheidung

<sup>1)</sup> Glycinkupfer löst sich in Natronlauge z. B. auch auf.

<sup>2)</sup> Nach 6 Stunden waren 21,1 ccm <sup>1</sup>/<sub>10</sub>-N.-NaOH, nach 8 Tagen je 22,45, 16,8, 7,5, 4,7, 4,39, 2,88, 2,28, nach zwei weiteren Tagen 2,4 ccm <sup>1</sup>/<sub>10</sub>-N.-NaOH ausgetreten.

von Ferrohydroxyd bemerkbar machte. Auch wird das eingeführte Eisen aus der alkalischen Lösung durch Schwefelammonium gefällt.

Daß aber das Eisen ebenso wie das Silber fester gebunden ist als z. B. die Erdalkalimetalle, geht aus dem Seite 211 beschriebenen Versuch hervor, wonach es durch Essigsäure wenigstens sehr viel schwieriger als jene herausgenommen wird.

VIII. Aus den beschriebenen Salzen das Hämatin wieder zu gewinnen, ist bisher nicht gelungen, da selbst verdünnte Essigsäure<sup>1)</sup> schon bei Zimmertemperatur Spuren von Eisen herauslöst, während das eingeführte Metall teilweise an der organischen Substanz haften bleibt. Danach wird die Festigkeit der Bindung des Eisens im Hämatin durch den Hinzutritt eines anderen Metalls vermindert, allerdings in verschiedenem Grade, Calcium und Baryum haben einen schwächeren Einfluß als Silber und wahrscheinlich auch als Eisen selbst. Aus den Silberverbindungen wird z. B. durch verdünnte Essigsäure auch bei höherer Temperatur nur Eisen weggenommen, während 10%ige Salzsäure bei 130° beide Metalle fast in äquivalenten Mengen, aber beide unvollkommen entfernt. Hiernach ist wohl die Annahme nicht ungerechtfertigt, daß auch das Silber komplex gebunden ist.

#### A. Versuche mit Essigsäure.

1. Ein Baryumsalz des Hämatins wird mit 10%iger Essigsäure solange (5 Tage) behandelt, bis auch in den konzentrierten Filtraten Ba" nicht mehr nachweisbar ist; hierbei zeigt sich, daß Spuren von Eisen mit in Lösung gegangen sind. Der alsdann veraschte Rückstand enthielt doch noch Baryum.

2. Auch bei erschöpfender Behandlung auf dem Wasserbade zeigte sich ähnliches. Zur Verwendung gelangte ein Baryumsalz mit 14,8% Ba und 7,5% Fe (0,4289 Substanz gaben 0,1081 g

<sup>1)</sup> Das Hämatin durch Kohlensäure aus den Lösungen seiner Alkalisalze wieder abzuschcheiden, ist nicht geglückt. Es muß allerdings noch unentschieden gelassen werden, ob Hämatin die stärkere Säure ist oder ob das frei gemachte Hämatin in kolloider Lösung geblieben ist.

Das auf S. 197 erwähnte Natriumsalz gab an 10%ige Essigsäure das Natrium ab, aber auch Spuren von Eisen.

BaSO<sub>4</sub> und 0,0461 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>); es konnten nun herausgelöst werden 14,2% Ba (0,4938 g Substanz gaben 0,1193 g BaSO<sub>4</sub>), während der Rückstand noch 0,9% Ba enthielt (0,2445 g gaben 0,0040 g BaSO<sub>4</sub>).

3. Das bei V 1 erwähnte Kalksalz mit 5,81% Ca und 8,6% Fe gab an Essigsäure nur ab 4,51% Ca, daneben 0,285% Fe (0,9820 g Substanz gaben 0,0620 g CaO und 0,004 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>). Der Rückstand enthielt noch Calcium und nur noch 8,02% Fe.

4. Das bei V 2 aufgeführte Kalksalz mit 5,43% Ca und 8,27% Fe gab an Essigsäure 4,93% Ca und 0,36% Fe ab (0,8810 g Substanz gaben 0,0607 g CaO und 0,0045 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>). Selbst 20%ige Essigsäure nimmt unter Druck nicht alles Baryum heraus, hierbei geht aber mehr Eisen in Lösung als bei gleicher Behandlung aus dem Hämatin.

5. 1,018 g Substanz wurde mit 15 ccm 20%iger Essigsäure im Rohr 4 Stunden bei 130° erhitzt; aus dem Filtrat lassen sich gewinnen 12,89% Ba (das Salz enthielt 13,74%), außerdem enthält es 0,00378 g Fe als Ferrosalz (durch Titration ermittelt), an den Wänden des Rohrs finden sich noch 0,00154 g Fe als Ferrioxyd abgesetzt. Diese Mengen entsprechen 0,52% Eisen oder 6,75% des vorhandenen Eisens, während Hämatin unter den gleichen Bedingungen nur 4,2% abgegeben hatte (vgl. Seite 186, I. 1).

6. 2,0 g eines Salzes mit 4,5—4,9% Ca, 2,3% Ba und 8,2% Fe gaben bei 7 stündigem Erhitzen im siedenden Wasserbade mit 50 ccm 10%iger Essigsäure in einer Druckflasche 4,29% Ca, 0,986% Ba und 0,49% Fe oder 5,93% des vorhandenen Eisens ab (erhalten: 0,0335 g BaSO<sub>4</sub>, 0,2916 g CaSO<sub>4</sub> und 0,0139 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>).

6a. Die weitere Behandlung von 1,4863 g des Restes mit 15 ccm 10%iger HCl im Rohr bei 130° während 3 Stunden, wobei sich Spuren von Hämatoporphyrin bilden, zeigt dann folgendes Resultat: es sind jetzt abgespalten 0,465% Ba, 0,12% Ca und 7,5% Fe. (Erhalten 0,0117 g BaSO<sub>4</sub>, 0,0060 g CaSO<sub>4</sub>, und 0,1603 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, oder auf 2 g umgerechnet 0,0158 BaSO<sub>4</sub>, 0,0081 CaSO<sub>4</sub>, 0,2157 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.)

7. Das bei IV 4 aufgeführte Salz mit 2,0—2,14% Ba, 4,5—4,6% Ca, 8,08—8,4% Fe spaltet durch 5% ige Essigsäure bei 130—140° in 3 Stunden ab: 1,61% Ba, 4,13% Ca, 0,26% Fe (1,1963 g Substanz, 20 ccm 5% ige Essigsäure, erhalten: 0,0327 BaSO<sub>4</sub>, 0,1680 CaSO<sub>4</sub>, 0,0046 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Hier sind also 3,2% des vorhandenen Eisens abgespalten worden, während Hämatin unter gleichen Bedingungen nur 0,37% seines Eisens abgegeben hatte (vgl. Abschnitt II I. 2. S. 186).

8. Das bei VI 2. Reihe 4 aufgeführte Sibersalz mit 16,4% Ag und 8% Fe gibt mit Essigsäure auf dem Wasserbade erhitzt kein Silber ab. Es werden nun 0,4376 g mit 10 ccm 10% iger HCl 3 Stunden auf 130° erhitzt, wonach sich im Filtrat finden 0,0120 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 0,0084 g Fe; da 0,035 g Fe vorhanden sind, wurden also 24% hiervon abgespalten, Hämatin gibt unter gleichen Bedingungen ca. 90% ab; die Anwesenheit des Silbers schützt demnach das Eisen vor dem Angriff durch die Salzsäure.

Dem mit verdünnter Salzsäure eisenfrei gewaschenen Rückstand, der in Ammoniak unlöslich ist, läßt sich durch dies Alkali das gebildete Chlorsilber entziehen, während das Silbersalz in Ammoniak löslich ist. Erhalten wurden 0,0228 AgCl, 0,01716 Ag; da 0,07177 g Ag vorhanden waren, sind also 23,9% desselben abgesplten worden. Es ist bemerkenswert, daß Silber und Eisen fast im Verhältnis ihrer Atomgewichte eliminiert worden sind (84 : 171,6 = 56 : 114).

8a. Bei erneutem 3stündigem Erhitzen von 0,3196 g des Rückstandes mit 10 ccm 10% iger HCl auf 130°, wobei sich Spuren von Hämatoporphyrin bilden, wurden erhalten: 0,0052 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 0,00364 Fe = 17,6% des noch vorhandenen Fe (0,0206 g) und 0,0105 AgCl = 0,0079 Ag = 18,06% des noch vorhandenen Ag (0,04236).

9. 0,271 g eines Silbersalzes mit 17,93% Ag und 6,6% Fe gaben bei 3stündigem Erhitzen auf 130—140° mit 20 ccm 5% iger Essigsäure nur 0,0036 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 0,00252 g Fe ab, aber kein Silber; da 0,0179 g Fe vorhanden, sind 14,1% desselben abgespalten worden, während Hämatin unter denselben Bedingungen nur 0,37% seines Eisens abgibt.

10. 0,6993 g des Ferrosalzes mit 15,16% Fe wurden mit 20 ccm 10%iger Essigsäure im siedenden Wasserbade in einer Druckflasche 7 Stunden erhitzt; erhalten 0,0070 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  = 0,0049 g Fe = 0,7%. Es wurden also nur 4,6% des vorhandenen Eisens (0,1061 g) abgespalten; da ein Baryumsalz sogar 5,93% unter gleichen Umständen abgegeben hatte, erweist sich also hier das eingeführte Eisen als ebenso fest gebunden wie das Hämatineisen.

10a. 0,6753 g des Rückstandes mit 0,0984 g Fe wurden jetzt mit 20 ccm 10%iger Essigsäure  $3\frac{1}{2}$  Stunde auf  $130^\circ$  erhitzt, wonach sich 0,0233 g Fe als abgespalten erwiesen (hier von 0,00175 g als Ferrioxyd an der Röhre abgesetzt, doch war auch das in der Flüssigkeit befindliche Eisen zum größten Teil in der Ferristufe vorhanden). Es sind demnach 23,7% des vorhandenen Eisens herausgenommen worden und zwar augenscheinlich vom Hämatineisen, es wurde also dasselbe Verhalten wie bei den Calcium-, Baryum- und Silbersalzen beobachtet: durch die Salzbildung wird die Bindung des Hämatineisens der Essigsäure gegenüber gelockert.

Es wird beabsichtigt, die Untersuchung der Salze des Hämatins zu vervollständigen und auf andere Metalle auszu-dehnen.

### Zusammenfassung.

1. Hämin und Hämatin sind in sauren Carbonaten und zweifachsauren Phosphaten unlöslich.
2. Bei der Umsetzung mit neutralem Carbonat wird Kohlendioxyd nicht frei, es bildet sich vielmehr saures Carbonat.
3. 1 Mol. Hämin setzt sich mit 2 bis  $2\frac{1}{2}$  Mol.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , aber mit 3 Mol. NaOH um. 1 Mol. Dehydrochloridhämin setzt sich mit je 2 Mol.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  und NaOH um.
4. Alkalische Lösungen des Hämatins können der Dialyse unterworfen werden, ohne daß Farbstoff austritt.
5. Das Dinatriumsalz des Hämatins gibt bei langer Dialyse ein Molekül NaOH an das Außenwasser ab.
6. Beim Aufbewahren der Lösungen von Alkalisalzen des Hämatins tritt Polymerisation ein, der Farbstoff befindet sich alsdann in kolloider Lösung.

7. Die mit Hilfe von  $\text{Ca}^{++}$  und  $\text{Ba}^{++}$  bewirkten Fällungen haben nicht die erwartete Zusammensetzung  $\text{C}_{34}\text{H}_{30}\text{MeO}_4\text{N}_4\text{FeOH}$ , die Werte für Ca und Ba kommen aber dem aus dieser Formel berechneten Prozentgehalt nahe.

8. Ähnliches gilt für das Ferro- und Ferrisalz, wie für das Silbersalz.

9. Zur Herstellung des Silbersalzes geht man am besten von der frisch hergestellten etwa 1%igen Lösung des Dehydrochloridhämins in zwei Molekeln Alkali aus.

10. Eisen und Silber erscheinen im Gegensatz zum Baryum und Calcium komplex gebunden.

11. Durch die Salzbildung wird die Bindung des Eisens im Hämatin gelockert.

#### 4. Abschnitt.

##### Die chemischen Beziehungen zwischen Hämin und Hämatin, und über das Brom-Hämin.

Über die chemischen Beziehungen zwischen den «Hämin» und «Hämatin» genannten Körpern habe ich zwar schon auf der Naturforscherversammlung zu Köln (1908) gesprochen; da die Verhandlungen aber nicht jedermann zugänglich sind und ein Referat des Vortrags nicht erschienen ist, sei es mir gestattet, zunächst meine Ausführungen zu wiederholen.

Das Hämoglobin (Hb) setzt sich bekanntlich aus zwei Bestandteilen zusammen, aus einer Eiweißart, dem Globin, und einem eisenhaltigen Stoff, der nur den  $\frac{1}{25}$  Teil des großen Moleküls ausmacht. Das Hämoglobin kann Sauerstoff aufnehmen und in Oxyhämoglobin ( $\text{Hb-O}_2$ ) übergehen; letztere Fähigkeit zeigt auch der (hypothetische) eisenhaltige Bestandteil des Hämoglobins, das Hämochromogen (Hchr.), wobei es in Hämatin übergeht. Da  $\text{Hb} + \text{O}_2 = \text{Hb-O}_2$ , müßte auch  $\text{Hchr.} + \text{O}_2 = \text{Ht}$  sein. Leider fehlen hierfür noch die experimentellen Beweise, denn es ist noch nicht gelungen, das Hchr. direkt aus Hb analysenrein zu gewinnen, und der aus Ht durch Reduktion hervorgehende Farbstoff hat zwar die Fähigkeit, Kohlenoxyd im richtigen Verhältnis — auf ein Atom Eisen kommt ein

Molekül CO — zu absorbieren, im reinen Zustande ist er bisher aber noch nicht erhalten worden.<sup>1)</sup>

Die herrschende Unsicherheit rührt also einmal davon her, daß man bei der Zersetzung des Hämoglobins wie des Oxyhämoglobins<sup>2)</sup> denselben eisenhaltigen Farbstoff erhält und zwar in Form des sogenannten Hämins, hauptsächlich aber hat sie ihren Grund darin, daß wir noch nicht sicher wissen, ob dieser Stoff nicht schon bei seiner Herstellung eine eingreifende Veränderung erleidet, so daß also die Eigenschaften des Präparates, das wir in Händen haben, gar nicht mehr den Eigenschaften der eisenhaltigen Komponente des im Blut vorhandenen Hämoglobins entsprechen.<sup>3)</sup> Und schließlich wurzelt diese Unsicherheit in der Unklarheit der chemischen Beziehungen zwischen dem Hämin und dem aus letzterem entstehenden Hämatin.

Das Hämin ist ein Chlor haltendes Kunstprodukt, dessen Schwerlöslichkeit wir uns zunutze machen, um die eisenhaltige Komponente des Blutfarbstoffs abzuscheiden. Der letztere enthält kein Chlor, Hämin als solches hat also sicher nichts mit dem Hämoglobin zu tun, wohl aber könnte das chlorfreie Hämatin, das sich aus dem Hämin unter der Einwirkung von Alkalien bildet, ein Bestandteil des großen Moleküls sein. Dann aber müßte es sich zum mindesten wieder in Hämin zurückverwandeln lassen, und diese Überführung war mir nicht geglückt,<sup>4)</sup> so daß es den Anschein hatte, als ob das Hämatin erst recht nichts mit dem im Blut kreisenden Farbstoff zu tun

<sup>1)</sup> R. v. Zeynek erhielt ein Ammoniumsalz des Hchr.; aus der Analyse desselben wurde geschlossen, daß 2 Molekeln Hämatin bei der Reduktion nur ein Sauerstoffatom verloren haben, also nur  $\frac{1}{4}$  der nach obiger Gleichung verlangten Menge! Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 492.

<sup>2)</sup> Auch des Methämoglobins, vgl. z. B. Zeynek, Arch. f. [Anat. u.] Physiol., 1899, S. 460.

<sup>3)</sup> So schreibt Hoppe-Seyler die Formel des Hämochromogens  $C_{34}H_{36}O_5N_4Fe$ , während er die Zusammensetzung des Hämins durch die Formel  $C_{68}H_{70}O_{10}N_8Fe_2, 2HCl$  wiedergibt.

<sup>4)</sup> Klaveren gibt an, daß er Hämatin, das aus Hämin mit Hilfe von Ammoniak bereitet worden war, wieder in vollkommen charakteristische Teichmannsche Krystalle übergeführt habe; leider fehlt jede nähere Auskunft über seine Beobachtung. Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 308.

hat. Nachdem also im Hämin  $C_{34}H_{32}O_4N_4FeCl$ , das saure Eigenschaften besitzt und sich in Alkalien löst, bei der Salz- bildung gleichzeitig das Chlor eliminiert worden ist, fällt eine Säure, auch Salzsäure, einen neuen Körper aus, eben das Hämatin, dem man die Formel  $C_{34}H_{32}O_4N_4FeOH$  zuschreibt. Da nun das Hämatin noch nicht krystallisiert erhalten worden ist und auch ganz andere äußere Eigenschaften besitzt als das Hämin, war die Annahme nicht von der Hand zu weisen, daß die Umwandlung des Hämins in Hämatin nicht nur in dem einfachen Vorgange besteht, den die gegebenen Formeln versinnbildlichen. Diese Ansicht zu äußern, fühlte ich mich um so mehr berechtigt, als das Dehydrochloridhämin,  $C_{34}H_{31}O_4N_4Fe$ , sich zwar in Hämin zurückverwandeln läßt, nicht aber das Dehydrohämatin, das aus jenem durch Behandlung mit einem Alkali entsteht und einen dem Hämatin ähnlichen Habitus aufweist bei gleicher Zusammensetzung wie Dehydrochloridhämin.<sup>1)</sup>

Unter diesen Umständen beanspruchten die Arbeiten von Eppinger<sup>2)</sup> und Siewert,<sup>3)</sup> nach welchen eine Umwandlung von Hämatin in Hämin doch möglich sein soll, volles Interesse. In beiden wird die Wichtigkeit des Resultats betont, die in Betracht kommenden Verhältnisse sind jedoch nur kurz erwähnt: sie ausführlicher darzulegen, war vielleicht doch gerade in dem Moment am Platze, wo mir die Zusammenfassung einer großen Anzahl von Beobachtungen, zu denen die genannten Arbeiten Veranlassung gaben, den Schluß berechtigt erscheinen läßt, daß auch das «Hämin» Siewerts oder besser unsere nach den Angaben von Siewert hergestellten Präparate von «Hämin» nicht als typisches Hämin angesehen werden dürfen, und die Umwandlung des Hämatins in Hämin daher unter Bedingungen erfolgt, die noch nicht mit absoluter Sicherheit festgestellt sind, und daß daher auch nicht gesagt werden kann, daß sich Hämatin ohne weiteres in Hämin überführen lasse.

In Köln war ich zu einer anderen Beurteilung gelangt,

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XL, S. 413 (1904).

<sup>2)</sup> Dissertation, München 1907.

<sup>3)</sup> Archiv f. exp. Pathol. u. Pharmak., Bd. LVIII, S. 387 (1908).

damals glaubte ich im Siewertschen Hämin läge wirklich ein typisches Hämin vor, das unter Einhaltung ganz bestimmter Bedingungen darzustellen wäre. Diese Auffassung fußte allein auf dem Ausfall der Chlorbestimmungen; der weiteren Beobachtung, daß unsere Präparate nur undeutlich krystallisiert erschienen, glaubte ich keine ausschlaggebende Bedeutung zuzumessen zu dürfen, weil auch das nach Mörners Methode, der ja die von Siewert nachgebildet ist, hergestellte Hämin häufig, z. B. bei raschem Abkühlen in scheinbar amorphen Flocken zur Abscheidung gelangt. In der Tat enthielten mehrere Präparate von Siewert-Hämin die richtige Menge Chlor, während solche aus Hämatin oder Dehydrohämatin immer nur 1—2% Chlor aufwiesen; bei einem weiteren fand ich 6% und war geneigt, hier einen analytischen Fehler anzunehmen. Die Präparate waren, wie wir es auch beim «umgeschiedenen Hämin» gewöhnt waren, mit 1%iger kalter Salzsäure erschöpfend, hier also  $\text{SO}_4$ -frei, ausgewaschen worden, um dann im Vakuum unter Schwefelsäure und neben Ätzkali getrocknet zu werden. Während nun aber typisches Hämin jetzt an kaltes Wasser kein  $\text{Cl}$  abgibt, zeigte sich beim Siewert-Hämin, daß es praktisch überhaupt nicht chlorfrei zu waschen ist, weil immer von neuem Spuren von Salzsäure in Lösung gehen. Natürlich erwies sich alsdann der Chlorgehalt bedeutend vermindert, und es unterliegt keinem Zweifel, daß hier zum mindesten ein Teil des Chlors nicht chemisch gebunden ist, sondern daß es sich um adsorbierte Salzsäure handelt, die allerdings recht fest anhaftet. Es ließen sich dann auch unsere Präparate von Siewert-Hämin nicht umscheiden, und bei der Einwirkung 10%iger Salzsäure bei  $130^\circ$  gaben sie mehr Eisen ab als typisches Hämin, allerdings nicht so viel wie Hämatin, so daß es den Anschein hat, als ob sie doch zum Teil aus typischem Hämin beständen.

Präparate von nach Eppinger hergestelltem «Hämin» verhielten sich dagegen ganz wie Hämatin. Dessen Resultat würde ich gar nicht erwähnt haben, wenn es nicht in ein Referat des biochemischen Centralblatts<sup>1)</sup> aufgenommen worden

<sup>1)</sup> Bioch. Zentralblatt, Bd. VI, Nr. 1669.

wäre, auf das sich dann auch der Referent der Siewertschen Arbeit<sup>1)</sup> bezieht. Die Angaben in der Dissertation von Epinger sind nämlich so allgemein gehalten — sie lassen aber auch jede Zahl vermissen —, daß der Schlußsatz «die Analyse ergab, daß in der Tat reines Hämin und zwar in nahezu quantitativer Ausbeute entstanden war» auf jeden, der mit Hämin gearbeitet hat und weiß, auf wie peinliche Innehaltung ganz bestimmter Bedingungen es oft ankommt, nicht nur durch seinen Aufbau einen überraschenden Eindruck macht. Um einer weiteren Prüfung den Boden zu ebnet, gebe ich im experimentellen Teil die Bedingungen genau an, unter denen wir unsere abweichenden Resultate erhalten haben, auch für die Methode von Siewert.

Denn eine ganz genaue Beschreibung läßt auch die Arbeit Siewerts vermissen, z. B. ist nur davon die Rede, daß die erhaltene alkoholische Lösung des Farbstoffs «sehr konzentriert» ist, die Menge des Alkohols aber, die für ein gegebenes Quantum gerade ausreicht, wird nicht angegeben; ferner fehlt eine Angabe über die Menge der Salzsäure, die zur Fällung der alkoholischen Lösung nötig ist, dagegen ist die hierbei einzuhaltende Temperatur mit 70—72° genau verzeichnet. Wie sehr diese Angabe nötig ist, geht nun daraus hervor, daß bei Zusatz von Salzsäure zur siedenden Lösung ein Produkt entsteht, das nur noch zum Teil in kaltem Ammoniak löslich ist. Ich hatte diese Modifikation beschlossen, weil bei meinen Versuchen eine deutlich krystallinische Abscheidung von «Hämin» nicht eintrat und zu hoffen stand, daß sich eine solche bei langsamer Abkühlung einstellen würde, und weil ja auch bei dem Verfahren von Mörner, dem sich das vorliegende eng anschließt, die siedende Lösung mit Salzsäure umgesetzt wird. Während nun aber dem Mörner-Hämin immer nur geringe Mengen von Estern, denn um diese handelt es sich, beigemischt sind, wird der Anteil derselben erheblich größer, sobald man vom Baryumsalz ausgeht. Schließlich bedürfen die Angaben Siewerts über die Herstellung des

---

<sup>1)</sup> Bioch. Zentralblatt, Bd. VII, Nr. 1303.

letzteren eine Verschärfung, denn es gelingt nicht immer, dieses Salz chlorfrei zu waschen, vielmehr stellt sich sehr häufig kolloide Lösung ein, sobald der Überschuß des zur Fällung benutzten Elektrolyten beseitigt ist. Daß hierbei die Dauer des Verweilens des Farbstoffs in der alkalischen Lösung von Einfluß ist, habe ich bereits erwähnt.<sup>1)</sup>

#### A. Versuche zur Darstellung von «Hämin» nach den von Siewert angegebenen Methoden.

(Unter Mitwirkung von J. Eppler, F. Lacour und R. Schäfer.)

a) Siewert<sup>2)</sup> gibt zwei Methoden zur Herstellung von Hämin aus Hämatin an; die erstere beruht darauf, daß man das frisch gefällte Hämatin, dessen Lösung man einige Minuten vorher aus Hämin und Natronlauge hergestellt hat, in kleinen Portionen in essigsaurer Lösung, die reichlich Kochsalz enthält, einige Zeit kocht. Siewert gibt an, daß er die Mischung 8—10 Minuten lang im Sieden erhalten habe, worauf in einer entnommenen Probe unter dem Mikroskop nichts Amorphes nachgewiesen werden konnte. Mein Assistent Schäfer mußte 20 Minuten lang kochen, um Krystalle zu erhalten, die aber immer noch mit amorphen Massen vermenget waren. Die Ausbeute war sehr gut, die Analyse zweier Präparate gab auf Hämin recht gut stimmende Werte, reines typisches Hämin liegt trotzdem nicht vor.<sup>3)</sup>

I. 0,2000 g Substanz (Vak. u. 100°): 0,0416 g AgCl u. 0,0257 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
= 5,14% Cl und 8,99% Fe.

II. 0,1980 g Substanz (Vak. u. 100°): 0,0460 g AgCl u. 0,0251 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
= 5,74% Cl und 8,8% Fe.

b) Die zweite Methode von Siewert wird von ihm als sicherer und einfacher bezeichnet, auch sollen hier beliebige Portionen von Hämin verarbeitet werden können. Es dürfte aber geraten sein, auch hier höchstens 1 g Hämin auf einmal in Arbeit zu nehmen, wenigstens haben uns die mit dieser Menge ausgeführten Versuche — ich verdanke sie meinem

<sup>1)</sup> Teil III, S. 198.

<sup>2)</sup> Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmak., Bd. LVIII, S. 390.

<sup>3)</sup> Vgl. S. 187, VII, 1.

verstorbenen Assistenten Dr. Schäfer — noch die besten Resultate geliefert. I. Versuchsreihe. 1 und 2. Je 1 g Hämin wurde in 60 ccm 1%iger Natronlauge gelöst, die Lösung filtriert und das Filtrat sogleich mit Barytlösung im kleinen Überschuß versetzt, wobei ein voluminöser Niederschlag erhalten wurde. Derselbe wurde auf 2 Barytfiltern von 11 cm Durchmesser gesammelt und mit Wasser bis zur neutralen Reaktion und bis zum Verschwinden der Chlorionen ausgewaschen,<sup>1)</sup> wozu etwa 3—4 Stunden gebraucht wurden. Nun wurde der Filterinhalt mit 50 ccm 90%igen Alkohols in ein Becherglas gespritzt und 40 ccm mit Schwefelsäure versetzter Alkohol (1 ccm  $H_2SO_4$  : 400 ccm Alkohol) zugefügt, worauf sich der Farbstoff löste. Diese Lösung wurde durch die bereits benützten Filter vom Baryumsulfat getrennt, das noch mit je 10 ccm Alkohol ausgewaschen wurde.

Das klare, dunkelweinrote Filtrat wurde jetzt auf dem Wasserbade auf 70—72° erhitzt und alsdann 10 ccm Salzsäure (ein Gemisch aus gleichen Raumteilen 25%iger HCl und Alkohol) zugefügt. Die Lösung nahm einen bräunlichen Ton an und nach einigen Stunden hatte sich eine undeutlich krystallinische Masse ausgeschieden, die am nächsten Tage auf einem gehärteten Filter gesammelt und einmal mit 90%igem Alkohol und dann mit mehr und mehr verdünntem Alkohol, der stets etwas Salzsäure enthielt, ausgewaschen, schließlich auf Filterpapier und im Vakuumexsikkator neben Kaliumhydroxyd getrocknet wurde. Ausbeute 0,72 resp. 0,86 g.

Die Analysen ergaben Werte, die mit der Formel für das Hämin ziemlich gut übereinstimmen:

1. 0.1196 g Subst. (110°): 0,2760 g  $CO_2$ , 0,0550 g  $H_2O$  u. 0,0148 g  $Fe_2O_3$   
= 62,94% C, 5,11% H und 8,66% Fe.

0.1084 g Subst. (110°): 8,13 ccm N bei 12°, 751 mm B. = 8,7% N.

0.1895 > > (100°): 0,0475 g AgCl und 0,0244 g  $Fe_2O_3$   
= 6,19% Cl und 9,1% Fe.

---

<sup>1)</sup> Dieses Auswaschen muß hier ganz glatt möglich gewesen sein, wenigstens fand sich in den von Dr. Schäfer nachgelassenen Aufzeichnungen keine diesbezügliche Bemerkung.

II. 0.1478 g Subst. (100°): 0,0300 g AgCl und 0,0199 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
 = 5,02% Cl und 9,4% Fe.

0.0897 g Subst. (100°): 6,61 ccm N bei 14°, 748 mm = 8,45% N.

3. Bei einem Kontrollversuch bekam ich einen weniger günstigen Eindruck von der Methode, da sich das Auswaschen des durch Baryt erhaltenen Niederschlags sehr lange hinzog. Es wurden schließlich aus 1 g 0,7 g «Hämin» wiedererhalten; dasselbe erwies sich aber amorph und stellte nach dem Trocknen eine spröde, harte Masse mit muschligem Bruch vor, erwies sich also dem Hämatin ähnlich. Der bei der Analyse ermittelte hohe Gehalt an Kohlenstoff erklärt sich daraus, daß die alkoholische Lösung zum Sieden gebracht worden war, als der Zusatz von Salzsäure erfolgte, wodurch teilweise Veresterung eintritt.

0.1454 g Substanz (120°): 0,3406 g CO<sub>2</sub> und 0,0732 g H<sub>2</sub>O  
 = 63,88% C und 5,03% H.

0.2051 g Substanz (100°): 0,0416 g AgCl und 0,0266 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
 = 5,02% Cl und 9,03% Fe.

4. Ein zweiter Versuch zeigte klar, daß die Dauer des Verweilens des Hämatins in der alkalischen Lösung von Einfluß war; die Lösung von 1 g Hämin in 60 ccm 1%iger Natronlauge blieb 3 Tage lang stehen, dann wurde filtriert und das Filtrat mit Barytlösung versetzt. Ein Niederschlag trat nun erst ein, als ein großer Überschuß des Fällungsmittels zugefügt worden war, und beim Auswaschen desselben löste er sich zum großen Teile wieder auf. Hier lag eine kolloide Lösung vor, was daraus hervorging, daß auf Zusatz eines Elektrolyten (Calciumacetat) wieder Fällung eintrat. Was von dem ursprünglichen Niederschlag auf dem Filter geblieben war, wurde auf «Hämin» verarbeitet; es wurden noch 0,25 g davon gewonnen, amorph, nach dem Trocknen im Vakuum wie Hämatin erscheinend.

0.1845 g Substanz (100°): 0,0366 g AgCl und 0,0220 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
 = 3,9% Cl und 8,35% Fe.

II. Bei einer zweiten Versuchsreihe wurden je 4 g Hämin verarbeitet, zur Fällung der alkalischen Lösung des Hämins wurde hier Chlorbaryum verwendet, wobei immer wieder die soeben beschriebene Beobachtung gemacht wurde: sobald zwischen dem Lösen des Hämins und der Fällung längere Zeit verstrichen ist — wobei schon die Zeit, welche das Filtrieren

der alkalischen Farbstofflösung erfordert, in Betracht kommen kann —, reicht die berechnete Menge des Fällungsmittels nicht aus, es muß ein großer Überschuß verwendet werden, und beim Auswaschen entstehen kolloide Lösungen, sobald der Elektrolyt entfernt ist. Es wurde daher in dem Fall, daß das Hämatin lange in alkalischer Lösung verweilt hatte — und solche Versuche wurden absichtlich angestellt, um den Einfluß der Alkaliwirkung auf die Häminbildung zu erkennen —, das Hämatinbaryum mit einem Acetat chlorfrei gewaschen, und zwar mit Baryumacetat, nachdem sich gezeigt hatte, daß das Baryum beim Behandeln mit einem Kalksalz durch Calcium verdrängt wurde.<sup>1)</sup>

Ein Einfluß des Alkalis auf die Zusammensetzung des erhaltenen Hämins schien zunächst nicht nachweislich, bis sich dann zeigte, daß der Chlorgehalt dieser Präparate sich durch langes Auswaschen mit kaltem Wasser ganz erheblich herabdrücken läßt. Deutliche Krystallisation wurde niemals erhalten, die Präparate erschienen nach dem Trocknen bald dem Mörner-Hämin ähnlich, bald hatten sie ganz das Äußere des Hämatins. Es geht aus unsern Versuchen nicht hervor, daß die Konzentration der Natronlauge oder die Dauer ihrer Einwirkung hierauf einen Einfluß gehabt hat. Sicher erwiesen wurde aber, daß die Temperatur, bei welcher die Ausfällung des Hämins durch Salzsäure bewirkt wurde, von großer Bedeutung ist. Alle Präparate, die bei 50°<sup>2)</sup> oder nach Siewert bei 72° hergestellt wurden, erwiesen sich in verdünntem Ammoniak löslich, sobald aber die alkoholische Lösung zum Sieden gebracht worden war, fiel auf Zusatz von Salzsäure ein «Hämin» heraus, das sich nur noch zum Teil in kalten Alkalien löste.

Eine Umscheidung von Präparaten, die wir nach Siewerts Methode hergestellt haben, ist mir nicht gelungen; endlich wurde festgestellt, daß diejenigen von ihnen, die aus lange mit Natronlauge in Berührung gebliebenem Farbstoff erhalten worden waren, sich bei der Behandlung mit 10 %iger Salzsäure wie

<sup>1)</sup> Vgl. S. 199 im 3. Teil.

<sup>2)</sup> Marchlewski, Bull. de l'Acad. des sciences de Cracovie, 1904. S. 797.

Nr. des Versuchs	g Hämin	ccm Natronlauge und $\frac{\text{‰}}{\text{an NaOH}}$	Aufbewahrungzeit der alkalischen Lösung	Zur Fällung nötige Menge $\text{BaCl}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$	Die Fällung wird chlorfrei gewaschen mit	Volumen der alkohol. Lösung	Temperatur der Lösung	ccm Salzsäure und ihr Prozentgehalt	Menge und Habitus des erhaltenen «Hämins»	Chlorgehalt nach langem Auswaschen und nach Trocknen im Vakuum	In Ammoniak	Durch 10 $\frac{\text{‰}}{\text{ige HCl}}$ bei 130 $^\circ$ abgespalt. Eisen
1	4	400 0,2	Die alkalische Lösung wird <small>sogleich nach der Herstellung</small> verarbeitet	2 g	Ca-Acetat	300	72 $^\circ$	48 12,5 $\frac{\text{‰}}$	1,9, wie Ht	4,95 } 5,2	löslich	51,6 $\frac{\text{‰}}$
2	4	400 0,2		2 »	»	300	72 $^\circ$	48 12,5 $\frac{\text{‰}}$	2,8 »			
3	4	400 0,2		2 »	»	500	Sp.	12 25 $\frac{\text{‰}}$	4,0 } wie Mörner-	3,97 } 5,0	nur z. Teil löslich	—
4	4	400 0,2		2 »	»	500	»	12 25 $\frac{\text{‰}}$	4,0 } Häm in			
5	4	400 0,2	8 Tage	großgr. Über-	Ba-Acetat	450	»	12 25 $\frac{\text{‰}}$	3,0 schwarz w. M.-Hm	1,93 } 5,3	fast unlösl.	—
6	4	400 1,0	14 »		»	»	450	50 $^\circ$	12 25 $\frac{\text{‰}}$	2,2 M.-Hm	3,04 } 4,7	leicht
7	4	400 0,2	8 »	schuß	»	450	50 $^\circ$	12 25 $\frac{\text{‰}}$	2,4 Ht	5,2 } 5,58	löslich	97,5 $\frac{\text{‰}}$
8	4	400 0,2	8 »	etwa 10 g	»	500	50 $^\circ$	12 25 $\frac{\text{‰}}$	2,6 M.-Hm	2,47 } —		
9	4	400 1,0	10 »	desgl.	»	400	50 $^\circ$	12 25 $\frac{\text{‰}}$	3,0 Ht	— } 5,08	lich	—
10	4	400 0,2	10 »	»	»	450	50 $^\circ$	12 25 $\frac{\text{‰}}$	2,7 M.-Hm	2,32 } —	—	—

2,17 $\frac{\text{‰}}$   
 $\text{C}_2\text{H}_5$ 3,26 $\frac{\text{‰}}$   
 $\text{C}_2\text{H}_5$

Hämatin verhielten, d. h. ca. 80 % des Eisens verloren, während ein anderes Präparat, bei dem die alkalische Lösung sofort nach der Herstellung durch Chlorbaryum gefällt worden war, nur 50 % des Eisens abgab, also eine Mittelstellung einnahm. <sup>1)</sup>)

Ich lasse die Aufzeichnung der Versuche tabellarisch folgen<sup>2)</sup> und bemerke, daß der Schlamm des aus 4 g Hämin hergestellten Baryumsalzes gewöhnlich mit 400 ccm Alkohol, dem 1 ccm konzentrierte Schwefelsäure zugesetzt war, in eine Flasche gespritzt und dann ca. 30 Minuten geschüttelt wurde. Nach dem Filtrieren wurde mit 50 ccm Alkohol nachgespült.

Analytische Belege zur Versuchsreihe II.

Nr. 1 u. 2. 0,1632 g Substanz (110°): 0,3731 g CO<sub>2</sub>, 0,0776 g H<sub>2</sub>O und 0,0199 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 62,35% C. 5,32% H und 8,5% Fe.

0,1585 g Substanz (120°): 0,0333 g AgCl und 0,0211 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 5,2% Cl und 9,3% Fe (Carius).

0,2863 g Subst. (120°): 0,0504 g AgJ = 2,17% C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> (Zeisel).

Nach langem Auswaschen mit kaltem Wasser:

0,1843 g Substanz: (Vak. u. 100°) 0,0369 g AgCl und 0,0259 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 4,95% Cl und 9,84% Fe.

0,9826 g Substanz (100°) mit 10 ccm HCl (10%ig) 3 Stunden auf 130° erhitzt, wobei keine Spur von Hämatoporphyrinbildung zu bemerken war, hatten abgegeben: 0,0616 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 0,04312 g Fe oder bei Annahme von 8,5% Fe: 51,6% der vorhandenen Menge (0,0835 g).

Nr. 3 u. 4. α) 0,1356 g Substanz (110°): 0,3076 g CO<sub>2</sub> und 0,0626 g H<sub>2</sub>O = 61,87% C und 5,16% H.

0,2345 g Subst. (110°): 0,0474 g AgCl und 0,0294 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 5,0% Cl und 8,7% Fe.

0,3525 g Subst. (110°): 0,0933 g AgJ = 3,26% C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>.

β) Nach 14 tägigem Auswaschen mit kaltem Wasser:

0,1567 g Substanz (Vak. u. 100°): 0,3578 g CO<sub>2</sub> und 0,0776 g H<sub>2</sub>O = 62,56% C und 5,54% H.

0,1787 g Subst. (Vak. u. 100°): 0,0287 g AgCl und 0,0234 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 3,97% Cl und 9,16% Fe.

γ) Das Präparat löst sich nur zum Teil in kaltem verdünnten (1%igem) Ammoniak, die Abtrennung des Ungelösten bereitete Schwierigkeiten, weil selbst starkes Filtrierpapier

<sup>1)</sup> Vgl. Tabelle, S. 187, Nr. VII. Versuch 2 und 3.

<sup>2)</sup> Seite 221.

(Nr, 311 von Dreverhoff) diese Substanz nicht völlig zurückhielt und im Filtrat sich dann nach längerem Stehen wieder im Absatz zeigte. Der Filtrerrückstand wurde mit 1%igem Ammoniak völlig ausgewaschen, dann im Vakuum getrocknet.

0,1996 g Substanz (100°): 0,4651 g CO<sub>2</sub> und 0,1006 g H<sub>2</sub>O  
= 63,55% C und 5,64% H.

0,2500 g Substanz (100°): 0,0059 g AgCl und 0,0341 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
= 0,58% Cl und 9,54% Fe.

0,2127 g Substanz (100°): 0,0054 g AgCl und 0,0297 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
= 0,63% Cl und 9,77% Fe.

0,3507 g Substanz (100°): 0,1361 g AgJ = 4,8% C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> (Zeisel).

Wie zu erwarten, zeigt also der in verdünntem Ammoniak nicht lösliche Teil des Präparats, in welchem ein Ester vorliegen muß, gegenüber dem Gesamtpräparat einen erhöhten Gehalt an Kohlenstoff, Wasserstoff und Äthyl.

Es verhält sich bei der Behandlung mit 10%iger Salzsäure im Rohr bei 130° ganz wie Hämatin, d. h. es wird der größte Teil des Eisens dabei abgespalten.

0,9600 wurden mit 10 ccm 10%iger HCl 3 Stunden auf 130° erhitzt, wonach sich in den Filtraten und Waschwässern fanden: 0,0837 g Eisen als Ferrosalz, 0,0857 g Fe, als Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> gravimetrisch nach der Oxydation bestimmt. Legen wir den durch die Analyse ermittelten Gehalt von 9,6% Eisen zugrunde, der wohl etwas zu hoch ausgefallen ist, so enthielten die 0,96 g: 0,09216 g Eisen, wonach 93% des vorhandenen Eisens abgespalten sind.

Die unter II 1—2 resp. 3—4 beschriebenen Präparate ließen sich nach der Methode von Schalfjeff nicht umscheiden; die diesbezüglichen Versuche wurden mit je 1 g ausgeführt, beim Schütteln mit je 1 g Chinin und 25 ccm Chloroform trat restlose Lösung ein, nach dem Eintragen in 150 g mit Kochsalz gesättigten Eisessig von 105° wurden aber weder beim Erkalten noch nach Verjagen des Chloroforms Abscheidungen erhalten. Dagegen wurde nach Abdestillation des größten Teils der Essigsäure und Eintragen des Restes in 1%ige Salzsäure wieder eine reichliche Fällung gewonnen, in der wiederum (vgl. Seite 170) das Chlor recht festgebunden war.

Mit kaltem Wasser chlorfrei gewaschen enthielt die Substanz 2,44% Cl (0,2176 g (100°): 0,0215 g AgCl); mit heißem Wasser wurde nur wenig Cl' herausgenommen, nach dieser Behandlung wurden noch 2,415% Cl gefunden (0,2406 g (100°): 0,0235 AgCl und 0,0303 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 2,415% Cl und 8,81% Fe).

Nach dem Lösen in Ammoniak und Fällen mit verdünnter Salpetersäure enthielt die Substanz endlich immer noch 1,84% Chlor (0,2400 (100°): 0,0179 AgCl und 0,0277 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> und 1,84% Cl und 8,08% Fe).

Nr. 5. 0,1987 g Substanz (110°): 0,4583 g CO<sub>2</sub> und 0,1013 g H<sub>2</sub>O.  
= 62,9% C und 5,7% H.

0,2100 g Substanz (i. Vak. neben KOH, 110°): 0,0451 g AgCl und 0,0254 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 5,3% Cl und 8,46% Fe.

Nach 8tägigem Auswaschen mit kaltem Wasser:

0,2211 g Substanz (Vak. u. 100°): 0,0173 g AgCl = 1,93% Cl.

Nr. 6. 0,1603 g Subst. (110°): 0,3622 g CO<sub>2</sub>, 0,0794 g H<sub>2</sub>O, 0,0207 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
= 61,62% C, 5,4% H, 9,03% Fe.

0,1878 g Substanz (110°): 0,4256 g CO<sub>2</sub> und 0,0891 g H<sub>2</sub>O  
= 61,8% C und 5,31% H.

0,3760 g Substanz (Vak. u. 110°): 0,0713 g AgCl = 4,7% Chlor.

Nach langem Auswaschen mit kaltem Wasser:

0,3656 g Substanz (Vak. u. 110°): 0,0450 g AgCl = 3,04% Cl.

Nr. 7. 0,3349 g Substanz (Vak. u. 110°): 0,0756 g AgCl = 5,58% Cl.

Nach erschöpfendem Auswaschen mit kaltem Wasser:

0,3652 g Substanz (Vak. u. 110°): 0,0770 g AgCl = 5,2% Cl und  
0,0436 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 8,35% Fe.

Nr. 8. 0,1730 g Substanz (110°): 0,3924 g CO<sub>2</sub> = 61,86% C.

0,1342 > > (110°): 0,3024 g CO<sub>2</sub>, 0,0639 g H<sub>2</sub>O und  
0,0168 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 61,45% C, 5,33% H und 8,75% Fe.

0,1097 g Subst. (110°): 8,32 ccm N bei 20°, 746 mm B. = 8,64% N.

0,2142 > > (12 Tage ausgewaschen): 0,0210 g AgCl und  
0,0268 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 2,47% Cl und 8,75% Fe.

0,8655 g Subst. wurden mit 12 ccm 10%iger HCl 3 Stunden auf 130° erhitzt, hierbei wurden abgespalten: 0,1054 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (gravim. nach Oxydation durch HNO<sub>3</sub> bestimmt) = 0,0738 g Fe. Da 0,8655 × 0,0875 = 0,0757 g Fe vorhanden waren, sind 97,5% des Eisens abgespalten worden.

Nr. 9. 0,1905 g Subst.: 0,4349 g CO<sub>2</sub> u. 0,0900 g H<sub>2</sub>O = 62,26% C u. 5,3% H.

0,268 > > : 20,83 ccm N bei 22°, 740 mm B. = 8,48% N.

0,1740 > > : 0,0284 g AgCl und 0,0228 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
= 5,08% Cl > 9,17% Fe.

Nr. 10. 0.1976 g Substanz (i. Vak. u.  $110^{\circ}$ ): 0,4456 g  $\text{CO}_2$  u. 0,0945 g  $\text{H}_2\text{O}$   
 = 61,5% C und 5,35% H.

0.1479 g Subst.: 12,1 ccm N bei  $21^{\circ}$ , 743,5 mm B. = 8,83% N.

0,2248 > > (sehr lange ausgewaschen): 0,0211 g AgCl  
 und 0,0277 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  = 2,32% Cl und 8,62% Fe.

Es seien anhangsweise noch zwei Versuche beschrieben, von denen der eine die Darstellung von «Hämin» aus dem Kalksalz, der andere die Gewinnung von Brom-Hämin bezweckte.

1. Ein aus 4 g M.-Hämin gewonnenes Kalksalz sollte durch oxalsäurehaltigen Alkohol (300 ccm + 1,2 g entwässerte Oxalsäure) zersetzt werden, was aber selbst beim schwachen Erwärmen nur zum kleinen Teil gelang, erst auf Zusatz eines Tropfens konzentrierter Schwefelsäure trat der Farbstoff in die alkoholische Lösung über, doch war eine 2. und 3. Behandlung nötig, um wenigstens den größten Teil desselben zu extrahieren. Die alkoholischen Filtrate wurden hier siedend durch 25%ige Salzsäure gefällt, erhalten wurden im ganzen 2,0 g eines nicht krystallinischen und nur in Spuren in Ammoniak löslichen «Hämins». Das Präparat wird kalt  $\text{SO}_4^{--}$ - und Cl'-frei gewaschen, ersteres ist sehr bald erreicht, dagegen bedarf es lang fortgesetzter Behandlung, ehe das Cl' entfernt ist.

0.2070 g Substanz (i. Vak. u.  $110^{\circ}$ ): 0,4805 g  $\text{CO}_2$ , 0,1017 g  $\text{H}_2\text{O}$  und  
 0,0256 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  (umgefällt) = 63,3% C, 5,5% H, 8,65% Fe.

0.1517 g Substanz (i. Vak. u.  $110^{\circ}$ ): 11,3 ccm N bei  $18,5^{\circ}$  und 746 mm B.  
 = 8,35% N.

0.1865 g Substanz (i. Vak. u.  $110^{\circ}$ ): 0,0205 g AgCl und 0,0237 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3$   
 = 2,78% Cl und 8,71% Fe.

### Über das Bromhämin.

Die Methode von Siewert schien anfänglich für die Herstellung eines Brom an Stelle von Chlor haltenden Hämins, besonders in größeren Mengen, sehr geeignet, da die von mir<sup>1)</sup> angegebene Methode, wobei vom umkrystallisierten Oxyhämoglobin ausgegangen wird, nicht überall ausführbar ist und auch die von Zaleski und Merunowicz<sup>2)</sup> benutzte Um-

<sup>1)</sup> Ber. d. d. chem. Ges., Bd. XXVII, S. 572. (1894.)

<sup>2)</sup> Bull. de l'Acad. des sciences de Cracovie, 1907, S. 641. Marchlewski und Hetper (ebenda 1903, S. 797) haben ebenfalls versucht,

scheidung von Acethämin mit Hilfe Bromkalium haltenden Eisessigs einen erheblich größeren Aufwand an Material erfordert. Es wurde wie folgt verfahren: das aus 4 g Hämin hergestellte Baryumsalz wurde Cl-frei gewaschen, der noch feuchte Schlamm mit Hilfe eines Trichters mit weitem Ablaufrohr in eine Flasche gebracht und mit 400 ccm Alkohol (90

ein Bromhämin herzustellen; es ist ihnen aber nicht gelungen, dasselbe in reinem Zustande zu erhalten. Es berührt daher seltsam, wenn Marchlewski in seiner Monographie über das Chlorophyll und den Blutfarbstoff (Braunschweig, bei Vieweg, S. 142) sagt, daß es ihm ohne Schwierigkeit gelungen sei, krystallisierte Bromhämine darzustellen. Ich möchte bei dieser Gelegenheit einige Angaben in dieser Broschüre berichtigen: in meiner ersten Mitteilung über das Bromhämin (s. o.) habe ich allerdings aus den Analysen auf die Formel  $C_{32}H_{31}BrN_4O_3Fe + C_4H_5OH$  geschlossen, in der von Marchlewski zitierten Arbeit (diese Zeitschr., Bd. XL, S. 400 (1904)) sind sie auf  $C_{34}H_{33}O_4N_4FeBr$  bezogen, auf Seite 394 findet sich dazu die Bemerkung, daß danach nur eines der drei Präparate sich als rein erwiesen hat. Das umgeschiedene Bromhämin stellte sich nach Eigenschaften und Analysen als ein Monoäthylester dar, ihm kommt die Formel  $C_{36}H_{35}O_4N_4FeBr$  zu. Die Angaben von Marchlewski, daß mein Bromhämin vor dem Umkrystallisieren die Zusammensetzung  $C_{32}H_{31}BrN_4FeO_3 \cdot C_4H_5OH$ , nach dem Umkrystallisieren die Formel  $C_{34}H_{33}O_4N_4FeBr$  besaß, sind also unrichtig.

Wenn Marchlewski ferner beim Artikel «Dehydrochloridhämin» schreibt: «mit diesem Namen belegt Küster die Verbindung, welche von Schalfjeff, Nencki und Zaleski häufig durch Einwirkung von schwachen Basen auf Hämin erhalten wurde», so erweckt er damit die Vorstellung, die genannten Forscher hätten den Körper bereits in Händen gehabt oder sie hätten wenigstens die Existenz desselben vorausgesetzt, wovon mir indessen nichts bekannt ist. Vielmehr rührt die erste Vorstellung über das Wesen der Umscheidung des Hämins nach Schalfjeff von mir her, indem ich das Dehydrochloridhämin als Zwischenprodukt dabei annahm. Die Umsetzung des Hämins mit schwachen Basen beruht aber wahrscheinlich einfach auf einer Salzbildung (vgl. R. Willstätter, Liebigs Ann. d. Chem., Bd. CCCLXXI, S. 50), obwohl die Abspaltung von Chlor nie ganz vermieden werden kann.

Die Wiedergabe der Tatsachen an die Leser erscheint mir also durch Marchlewski entstellt. Ich führe dies an, weil letzterer unlängst behauptet hat (Bioch. Z. Bd. XX, S. 464), «ich wäre zu kritisieren bezüglich der Art, meine Arbeiten dem Leser vorzulegen». Näheres ist nicht angegeben, ich vermute, daß auf eine Veröffentlichung von mir in den Ber. d. d. bot. Ges. 1904, Seite 339 gezielt ist, die von March-

Gew.-Prozent), der 1 ccm konzentrierte Schwefelsäure enthielt, der noch am Filter und im Trichter hängende Rest des Salzes nachgespritzt, dann wurde eine Viertelstunde geschüttelt, filtriert, mit 150 ccm Alkohol gewaschen, das Gesamfiltrat zum Sieden erhitzt und 6 ccm Bromwasserstoffsäure (spez. Gew. 1,78) eingetragen. Das am nächsten Tage abfiltrierte und dann  $\text{SO}_4$ - und  $\text{Br}$ -frei<sup>1)</sup> gewaschene Präparat erwies sich als amorph, stellte nach dem Trocknen ein leicht zerreibliches Pulver im Gewicht von 3,7 g<sup>2)</sup> vor und löste sich in verdünntem kaltem Ammoniak völlig, trotzdem es aus siedender Lösung gefällt worden war. Die Analyse ergab noch einen zu geringen Bromgehalt (8,04% statt 11,5) und da nach meinen Erfahrungen ein typisches Hämin nach Siewerts Methode vorerst nicht zu erhalten ist, wurden weitere Versuche einstweilen aufgegeben.

0,2859 g Substanz (Vak. u. 110°): 0,0540 g AgBr und 0,0357 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3$   
 = 8,04% Br und 8,74% Fe.

#### B. Versuche zur Darstellung von «Hämin» nach der von Eppinger angegebenen Methode.

Wir gingen von einem Präparat umgeschiedenen Hämins aus, das bei der Analyse die folgenden Werte ergeben hatte:

Marchlewski denn auch bereits angegriffen worden ist (ebenda 1906, S. 146).

Es beruht aber auf einem Mißverständnis, wenn Marchlewski glaubt, ich hätte seine Verdienste um die Erkenntnis der Beziehungen zwischen Blatt- und Blutfarbstoff schmälern wollen. Ich habe lediglich den Fehler begangen, ein Wort nicht gesperrt drucken zu lassen und zwar das Wort «Konstitution», denn nach wie vor halte ich aufrecht, daß der erste Einblick in die chemische Konstitution der fraglichen Molekeln erst durch die Ermittlung der Struktur der Hämatinsäuren möglich geworden ist. Daß Beziehungen zwischen Chlorophyll und Hämoglobin bestehen, konnte Marchlewski aus der frappanten Ähnlichkeit der komplizierten Spektren des Phylloporphyrins einerseits, des Hämatoporphyrins andererseits folgern, über den Bau auch nur eines Teils der Molekeln dieser Körper sagte ihm seine Methode nichts.

<sup>1)</sup> Wozu 8 Tage erforderlich waren.

<sup>2)</sup> Aus dem Filtrat schied sich noch Farbstoff aus, nachdem der Alkohol zum Teil abdestilliert worden war; derselbe war in verdünnten Alkalien unlöslich.

0,115 g Substanz geben 0,2632 g  $\text{CO}_2$ , 0,0530 g  $\text{H}_2\text{O}$  und 0,0143 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  
 0,153 „ „ „ 11,5 ccm N bei 15°, 746 mm.  
 0,1500 „ g „ 0,035 g  $\text{AgCl}$  und 0,019 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ .

Es erwies sich also als reines Hämin  $\text{C}_{34}\text{H}_{32}\text{O}_4\text{N}_4\text{FeCl}$ :

Berechnet: 62,62% C, 4,91% H, 8,59% N, 5,43% Cl, 8,59% Fe

Gefunden: 62,4 % C, 5,1 % H, 8,6 % N, 5,7 % Cl, 8,6 % Fe  
 (8,7% aus der Asche).

Versuch Nr. 1. 5 g dieses Hämins wurden in 500 g eiskalter Natronlauge, welche 3,75 g  $\text{NaOH}$  enthielt,<sup>1)</sup> gelöst, die Lösung durch ein Kreppfilter rasch in einen hohen Zylinder filtriert und das Hämatin durch Zusatz von 23,5 g 20%iger Schwefelsäure abgeschieden, worauf zum Liter aufgefüllt wurde. Nach 12 Stunden hatte sich der Niederschlag abgesetzt, so daß dekantiert werden konnte, was alsdann noch zweimal wiederholt wurde. Nun wurde das Hämatin ein zweites Mal in Natronlauge gelöst, wobei nur die Hälfte der oben angegebenen Menge  $\text{NaOH}$  benutzt wurde, wieder durch die entsprechende Menge Schwefelsäure gefällt und die Reinigung des Niederschlags zunächst durch Dekantieren eingeleitet. Schließlich wurde er auf ein gehärtetes Filter gebracht, bis zur völligen Entfernung der  $\text{SO}_4$  durch Auslaugen mit eiskaltem Wasser war ein 5tägiges Auswaschen erforderlich. Jetzt wurde der Schlamm 2 Stunden auf Fließpapier gelegt, alsdann in ein Becherglas übergeführt, das eine Auflösung von 5 g Chinin in 200 ccm Chloroform enthielt, durch Umrühren für möglichst vollständige Auflösung gesorgt und die Masse schließlich in einen Scheidetrichter gebracht, wozu ein Nachspülen mit etwas Chloroform erforderlich war. Nach 3stündigem Stehen hatten sich die Schichten getrennt, so daß die Chloroformlösung abgelassen werden konnte. Sie wurde mit Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Filtrat in 750 ccm mit Chlornatrium gesättigten Eisessigs, der inzwischen auf 110° erwärmt worden war, eingetragen, nachdem noch 2,5 ccm 25%ige Salzsäure hinzugegeben worden waren.

Am nächsten Tage war eine reichliche Abscheidung eingetreten, die aber nicht kristallisiert erschien, sie wurde, als

<sup>1)</sup> Also einen Überschuß, es wäre nur 1 g erforderlich gewesen.

sich ihre Menge auch beim freiwilligen Verdampfen weiteren Chloroforms innerhalb 24 Stunden nicht vermehrte, filtriert, abgesaugt und mit 1%iger Salzsäure von der Mutterlauge befreit. Das Gewicht des erhaltenen Schlammes betrug nach 1 tägigem Lagern auf Fließpapier 11,5 g. Da 1,5 g desselben nach dem Trocknen über Schwefelsäure 0,4 g Rückstand gaben, waren also in dieser ersten Ausscheidung 3 g von den 5 g Hämin enthalten.

Die noch vorhandenen 10 g des Schlammes wurden nun von neuem mit Hilfe von 3 g Chinin und 100 ccm Chloroform gelöst, die im Scheidetrichter nach 5 stündigem Absitzen getrennte Lösung wie angegeben getrocknet und in 450 ccm mit Kochsalz gesättigten Eisessigs von 110° eingetragen, nachdem diesem auch hier 2,5 ccm 25%ige Salzsäure zugegeben worden waren.

Am nächsten Tage war eine undeutlich krystallinische Abscheidung eingetreten, die Formen glichen nicht Häminkrystallen, das Gewicht betrug nach dem Reinigen und Trocknen — erst auf Fließpapier, dann im Vakuum — 1,9 g.

Auch hier gab die erste Mutterlauge nach völligem Verdampfen des Chloroforms keine weitere Abscheidung. Dagegen konnten aus beiden Mutterlaugen, die also von der ersten und von der zweiten Umscheidung stammten, nach Abdestillation des Essigs unter vermindertem Druck bis auf 100 ccm und Eingießen des Rückstandes in ca. 1½ l 1%ige Salzsäure noch Farbstoffreste erhalten werden, deren Gewicht 1,1 resp. 0,8 g betrug.

Es waren also von den 5 g Hämin wiedererhalten worden 4,2 g, und zwar 1,9 g zweimal umgeschiedenes und 0,4 g einmal umgeschiedenes Produkt, daneben 1,9 g aus den Mutterlaugen gewonnene Reste.

Bei der Analyse erhielten wir die folgenden Resultate:

a) Zweimal umgeschiedenes Produkt

0,1528 g Substanz (Vak. u. 100°): 0,3463 g CO<sub>2</sub> und 0,0745 g H<sub>2</sub>O  
= 61,81% C und 5,41% H.

0,1654 g Substanz (110°): 13,8 ccm N 21,5° und 742 mm B = 9,24% N.

0,1535 g Substanz (Vak. u. 110°): 0,354 g CO<sub>2</sub> und 0,774 g H<sub>2</sub>O und  
0,0195 g Asche = 62,89% C, 5,6% H und 8,9% Fe.

0,1771 g Substanz (Vak. u. 110°): 0,0235 g AgCl und 0,0219 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
 = 3,28% Cl und 8,65% Fe.

b) Einmal umgeschiedenes Produkt

0,1959 g Substanz (Vak. u. 100°): 0,0238 g AgCl und 0,0245 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
 = 3,0% Cl und 8,75% Fe.

Versuch 2. Ganz ähnliche Erfahrungen machte mein Assistent Lacour, der unter den soeben beschriebenen Bedingungen 10 g Hämin verarbeitete und ein zweimal umgeschiedenes Präparat von «Eppinger-Hämin» in geringer Menge erhielt, das ebenfalls nur ganz undeutlich krystallisiert erschien und auch nach der Analyse kein reines Hämin vorstellte.

0,2127 g Substanz (Vak. u. 120°): 0,0365 g AgCl und 0,0265 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
 = 4,24 g Cl und 8,7% Fe.

Unter den angegebenen Bedingungen und bei Verwendung der angegebenen Mengen ist es also nicht möglich gewesen, Hämin aus Hämatin zurückzuerhalten, geschweige denn in quantitativer Ausbeute. In den Mutterlaugen bleiben vielmehr immer, wie es von Nencki und Zaleski angegeben worden ist, wie es Zeynek<sup>1)</sup> neuerdings wieder bestätigt hat, nicht unbedeutende Mengen von Farbstoff gelöst. Bei der Umscheidung von Hämin erhält man nun häufig noch eine zweite Krystallisation, wenn aus den Mutterlaugen der ersten, die sich im Verlauf von 12–24 Stunden abgesetzt hat, das Chloroform langsam verdampft. Ich erwähnte bereits, daß bei dem ersten Versuche eine solche nicht beobachtet werden konnte, daß man aber nach Abdestillation der Essigsäure die noch gelösten Teile durch Eingießen in 1 %ige Salzsäure zur Abscheidung bringen konnte, und will noch die Analyse eines solchen Präparates anfügen, das mit kaltem Wasser chlorfrei gewaschen worden war.

0,1704 g Substanz (120°): 0,3738 g CO<sub>2</sub>, 0,0875 g H<sub>2</sub>O und 0,0202 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
 = 59,83% C, 5,7% H und 8,29% Fe.

0,2040 g Substanz (Vak.): 0,0415 g AgCl und 0,0224 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
 = 5,03% Cl und 7,69% Fe.

Wir finden hier also mehr Chlor, als in der ersten Abscheidung, und dieses Chlor erwies sich auch hier fest gebunden, der Gehalt des Produkts an Eisen ist dagegen vermindert, also

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XLIX, S. 475 (1906).

dasselbe Verhältnis, wie in den auf Seite 170 beschriebenen analog hergestellten Präparaten.

Versuch 3. Da bei den Versuchen 1 und 2 mit verhältnismäßig großen Häminmengen operiert worden war, wodurch sich ein längeres Verweilen des Farbstoffs in alkalischer Lösung ergab, was die Rückverwandlung des Hämatins in Hämin möglicherweise erschwert hatte, wurden in einer neuen Versuchsreihe nur 2 g Acethämin in der beschriebenen Weise behandelt. Auch wurde hier zum Auflösen des Hämatinschlammes eine größere Menge von Chloroform, etwa 150 ccm, verwendet, was eine schnellere Abscheidung des Wassers zur Folge hatte.

Das Gewicht der Abscheidung aus 2 Versuchen betrug hier 1,7 g, nach dem Verdampfen des Chloroforms hatte sich noch 1 g abgesetzt, nach Abdestillation des Eisessigs fielen beim Eintragen in 1%ige Salzsäure noch 1,2 g aus, so daß fast der gesamte Farbstoff wiedergewonnen wurde.

Das zuerst erhaltene Präparat (2,7 g) erschien nicht deutlich krystallisiert, gab aber, ohne noch einmal umgeschieden zu werden, bei der Analyse Werte, die mit den für Hämin berechneten nahezu übereinstimmen.

0,1863 g Substanz (105°): 0,4197 g CO<sub>2</sub> und 0,0813 g H<sub>2</sub>O  
= 62,05% C und 4,85% H.

0,1379 g Substanz (Vak.): 10,13 ccm N bei 13,4° und 746,5 mm B  
= 8,4% N.

0,2075 g Substanz (100°): 0,047 g AgCl und 0,0258 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
= 5,6% Cl und 8,7% Fe.

0,2073 g Substanz (Vak. u. 105°): 0,0433 g AgCl = 5,17% Cl.

Versuch 4. Endlich wurde noch ein weiterer Versuch unter Verwendung von Ammoniak anstelle der Natronlauge gemacht, da es nicht unmöglich war, daß die schwächere Basis einen geringeren Einfluß auf das Hämatin ausüben werde. Hier wurden 2 g Hämin in 200 ccm Wasser und 3 ccm 20%igen Ammoniaks gelöst, das Filtrat durch 100 ccm 2%ige Schwefelsäure gefällt und im übrigen, wie beim ersten Versuch beschrieben worden ist, verfahren. Der nach der zweiten Fällung erhaltene Hämatinschlamm mußte 3 Tage lang ausgewaschen werden, bis das Waschwasser SO<sub>4</sub><sup>-</sup>-frei war, der Schlamm wurde über Nacht auf Filtrierpapier liegen gelassen und dann

mit Hilfe von 2 g Chinin und im ganzen 200 ccm Chloroform in Lösung gebracht. Diese Lösung wurde dann getrocknet und in 300 ccm mit Kochsalz gesättigten Eisessig von 105° eingetragen. Nach 24 Stunden hatten sich dann sehr kleine, zu kugelförmigen Gebilden zusammengetretene Krystalle im Gewicht von 1 g abgeschieden, nach dem Verdampfen des Chloroforms wurden noch 0,1 g, aus der essigsäuren Lösung nach dem angegebenen Verfahren noch 0,4 g wiedergewonnen.

In den zuerst ausgeschiedenen Krystallen konnte, schon nach der Form zu urteilen, typisches Hämin nicht vorliegen. die Analyse ergab einen merkwürdig hohen Gehalt an Chlor: 0,1953 g Substanz (Vak. u. 100°): 0,0517 g AgCl = 6,54% Cl (Carius).  
0,2012 g Substanz (Vak. u. 100°): 0,0495 g AgCl = 6,08% Cl und  
0,0255 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  = 8,87% Fe.

Das Verhalten gegen 10%ige Salzsäure bei 130° (vgl. Teil II, S. 187) ergab endlich mit aller Schärfe, daß auch in diesen Präparaten kein Hämin zu suchen ist.

#### Zusammenfassung.

1. Die nach der Methode von Eppinger von uns hergestellten «Hämin»-Präparate erwiesen sich nicht als typisches Hämin.

2. Die nach der Methode von Siewert von uns hergestellten Hämine dürften typisches Hämin enthalten, aber im Gemenge mit anderen ähnlichen Körpern.

3. Je länger Hämatin in alkalischer Lösung verweilt hat, desto schwieriger ist typisches Hämin daraus wieder zu gewinnen.

4. Die durch Zersetzung des Hämatinbaryums durch Schwefelsäure und Alkohol bereitete Lösung des Hämatins gibt durch Salzsäure bei 50—72° ein in verdünnten Alkalien lösliches Produkt, bei ca. 80° ein zum Teil verestertes, d. h. alkaliumlösliches «Hämin».

#### 5. Abschnitt.

**Über die Valenz des Eisens in den Komponenten des Blutfarbstoffs und die Beziehungen derselben zu den Modifikationen des Hämoglobins.**

Die in den vorhergehenden Abschnitten beschriebenen Versuche haben den nach meiner Ansicht noch ausstehenden

Beweis dafür geliefert, daß im Hämin und im Hämatin Ferriverbindungen vorliegen; denn die Tatsache, daß das Eisen bei der Einwirkung von Schwefelsäure auf die genannten Körper als Ferrosulfat auftritt, sprach an und für sich gegen diese Annahme und die Beobachtung, daß bei der Abspaltung des Eisens durch Bromwasserstoff sowohl Ferro- wie Ferrisalz aufgefunden wurde, ließ den Schluß zu, daß wir es im Hämatin, wie Hoppe-Seyler es ja auch formuliert hat, mit einem Molekül  $C_{68}H_{70}O_{10}N_8Fe_2$  zu tun haben, welches das Eisen sowohl als Ferro- wie als Ferriverbindung enthalten konnte.<sup>1)</sup> Die von Zaleski<sup>2)</sup> ausgeführte Darstellung des hydrogenisierten Hämins, wobei das Eisen als Ferroacetat in die organische Substanz eintrat, war auch kein Beweis für den dreiwertigen Zustand des Eisens. Endlich konnte mich auch die Angabe Eppingers,<sup>3)</sup> wonach das Eisen nur als Ferriverbindung vorhanden sein soll, nachdem zum Zwecke der Hämatoporphyrindarstellung die Herausnahme durch Eisessig-Bromwasserstoff bewerkstelligt worden war, nicht überzeugen, zumal nähere Angaben vollständig fehlen. Solche waren gerade da am Platze, wo es galt, ältere Angaben zu berichtigen, d. h. es mußten die Bedingungen erprobt und geschildert werden, unter denen ein für allemal das neue Resultat erübrigt werden konnte. Solange das nicht geschehen war, behielt die vereinzelte Beobachtung den Stempel des Zufälligen, das gilt für Eppingers Angabe ebenso wie die von mir selbst gemachte, daß einmal das Eisen nach der Abspaltung aus dem Hämatin als Ferriverbindung angetroffen wurde.<sup>4)</sup> Nachdem aber festgestellt

<sup>1)</sup> Ich lege hier Wert auf die Doppelzahl der Eisenatome; da im Hämoglobin nur ein Atom Eisen enthalten ist, (vgl. Hüfner u. Gansser, Arch. f. [Anat. u. Physiol.] 1907, S. 209, so müßte bei der Abspaltung der eisenhaltigen Komponente eine Polymerisation erfolgen. An diese Möglichkeit habe ich einige Zeit gedacht, namentlich als Willstätter (Ber. d. d. chem. Ges., Bd. XLI, S. 1465, 1908) darauf hingewiesen hatte, daß in vielen organischen Farbstoffen wie auch im Berliner Blau stets ein Element in zwei verschiedenen Oxydationsstufen auftritt.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XLIII, S. 11.

<sup>3)</sup> Dissertation, München 1907, S. 24.

<sup>4)</sup> Mit wie wenig Überlegung Eppinger zu Werke gegangen ist,

worden war, daß immer nur ein kleiner Teil des Eisens, nicht etwa die Hälfte, als Ferriverbindung in der Lösung sich vorfand, nachdem des weiteren festgestellt war, daß Ferrisalze auch in saurer Lösung<sup>1)</sup> oxydierend auf das Hämatin wirken, kann es als erwiesen gelten, daß das Eisen primär als Ferriverbindung abgespalten wird und das Auftreten von Ferrosalz auf einen sekundären Prozeß zurückgeführt werden muß. Das Eisen ist also im Hämin und Hämatin dreiwertig, und zwar dürfte es im Hämin als Chlorferriradikal in die organische Substanz an die Stelle zweier Wasserstoffatome getreten sein. So haben es zuerst Nencki und Zaleski<sup>2)</sup> angenommen, und ich habe mich dieser Anschauung angeschlossen, nachdem ich zuerst im Hämin einen Körper erblickte, in welchem das Chlor am Kohlenstoff haften. Diese Anschauung veranlaßte mich, die Abspaltung von Chlorwasserstoff durch Anilin zu versuchen, und führte mich zur Auffindung des Dehydrochloridhämins. Nun geht aber aus allen Eigenschaften des letzteren hervor, daß es eine Mittelstellung zwischen Hämin und Hämatin einnimmt und sich in vielen Beziehungen dem letzteren mehr anschließt als dem Hämin. Ferner ist das nicht polymerisierte Hämatin zweifellos die zum Hämin gehörige Base, d. h. im letzteren ist das Eisen an Sauerstoff gebunden, und die Analogie des Dehydrochloridhämins mit dem Hämatin findet ihren Ausdruck darin, daß auch im ersteren die gleiche Bindungsart besteht. Die Herausnahme von Chlorwasserstoff ist also zwischen einem Hydroxyl und der Chlorferrigruppe erfolgt.<sup>3)</sup>

als er gegen die Anhänger des Ferrozustandes zu Felde zog, geht daraus hervor, daß er selbst für das Hämin die Formel benützt, welche die Zweiwertigkeit des Eisens voraussetzt. Ich habe mich in meinen letzten Abhandlungen der neuen Formel bedient, da ich bereits durch die unvollständig gebliebenen Untersuchungen von Nicole (1905) zu der Auffassung geführt wurde, daß die vorgefundene Ferroverbindung sekundären Ursprungs sei.

<sup>1)</sup> Die Oxydation des Hämatins durch Ferricyankalium in alkalischer Lösung wurde schon 1898 von Kölle benutzt, um Hämatinsäure zu erhalten.

<sup>2)</sup> Ber. d. d. chem. Ges., Bd. XXXIV, S. 1009 (1901).

<sup>3)</sup> Diese Anschauung ist in der Dissertation von Lacour (Würzburg 1907, S. 10) niedergelegt, sie findet sich ebenfalls in der mehrfach erwähnten Dissertation von Eppinger.

Für die Auffassung, daß im Hämin ein Salz im obigen Sinne vorliegt, spricht ferner die stürmische Entwicklung von Chlorwasserstoff auf Zusatz von Schwefelsäure, wenn auch Beispiele bekannt sind, daß sich Körper mit Kohlenstoff-Chlorbindung ganz gleich verhalten.<sup>1)</sup>

Was den Ort der Bindung des Eisens anlangt, so erklärt sich nicht nur die Beständigkeit des Hämatins gegen Alkalien und schließlich auch gegen Säuren, sondern auch die Art und Weise, in welcher Eisen wie andere Metalle in das Mesoporphyrin durch Zaleski wieder eingeführt werden konnten, ohne Aufhebung der sauren Eigenschaften,<sup>2)</sup> nur durch die Annahme, daß es Imidwasserstoffatome sind, die hier ersetzt werden.<sup>3)</sup> Und daß nur das Imid von Pyrrolgruppen in Betracht kommt, folgt daraus, daß sich das ganze Hämatinmolekül aus solchen aufbaut, wie ja neuerdings wieder durch die Untersuchungen von Piloty<sup>4)</sup> dargetan worden ist; allerdings sind Verbindungen einfacher Pyrrole, in denen Eisen den Wasserstoff des Imids ersetzt, bisher nicht bekannt.

Was die Ursache der sauren Eigenschaften des Hämatins betrifft, so tritt neuerdings Willstätter<sup>5)</sup> entschieden für das Vorhandensein zweier Carboxyle ein. In der Tat spricht eine ganze Anzahl von Beobachtungen für diese Ansicht, so die Bildung von Dialkylderivaten unter Bedingungen, die zu Estern führen, ihre Unlöslichkeit in verdünnten Alkalien und die Möglichkeit, sie leicht wieder zu verseifen; auch die glatte Umsetzung von Hämatin und Dehydrochloridhämin mit zwei Molekeln Alkali und die Beobachtung, daß Kohlendioxyd aus solchen Lösungen das Hämatin nicht ausfällt, dürfen hier wohl angeführt werden. Daß umgekehrt Hämatin aus Carbonaten

<sup>1)</sup> Tritolylmethylchlorid spaltet z. B. durch  $H_2SO_4$ , Chlorwasserstoff ab: Norris Americ. Chem. Journ. Bd. XXXVIII, S. 627; Chem. Zentralbl. 1908, 1, S. 368.

<sup>2)</sup> Bekanntlich lieferten auch die Ester des Mesoporphyrins unter den gleichen Bedingungen Metallderivate.

<sup>3)</sup> Nencki u. Zaleski nehmen eine Bindung mit dem Kohlenstoff an. Ber. d. d. chem. Ges., Bd. XXXIV, S. 1009 (1901).

<sup>4)</sup> Liebigs Ann. d. Chem., Bd. CCCLXVI, S. 237 (1909).

<sup>5)</sup> Liebigs Ann. d. Chem., Bd. CCCLXXI, S. 50 (1909).

Kohlendioxyd nicht austreibt, spricht nicht gegen die Säurenatur, da Aminosäuren das gleiche Verhalten zeigen und zudem sichergestellt wurde, daß sich saures Carbonat bildet, allerdings können auch bestimmte Phenole sich mit Carbonaten zu Salzen vereinigen.<sup>1)</sup> Gegen das Vorhandensein zweier Carboxyle spricht die Beobachtung, daß zwei Monoalkylderivate und zwar der Monoamylester des Hämins<sup>2)</sup> und der Monoäthylester des Bromhämins<sup>3)</sup> in Alkalien unlöslich sind, während die Tatsache, daß ein Natrium sich in der wässerigen Lösung als fester gebunden erweist wie das zweite Atom dieses Metalls, in der schwächeren Natur eines zweiten Carboxyls ihre Erklärung findet. Hiermit steht denn auch in Zusammenhang, daß die durch Fällungsreaktionen erhaltenen wasserunlöslichen Salze<sup>4)</sup> nicht ganz die erwartete Zusammensetzung besaßen. Auch sei daran erinnert, daß selbst die niedermolekulare, allerdings dreibasische Hämatinsäure mit den Erdalkalimetallen nicht normale Salze gibt und daß auch hier auf vier Moleküle der Säure nicht sechs, sondern nur fünf Atome Calcium oder Baryum erscheinen; es ist also sehr wohl denkbar, daß bei dem hochmolekularen Hämatin die Salzbildung ebenfalls nicht normal erfolgt, ganz davon abgesehen, daß sich hier ja auch, wie bewiesen werden konnte, der Dispersitätsgrad allmählich verringert, bei welcher Polymerisation auch die Carboxyle möglicherweise eine Rolle spielen. Es ist nach allem das Vorhandensein zweier Carboxyle im Hämatin mit hoher Wahrscheinlichkeit anzunehmen, während es zweifellos durch die ausgezeichneten Untersuchungen von Willstätter<sup>5)</sup> dargetan wurde, daß in den Derivaten des Chlorophylls Carboxyle vorhanden sind. Und da hier das Magnesium, wie exakt bewiesen wurde, nicht den Wasserstoff derselben ersetzt, sondern Imidwasserstoff, liegt ein ganz sicherer Grund vor, dem Eisen des

<sup>1)</sup> H. Meyer, Monatshefte f. Chemie, Bd. XXVIII, S. 1381 (1908).

<sup>2)</sup> Nencki u. Zaleski, diese Zeitschr., Bd. XXX, S. 411 (1900).

<sup>3)</sup> W. Küster, Diese Zeitschr., Bd. XL, S. 400 (1904).

<sup>4)</sup> Eine Wasseraufnahme kann hierbei nicht wohl mitspielen, beim Baryumsalz müßten z. B. nicht weniger als 10 Molekeln eintreten.

<sup>5)</sup> Liebigs Annalen der Chemie, Bd. CCCLXXI, S. 33 (1909).

Hämatins eine entsprechende Stellung im Molekül anzuweisen. Allerdings ist das Magnesium im Chlorophyll nicht so fest gebunden wie das Eisen im Hämatin, es wird bekanntlich schon bei Zimmertemperatur durch Einwirkung von Oxalsäure aus der alkoholischen Lösung des Farbstoffs herausgenommen,<sup>1)</sup> während Hämoglobin, durch oxalsäurehaltigen Alkohol zerlegt,<sup>2)</sup> eine Lösung der eisenhaltigen Komponente gibt, aus der auf Zusatz von Salzsäure Hämin ausfällt. Führt man aber Eisen an die Stelle des Magnesiums, so erweist es sich ebenso fest gebunden wie im Hämatin: eine Lösung von Phaeophytin in Eisessig gibt mit Ferrisalz eine Verbindung, aus der das Metall mit Salzsäure, selbst beim Kochen mit starker Säure nicht entfernt wird.<sup>3)</sup> So sprechen auch diese Befunde dafür, daß beide Metalle den gleichen Platz einnehmen.

Nun ist nach Willstätter<sup>4)</sup> das Magnesium in den «Phyllinen» komplex, d. h. mit Haupt- und Nebervalenzen an die stickstoffhaltigen Gruppen des Moleküls gebunden «in Übereinstimmung mit den Anschauungen von A. Werner und in Analogie mit den von H. Ley und L. Tschugaeff erforschten Metallderivaten verschiedener Säureimide, des Biurets und des Dicyandiamidins» und auch das Hämin ist als ein inneres Komplexsalz aufzufassen, wofür nach Willstätter namentlich die Unterschiede in den Spektren zwischen eisenhaltigen und eisenfreien Verbindungen der Hämingruppe sprechen. Da diese Vorstellung in der Tat mit allen Beobachtungen vorzüglich übereinstimmt, zögere ich nicht, sie zu akzeptieren, um so weniger, als auch das eingeführte Eisen und das Silber sich als komplex gebunden erwiesen haben.

Wie im Hämin die Chloroferrigruppe zwei Wasserstoffatome zweier Imidgruppen ersetzt, so im Hämatin die Hydroxyferrigruppe, denn das letztere verhält sich zum Hämin wie die Base zum Salz, wenigstens gilt dies für das von Zeynek<sup>5)</sup>

<sup>1)</sup> Willstätter, Liebigs Ann. d. Chem., Bd. CCCLIV, S. 219.

<sup>2)</sup> Rosenfeld, Arch. f. exp. Path. u. Pharmak., Bd. XL, S. 142 (1898).

<sup>3)</sup> Willstätter, Liebigs Ann. d. Chem., Bd. CCCLIV, S. 224.

<sup>4)</sup> Liebigs Ann. d. Chem., Bd. CCCLXXI, S. 47 (1909).

<sup>5)</sup> Diese Zeitschrift. Bd. XXX, S. 128 (1900).

aus dem Blutfarbstoff durch Verdauung der Eiweißkomponente hergestellte Hämatin. Der noch feuchte Schlamm desselben wird in Aceton suspendiert und in kleinen Anteilen Salzsäure hinzugesetzt (für 1 g ca. 0,06—0,08 g HCl). Rasch nach dem Salzsäurezusatz gehen die Hämatinkörner in Lösung, die Flüssigkeit erwärmt sich dabei in geringem Maße; nach kurzer Zeit beginnt die Ausscheidung von prächtigen mikroskopischen Hämatinkristallen, welche nach einigen Stunden beendet zu sein scheint.<sup>1)</sup> Danach haben wir es mit einer typischen Salzbildung zu tun. Ein ähnliches Verhalten zeigt das aus dem Hämin durch Einwirkung von Alkalien erhaltene Hämatin nicht.

Daß auch mit Hilfe der zuerst von Schälfejeff angegebenen Umscheidung aus solchem Hämatin ein typisches Hämin von uns nicht erhalten werden konnte, habe ich im 4. Abschnitt<sup>2)</sup> beschrieben. Allen Erfahrungen, auch denen, welche bei der Herstellung des Baryumsalzes gemacht wurden,<sup>3)</sup> entspricht am besten, in diesem Hämatin ein durch Polymerisation<sup>4)</sup> aus dem Zeynekschen Verdauungshämatin hervorgegangenes Produkt zu erblicken. Diese Umwandlung stellt sich namentlich bald in stark alkalischer Lösung, bei längerem Verweilen auch in schwach alkalischer Lösung ein, beim Dehydrochloridhämin dürfte sie sogar bereits beim Aufbewahren des trockenen Präparats erfolgen. Es scheint mir also durchaus am Platze, für die beiden Hämatine ein unterscheidendes Merkmal einzuführen, und ich werde das Verdauungshämatin, das weder mit einem Alkali in Berührung gekommen ist noch mit einer Säure, denn auch in essigsaurer Lösung dürfte die Polymerisation erfolgen, als  $\alpha$ -Hämatin, das auf dem Umwege über das Hämin hergestellte als  $\beta$ -Hämatin bezeichnen.

<sup>1)</sup> Ähnliches beobachteten wir beim Dehydrochloridhämin, vgl. S. 171.

<sup>2)</sup> Vgl. S. 214.

<sup>3)</sup> Vgl. S. 217.

<sup>4)</sup> Die Stelle, an welcher die Polymerisation erfolgt, dürfte im organischen Teil der Molekel zu suchen sein, allerdings ist das Hämin als Derivat des Ferrichlorids anzusehen und auch dieses kann sich polymerisieren (A. Werner, „Neuere Anschauungen auf dem Gebiete der anorg. Chemie, S. 93).

Die Reduktion von hämatinhaltigen Flüssigkeiten hat zuerst Stokes<sup>1)</sup> mit Hilfe der nach ihm benannten Reagenzien ausgeführt, der hierbei entstehende Körper wurde dann von Hoppe-Seyler,<sup>2)</sup> der ihn aus dem Hämoglobin herstellte, Hämochromogen genannt. Eine Darstellung in größeren Mengen oder im reinen Zustande gelang ihm nicht, die Versuche scheiterten «an seiner großen Löslichkeit und leichten Oxydation». So wurde das Hämochromogen lediglich durch das charakteristische Spektrum seiner sauren<sup>3)</sup> resp. namentlich seiner alkalischen Lösung identifiziert.

Erst Zeynek<sup>4)</sup> ist es gelungen, wenigstens ein Salz des Hämochromogens in annähernd reinem Zustande herzustellen und zwar mit Hilfe von Hydrazin, auf dessen Verwendbarkeit zuerst Curtius<sup>5)</sup> hingewiesen hatte, später hat sich auch Pregl<sup>6)</sup> desselben Mittels bedient. Als geeignet, das Hämatin zum Hämochromogen zu reduzieren, erwiesen sich ferner hydroschwefligsaures Natrium und dann namentlich Schwefelwasserstoff in alkalischer Lösung, die Hoppe-Seyler<sup>7)</sup> bei seinen Versuchen über das Kohlenoxydhämochromogen benützte. Als

<sup>1)</sup> Hoppe-Seylers Lehrbuch der physiol. Chem., S. 392.

<sup>2)</sup> Med. chem. Untersuchungen, S. 540.

<sup>3)</sup> Hämatin löst sich in saurem Alkohol besser als in Alkohol allein, was ich bisher darauf zurückgeführt habe, daß sich z. B. ein leicht lösliches schwefelsaures Salz bildet analog dem Hämin, also ein Eisensalz. Da beim Hämochromogen eine ähnliche Salzbildung ausgeschlossen ist, halte ich es für sehr wahrscheinlich, daß auch der organische Teil des Moleküls basische Eigenschaften besitzt und mit Säuren Salze zu bilden vermag. Das Hämochromogen wird als Ferroverbindung stärker basisch sein als die Ferriverbindung «Hämatin» und demzufolge wird eine stärkere Abschwächung der sauren Teile hervorgerufen als im Hämatin, bei dem sich vielleicht zwei Carboxyle mit zwei basischen Gruppen des Moleküls nahezu ausgleichen. Möglicherweise erklärt sich hieraus auch die Tatsache, daß das Hämochromogen Eisen leichter abspaltet als Hämatin. Diese Anschauungen lassen sich bei der Aufstellung eines Formelbildes benützen, worauf ich später zurückkommen werde.

<sup>4)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 492 (1898).

<sup>5)</sup> Journ. f. prakt. Chem., Bd. XXXIX, S. 43.

<sup>6)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XLIV, S. 173.

<sup>7)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XIII, S. 476 (1882).

ungeeignet zur Reduktion des Hämatins fand Zeynek<sup>1)</sup> die schweflige Säure.

Überblicken wir diese Mittel, so fällt ihre Verschiedenartigkeit in die Augen, und da alle im gleichen Sinne wirken, erscheint es mir ausgeschlossen, daß es der organische Teil des Moleküls ist, der hierbei eine Veränderung erleidet. Am Eisen aber können sie sich alle in gleicher Weise betätigen, d. h. sie können die Ferriverbindung «Hämatin» zur Ferroverbindung Hämochromogen reduzieren. Schwefelwasserstoff wirkt am besten, und es ist bekannt, daß dieses Mittel Ferrisalze am vollständigsten reduziert, während schweflige Säure als ungesättigter Körper als ein weniger günstiges Agens erscheint und zudem die ausgesprochene Fähigkeit besitzt, beständige komplexe Salze zu bilden, auch mit dem Eisen.<sup>2)</sup>

In der Tat hat bereits Hoppe-Seyler das Hämochromogen stets als Ferroverbindung angesprochen; einen Beweis für die Richtigkeit der soeben entwickelten Anschauungen bringen endlich die Analysen, welche Zeynek mit seinem Hämochromogenammonium<sup>3)</sup> ausgeführt hat. Aus ihnen geht hervor, daß zwei Moleküle Hämatin bei der Reduktion ein Atom Sauerstoff verlieren, wir treffen also dasselbe Verhältnis an wie in anorganischen Ferri- und Ferroverbindungen.<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XLIX, S. 481 (1906).

<sup>2)</sup> A. Werner, Neuere Anschauungen auf dem Gebiete der anorgan. Chemie (Braunschweig, bei Vieweg, 1909, S. 129).

<sup>3)</sup> Zeynek bezieht seine Analysen noch auf die Nenckische Formel  $C_{34}H_{32}O_4N_4Fe$  für das Hämatin; seine Befunde stimmen aber auch ganz gut auf das Monoammoniumsalz  $C_{34}H_{35}O_4N_5Fe$  des Hämochromogens, das aus dem Hämatin  $C_{34}H_{34}O_4N_4FeOH$  durch Wegnahme des Hydroxyls und Addition von 1 Mol. Ammoniak hervorgeht:

Berechnet: 64,45% C, 5,53% H, 11,06% N, 8,85% Fe

Gefunden: 63,83            5,66            11,48            9,25

wenn man annimmt, daß etwas mehr als ein Molekül Ammoniak eingetreten ist.

<sup>4)</sup> Ein sehr merkwürdiges Verhalten zeigt das Pyridin dem Hämatin gegenüber. Donogany und Kobert wollen mit Hilfe desselben krystallinisches Hämochromogen in mikroskopischen Präparaten erhalten haben und K. Bürker, dessen Monographie des Hämoglobins in Tigerstedts Handbuch der physiologischen Methodik ich diese Angaben entnehme.

Nach allem ist das Hämochromogen eine Ferroverbindung und die Anlagerungen von Gasen, wie Sauerstoff, Kohlenoxyd<sup>1)</sup> und Stickoxyd, finden am Eisen statt, das hier eine Hauptvalenz noch disponibel hat.

Hüfner<sup>2)</sup> hat diese Frage noch als unentschieden hingestellt, aber schon die Tatsache, daß sich das Hämatoporphyrin von Nencki nicht unter den gleichen Bedingungen wie Hämatin reduzieren läßt und nach der Behandlung mit Hydrazin z. B. Kohlenoxyd nicht anlagert,<sup>3)</sup> spricht für eine Beteiligung des Eisens.<sup>4)</sup> Des weiteren addiert die Ferriverbindung Hämatin kein Kohlenoxyd, es dürfte auch nicht möglich sein, ein Peroxyd zu erhalten, während ein solches des Hämochromogens vielleicht einmal gefaßt werden wird, denn nach Pellini-Meneghini<sup>5)</sup> findet zwischen Ferrosalzen und Wasserstoff-

---

sagt, daß die Krystallisationsfähigkeit des Hämochromogens unter dem Einfluß des Pyridins eine geradezu erstaunliche ist (S. 150). Zeynek (Diese Zeitschrift, Bd. XXX, S. 134) bestätigt diese Beobachtungen insoweit, als eine Lösung von Hämatin in Pyridin nicht das Spektrum alkalischer Hämatinlösungen zeigt, aber auch nicht das Hämochromogenspektrum, somit kann das Pyridin nicht zu den Hämochromogen bildenden Mitteln gezählt werden. Nun ist die Löslichkeit des Hämatins in Pyridin zweifellos bedingt durch Salzbildung und somit gelangt das Pyridin, wenn auch nicht in direkte Bindung, so doch in unmittelbare Nähe des Eisens, wodurch bereits möglicherweise die Tendenz zur Bildung der Ferroverbindung bewirkt werden könnte. Verbindungen des Eisens mit 3 Molekeln Dipyridyl (oder 3 Mol. Phenanthrolin) sind nämlich unbeständig und lagern sich zu Ferroverbindungen um. (Zitiert nach A. Werner, Neuere Anschauungen auf dem Gebiete der anorg. Chemie, S. 72.)

<sup>1)</sup> Hoppe-Seyler, Diese Zeitschrift, Bd. XIII, S. 476, und Hüfner und Küster, Archiv f. [Anat. u.] Physiol., 1904, Suppl., S. 387.

<sup>2)</sup> Archiv f. [Anat. u.] Physiol., 1907, S. 469.

<sup>3)</sup> Ein nicht publiziertes Resultat von Hüfner und mir.

<sup>4)</sup> Aus den Untersuchungen von Manchot über das Verhalten ungesättigter Metallsalze gegenüber Gasen, wie CO, NO, C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>, geht zudem hervor, daß Metalle wie Eisen und Kupfer tatsächlich jene Gase anlagern können. (Liebig's Ann. der Chem., Bd. CCCLIX, S. 100 [1908] und Bd. CCCLXX, S. 286 [1909].)

<sup>5)</sup> Zeitschr. f. anorg. Chem., Bd. LXII, S. 203; vgl. auch G. Just, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XL, S. 3695, und L. Moeser und H. Birck, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XLII, S. 4279; ferner W. Manchot, Zeit-

peroxyd jedenfalls eine chemische Verbindung statt, während Ferrisalze eine solche nicht oder nur sehr langsam einzugehen vermögen.

Die für das Hämatin entwickelten Anschauungen lassen sich auf den Blutfarbstoff selbst (das Hämoglobin) übertragen, da ganz sicher erwiesen ist, daß die erwähnten Additionen nicht am Globin, sondern an der eisenhaltigen Komponente stattfinden.<sup>1)</sup> Wie exakt bewiesen wurde, nimmt eine Molekel Hämochromogen eine Molekel Kohlenoxyd auf, und für eine Molekel Hämoglobin gilt dasselbe Verhältnis. Für letztere ist nun aber auch sichergestellt, daß sie eine Molekel Sauerstoff addiert, die dann durch eine Molekel Kohlenoxyd verdrängt werden kann und an deren Stelle schließlich eine Molekel Stickoxyd treten kann. Es ist also klar, daß sich beim Übergang von Hämoglobin in Oxyhämoglobin die eisenhaltige Komponente ebenfalls mit  $O_2$  beladet; geht diese Addition am Eisen vor sich, so entsteht ein Hämochromogenperoxyd ( $R > Fe + O_2 = R > Fe :: O_2$ ), und dieser Körper kann mit dem Hämatin, das wir als Ferriverbindung erkannt haben, nicht identisch sein. Vielmehr haben wir im Hämatin die Komponente des Methämoglobins vor uns, was mit allen in dieser Beziehung gemachten

---

schrift f. anorg. Chem., Bd. XXVII, S. 420 (1901), und *Annal. d. Chemie*, Bd. CCCXXV, S. 105.

<sup>1)</sup> Es ist also für unsern Zweck gleichgültig, wie die beiden Komponenten miteinander verbunden sind; doch möchte ich eine Ansicht vertreten, da schon verschiedentlich Ideen über diese Bindung geäußert worden sind, so glaubt Hüfner (*Arch. f. [Anat. u.] Physiol.* 1899, S. 491), daß die beiden Komponenten des Hämoglobins durch Sauerstoff zusammengehalten werden, weil Hydrazin die Zerlegung bewirkt. Ich halte es für wahrscheinlicher, daß das Globin nach Art der Polypeptide mit dem Hämatin verknüpft ist und zwar in der Weise, daß Carboxyle des Globins mit den basischen Gruppen des Hämatins verankert sind, was die so leicht zu bewerkstelligende Trennung beider Teile wohl am besten erklärt, auch die mittels Hydrazin, da wir ja u. a. auch die zu den Aminosäuren gehörigen Aldehyde kennen gelernt haben. Wenn bei der Trennung Sauerstoff aufgenommen wird und zwar nicht weniger als 11 Atome pro Molekül (M. Lebensbaum fand für 100 g Hb 1,014—1,1 g Sauerstoff, *Monatshefte f. Chem.*, 8, S. 165), so kann das natürlich nicht das Hämochromogen betreffen.

Beobachtungen vortrefflich übereinstimmt, und kommen damit zu Vorstellungen zurück, wie sie Hoppe-Seyler<sup>1)</sup> stets vertreten hat, und müssen mit der u. a. von Nencki<sup>2)</sup> niedergelegten Ansicht brechen, wonach «der eigentliche farbige Bestandteil der Hämoglobine verschiedener Blutarten das Hämatin ist».

Hämin oder Hämatin bilden sich also aus dem Hämoglobin nur dann, wenn der Luftsauerstoff Zutritt hat, sonst entsteht Hämochromogen, und aus dem Oxyhämoglobin entstehen die erwähnten Körper auch nur indirekt durch Abgabe des addierten molekularen Sauerstoffs und darauf folgende Aufnahme desselben in feste Bindung. Aus dem Methämoglobin bildet sich Hämin direkt, wie dies Hoppe-Seyler<sup>3)</sup> bereits erkannt hat und wie es von Zeynek<sup>4)</sup> neuerdings bestätigt wurde, der die guten Ausbeuten dabei besonders betont.

So erklärt sich zunächst die Reaktionsunfähigkeit des Methämoglobins innerhalb der Blutbahn aufs beste durch das Vorliegen der beständigen Ferriverbindung; aber auch zahlreiche Versuche,<sup>5)</sup> aus denen hervorgeht, daß dem Körper einverleibtes Hämin oder Hämatin nicht oder nur schwer verwertet wird, finden aus demselben Grunde eine Erklärung, so daß wir immer noch daran denken können, daß die allen Blutarten

<sup>1)</sup> Z. B. diese Zeitschr., Bd. XIII, S. 494. «Das Hämatin ist eine Substanz, die durch Oxydation aus dem Hämochromogen entsteht, aber ohne Zweifel weniger Sauerstoff enthält, als das im Oxyhämoglobin enthaltene «Sauerstoffhämochromogen», ebenso wie das Methämoglobin weniger Sauerstoff enthält als das Oxyhämoglobin selbst».

«Es ist am wahrscheinlichsten, daß das Hämatin eine Ferriverbindung ist, während Hämochromogen das Eisen als Ferroatom enthält».

<sup>2)</sup> Arch. f. exp. Path. u. Pharmak., Bd. XVIII, S. 4.

<sup>3)</sup> Diese Zeitschr., Bd. II, S. 149. Methämoglobin ist eine Verbindung, welche auch bei Abwesenheit von Sauerstoff durch Einwirkung von Alkali oder Säure in Hämatin und einen Eiweißstoff gespalten wird, und in welcher sich das Eisen im Oxydzustand befinden wird, während es im Hämochromogen, Hämoglobin und Oxyhämoglobin nachweisbar im Oxydulzustande enthalten ist.

<sup>4)</sup> Arch. f. [Anat. u.] Physiol. 1899, S. 488.

<sup>5)</sup> Abderhalden beobachtete bei seinen Versuchen nur dann eine Aufnahme, wenn die Versuchstiere ein eisenarmes Futter erhielten (Zeitschr. f. Biologie, Bd. XXXIX, S. 113, 191, 487 [1900].)

gemeinsame eisenhaltige Komponente des Blutfarbstoffs wenigstens von den fleischfressenden Tieren<sup>1)</sup> nicht neu gebildet zu werden braucht, da das Hämochromogen vielleicht leichter assimiliert wird.<sup>2)</sup>

Das Methämoglobin nimmt somit eine Mittelstellung zwischen Hämoglobin und Oxyhämoglobin ein, und hierfür sprechen zunächst alle Bildungsweisen desselben. a) Aus Oxyhämoglobin bildet es sich spontan — hierbei wird ein Teil des schon vorhandenen Sauerstoffs fest gebunden — oder unter dem Einfluß von Oxydationsmitteln,<sup>3)</sup> wobei es zunächst zur Abspaltung des locker gebundenen molekularen Sauerstoffs kommt, während der fest gebundene Sauerstoff von dem zugefügten Mittel stammt, das also eine Reduktion erleidet, wie dies für das Ferricyankalium von Haldane<sup>4)</sup> und von Zeynek<sup>5)</sup> nachgewiesen wurde. b) Aus Hämoglobin kann sich Methämoglobin nur bilden, wenn ein oxydierendes Agens zugegen ist, während es c) aus Oxyhämoglobin auch durch reduzierende Mittel erhalten wird. Hier ist vor allem die Beobachtung von Hoppe-Seyler<sup>6)</sup> anzuführen, wonach die erwähnte Umwandlung durch ein stark mit Wasserstoff beladenes Palladiumblech bewirkt wird. Sie wurde auch von ihm dahin gedeutet, daß Methämoglobin weniger Sauerstoff enthalten müsse als Oxyhämoglobin. Der Versuch ist sogar ein typisches Beispiel für

<sup>1)</sup> Vgl. meine Ausführungen in der Zeitschr. f. angew. Chemie. Bd. XIX.

<sup>2)</sup> Nach hämoglobinhaltiger Nahrung findet sich allerdings Hämatin massenhaft in den Faeces (Hoppe-Seyler, Diese Zeitschr., Bd. I, S. 339, 1877), das könnte aber auf Rechnung des Methämoglobins gesetzt werden.

<sup>3)</sup> Hierzu gehört auch das Hydroxylamin (Hüfner, Arch. f. [Anat. u.] Physiol. 1899, S. 491, vgl. Lassar-Cohn, Arbeitsmethoden, S. 1018).

<sup>4)</sup> Journal of Physiology. Bd. XXII, S. 300. Hier wird außerdem festgelegt, daß Oxyhämoglobin ebensoviel Sauerstoff durch Auspumpen, wie auf Zusatz von Ferricyankalium liefert, daß Kohlenoxydhämoglobin das gleiche Volumen Kohlenoxyd abgibt, und daß bei der Oxydation von Hämoglobin durch  $K_3Fe(CN)_6$  kein Oxyhämoglobin entsteht, sofern nur der Luftsauerstoffzutritt verhindert wird.

<sup>5)</sup> Arch. f. [Anat. u.] Physiol. 1899, S. 460.

<sup>6)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. II, S. 149.

die Wirkung eines Superoxyds:  $AO_2 + B \longrightarrow AO + BO$ , hier ist der Wasserstoff der Akzeptor B, und der Verlauf der Reduktion ist zu formulieren:  $HbO_2 + 3 H = Hb \cdot OH + H_2O$ . Das Moloxyd hat den Sauerstoff «hälftig» abgegeben; der Autoxydator ist selbst oxydiert worden.<sup>1)</sup>

Bei der Reduktion des Methämoglobins endlich z. B. durch Schwefelammonium bildet sich nur Hämoglobin, falls für Ausschluß des Luftsauerstoffs gesorgt wird (Haldane).<sup>2)</sup> Die Annahme also, daß die Reduktion des Methämoglobins zum Hämoglobin über das Oxyhämoglobin führe, ist unbegründet, auch kann umgekehrt gezeigt werden, daß, wenn Ferricyanalkalium auf Hämoglobin wirkt, bei Ausschluß von Luftsauerstoff intermediär kein Oxyhämoglobin entsteht.<sup>3)</sup>

Für die Auffassung, daß Methämoglobin die Ferriverbindung ist und als Komponente das Hämatin enthält, sprechen aber noch eine ganze Anzahl anderer Beobachtungen. So ist nach Hasselbach<sup>4)</sup> das Hämoglobin lichtbeständig, Oxyhämoglobin wird aber in Methämoglobin verwandelt, wenn Sauerstoff vorhanden ist, und dieses wird im Vakuum durch Belichtung in Hämoglobin übergeführt, ebenso wird Hämatin zu Hämochromogen reduziert. Nun ist aber bekannt, daß Ferrerverbindungen im Licht beständig sind, Ferriverbindungen nicht; das Commentar zum deutschen Arzneibuch von Schneider-Süss fordert für erstere die Aufbewahrung in hellen Gefäßen, für letztere werden braune Gläser verwendet.<sup>5)</sup>

<sup>1)</sup> Engler, Diese Zeitschrift, Bd. LIX, S. 335. In vitro tritt also ein ganz anderer Zerfall ein als in vivo, vgl. hierzu Hüfner, Archiv für [Anat. u.] Physiol., 1907, S. 468, Anm.

<sup>2)</sup> Journ. of Physiol., Bd. XXII, S. 300.

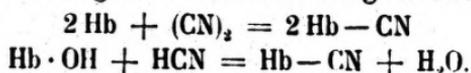
<sup>3)</sup> Diese Ausführungen von Haldane richten sich gegen Jäderholm (Zeitschr. f. Biol. Bd XVI, S. 1), Saarbach (Pflügers Arch., Bd. XXVIII, S. 387 [1882]) und Dittrich (Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm., Bd. XXIX, S. 267 (1891)), die im Methämoglobin mehr Sauerstoff annehmen zu müssen glaubten als im Oxyhämoglobin. Gegen diese Ansicht hatte sich auch schon Araki (Diese Zeitschrift, Bd. XIV, S. 412 (1890)) gewendet.

<sup>4)</sup> Bioch. Zeitschrift, Bd. XIX, S. 435.

<sup>5)</sup> Das deutsche Arzneibuch fordert nur für das Ferrum citricum

Das Methämoglobin hat ferner ein wenig stärker saure Eigenschaften als Hämoglobin oder Oxyhämoglobin,<sup>1)</sup> auch diese Beobachtung läßt sich darauf zurückführen, daß die Ferroverbindungen als stärkere Basen den sauren Charakter des Gesamtmoleküls mehr herabsetzen als die schwächer basische Ferriverbindung.

Namentlich können aber die schönen Untersuchungen von Zeynek<sup>2)</sup> über das Cyanhämoglobin für die Richtigkeit der hier vertretenen Auffassung angeführt werden. Zeynek fand, daß sich Hämoglobin mit Cyan und zwar im Verhältnis Hb—CN vereinigt, nicht aber mit Blausäure; Methämoglobin aber setzt sich mit letzterer um, wobei dasselbe Produkt Hb—CN entstand, Oxyhämoglobin reagierte im gleichen Sinne, aber viel langsamer. Diese Reaktionen lassen sich nun sehr einfach durch die folgende Formulierung wiedergeben.



Es steht allerdings noch aus, die letztere Gleichung auch für das Hämatin zu verwirklichen.

Ich komme zum Schluß auf die wichtigen Umsetzungen des Blutfarbstoffs und seiner eisenhaltigen Komponente mit dem Stickoxyd, das bekanntlich die stärkste Verwandtschaft zu jenen zeigt und nicht nur Kohlenoxyd aus dem Kohlenoxydhämoglobin austreibt, wobei sich nach L. Hermann<sup>3)</sup> die Verbindung Hb—NO bildet, da nach der Verdrängung des Kohlenoxyds eine Änderung der Größe des über der Lösung befindlichen Gasvolumens nicht eintritt, sondern sich auch mit dem Methämoglobin, das durch Kohlenoxyd nicht verändert wird, und mit dem Hämatin<sup>4)</sup> verbindet. Hier muß ich vor allem

---

oxydatum eine Aufbewahrung unter Lichtabschluß, dagegen ist in der Pharmakopoea helvetica IV bei sämtlichen Ferriverbindungen diese Forderung vermerkt, die Ferroverbindungen sind an einem hellen Ort aufzubewahren. Eine Ausnahme macht hier das Ferrum lacticum.

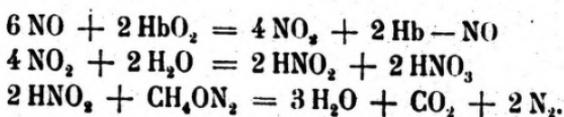
<sup>1)</sup> Zeynek, Arch. f. Anat. u. Physiol., 1899, S. 460.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 426.

<sup>3)</sup> Archiv f. Anat., Physiol. u. wissenschaft. Medicin, 1865, S. 469.

<sup>4)</sup> G. Linossier, Comptes rendues, Bd. CIV, S. 1296. Jahresberichte über die Fortschr. d. Tierchemie, Bd. XVII, S. 126 (1887).

den Versuch von Hüfner und Külz<sup>1)</sup> berühren, auf Grund dessen Hüfner bis an sein Lebensende die Meinung verfochten hat, im Methämoglobin sei gleichviel Sauerstoff wie im Oxyhämoglobin vorhanden. Es wurden die Stickgasmengen verglichen, welche von gleichen Mengen gleich konzentrierter Lösungen von Oxyhämoglobin resp. Methämoglobin beim Schüteln mit Stickoxyd aus zugefügtem Harnstoff entbunden wurden. Der Verlauf der Reaktion wurde von ihnen in folgenden Phasen erwartet:



Da sich nun in beiden Versuchsreihen die gleichen Mengen von Stickstoff ergaben, folgerten sie, daß auch Oxyhämoglobin und Methämoglobin gleiche Mengen von Sauerstoff enthalten müssen. Dieser Schluß ist aber nicht richtig, denn, wie aus obigen Gleichungen erfolgt, wird die Hälfte des Sauerstoffs des Oxyhämoglobins zur Bildung von Salpetersäure verbraucht, die auf den Harnstoff ohne Einfluß ist. Diese Hälfte braucht infolgedessen im Methämoglobin gar nicht vorhanden zu sein, ohne daß das Resultat in bezug auf die Menge des Stickstoffs beeinflusst wird. In der Tat gibt Methämoglobin, als Hb-OH aufgefaßt, im Sinne der Hüfnerschen Gleichungen genau soviel salpetrige Säure wie Oxyhämoglobin, denn  $\text{HbOH} + 2 \text{NO} = \text{HbNO} + \text{NOOH}$ , d. h. auf eine Molekel Farbstoff eine Molekel salpetrige Säure. Und so stellt denn der Versuch von Hüfner und Külz, richtig gedeutet, das Endglied in der Reihe der Beweise dafür vor, daß wir es im Methämoglobin mit einer Ferriverbindung zu tun haben. Denn diese Gleichung darf in der Tat als Ausdruck für die Umsetzung zwischen Methämoglobin und Stickoxyd gelten, haben doch Hüfner und Reinbold<sup>2)</sup> bewiesen, daß bei derselben auf ein Molekül des Farbstoffs zwei Moleküle Stickoxyd verbraucht werden. Das Stickoxyd nimmt also dem Hämoglobin gegenüber eine andere Stellung ein, wie der molekulare Sauerstoff oder das Kohlenoxyd. Letztere werden

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. VII, S. 366 (1883).

<sup>2)</sup> Archiv f. Anat. u. Physiol., 1904, Suppl., S. 391.

nur addiert, weil diese zweiwertigen Körper nur an eine Hauptvalenz des Eisens treten können, das einwertige Stickoxyd kann durch diese eine Hauptvalenz gebunden werden, wodurch das festere Gefüge dieser Verbindung und die Möglichkeit, durch Stickoxyd auch das Kohlenoxyd zu verdrängen und mit dem Methämoglobin eine chemische Umsetzung zu erzielen, eine Erklärung findet. Allerdings sind, soviel ich weiß, analoge Umsetzungen des Stickoxyds mit anorganischen Ferriverbindungen nicht bekannt, dagegen ergaben die Untersuchungen von Manchot und Zechentmayer<sup>1)</sup> mit aller Schärfe, daß für die Absorption des Stickoxyds durch Ferrosalze eine Grenze existiert, bei der auf ein Atom Eisen ein Molekül Stickoxyd aufgenommen worden ist. Diese Absorption beruht auf der Bildung einer chemischen Verbindung und entspricht dem Übergang des Eisens in den dreiwertigen Zustand. Auch Hüfner<sup>2)</sup> ist auf Grund analoger Untersuchungen zu dem gleichen Resultat gelangt.<sup>3)</sup>

#### Zusammenfassung.

1. Im Hämin wie im Hämatin ist das Eisen im Ferri-zustande vorhanden und zwar ersetzt die Chlorferrigruppe  $>FeCl$  im Hämin, die Hydroxyferrigruppe  $>FeOH$  im  $\alpha$ -Hämatin Imidwasserstoffatome von Pyrrolkomplexen.

2. Das Verdauungs- oder  $\alpha$ -Hämatin Zeyneks ist die zum Hämin gehörige Basis, das auf dem Umwege über das Hämin hergestellte  $\beta$ -Hämatin geht nicht oder nur schwierig in Hämin über.  $\beta$ -Hämatin ist ein Polymeres vom  $\alpha$ -Hämatin.

3. Die sauren Eigenschaften des Hämins und Hämatins sind mit hoher Wahrscheinlichkeit auf das Vorhandensein zweier Carboxyle zurückzuführen.

<sup>1)</sup> Annal. der Chemie, Bd. CCCL, S. 368 (1906).

<sup>2)</sup> Zeitschr. f. physik. Chem., Bd. LIX, S. 416 (1907).

<sup>3)</sup> Die neuesten Ergebnisse von Manchot (Liebigs Annalen, Bd. CCCLXX, S. 241, 1909), wonach auf 1 Atom Eisen im Blutfarbstoff bis zu zwei Molekeln der fraglichen Gase aufgenommen werden können, sind mit Blut erübrigt worden. Es müssen wohl erst noch Versuche mit reinem Hämoglobin durchgeführt worden sein, bevor weitere Folgerungen gezogen werden.

4. Die Bildung des Dehydrochloridhämins beruht auf einer Abspaltung von Chlorwasserstoff zwischen dem einen Carboxyl und der Gruppe  $\text{>Fe-Cl}$ , demzufolge schließt sich das Dehydrochloridhämin dem Hämatin in seinen Eigenschaften mehr an als dem Hämin.

5. Die Reduktion des Hämatins zum Hämochromogen kann durch die verschiedenartigsten Mittel bewirkt werden. Die einzige Erklärung hierfür bietet die Annahme, daß die Ferriverbindung «Hämatin» zur Ferroverbindung «Hämochromogen» reduziert wird.

6. Die Richtigkeit dieser Annahme wird bewiesen durch die von Zeynek ausgeführte Analyse des Hämochromogenammoniums.

7. Die Anlagerung von Kohlenoxyd erfolgt im Molekül des Hämochromogens an das Eisen.

8. Ebenso erfolgt die Anlagerung von Sauerstoff, Kohlenoxyd, Stickoxyd im Molekül des Hämoglobins an das Eisen.

9. Die Ferriverbindung «Hämatin» ist nicht die Komponente des Oxyhämoglobins, sondern des Methämoglobins, das sich seinem ganzen Verhalten nach als eine Ferriverbindung erweist.

Es existieren also die folgenden Beziehungen:

Hämoglobin = Globin + Hämochromogen ( $\text{R} > \text{Fe}$ ).

Oxyhämoglobin = Globin + Hämochromogenperoxyd ( $\text{R} > \text{Fe} \dots \text{O}_2$ ).

Methämoglobin = Globin + Hämatin ( $\text{R} > \text{Fe} - \text{OH}$ ).

10. Das Stickoxyd wird von dem Blutfarbstoff fester gebunden als  $\text{O}_2$  oder  $\text{CO}$ , weil es als einwertiges Radikal eine Hauptvalenz des Eisens zur Bindung vorfindet, während die zwei Valenzen des Kohlenoxyds und des Sauerstoffs auch nur an die eine Hauptvalenz des Eisens treten können.

Stuttgart, im April 1910.