

# Über das Hypericin (Hypericumrot).

Von  
Dr. C. Černý.

Mit zwei Abbildungen im Text.

(Aus dem Laboratorium für medizinische Chemie der böhmischen Universität in Prag.)  
(Der Redaktion zugegangen am 29. Juni 1911.)

In den Blüten von *Hypericum perforatum* L. befindet sich neben einem gelben ein prächtig roter Farbstoff, der wie Cl. Marquart zeigte, in kleinen schwarzen Punkten und strichförmigen Zellenlagen, sowie am Konnektiv der Antherenfächer abgelagert ist. Derselbe wurde von Buchner, welcher sich mit dessen Darstellung zuerst befaßte, Hypericumrot genannt.

Dieser Farbstoff ist sehr interessant nicht nur durch seine derjenigen des Blutfarbstoffes auffallend ähnliche Farbe, sondern auch durch sein Absorptionsspektrum, das, den Untersuchungen Wolffs<sup>1)</sup> zufolge, eine bemerkenswerte Ähnlichkeit mit demjenigen des Oxyhämoglobins aufweist. Mit Rücksicht auf die nahe Verwandtschaft des roten tierischen Blutfarbstoffes mit dem grünen pflanzlichen Blattfarbstoff schien diese Eigenschaft des genannten Farbstoffes umsomehr interessant. Möglicherweise konnte ein dem Blutfarbstoffe nahe verwandtes Derivat des Chlorophylls vorliegen.

Dieterich,<sup>2)</sup> der sich eingehender mit diesem Farbstoffe beschäftigte und der das Verhalten desselben gegenüber einer großen Anzahl von Lösungsmitteln, sowie gegenüber den in Alkohol löslichen Metallsalzen ermittelte, gibt folgendes Verfahren zur Gewinnung von reinem Farbstoff an:

<sup>1)</sup> Wolff, Über Hypericum-Roth. Pharmaceutische Centralhalle Bd. 16, S. 193.

<sup>2)</sup> K. Dieterich. Über die in den Blüten von *Hypericum perforatum* enthaltenen Farbstoffe, Pharmaceut. Centralhalle. Bd. 12, S. 683.

Blumenkronenblätter werden mit Wasser maceriert, gepreßt und getrocknet, dann mit 90%igem Alkohol im Verhältnis 1 : 5 behandelt. Die nach 8tägiger Extraktion resultierende, prächtig rote Tinktur wird mit Petroleumäther solange ausgeschüttelt, als noch der mitextrahierte, gelbe Farbstoff in Lösung übergeht. Die ausgeätherte spirituöse Lösung liefert dann nach dem Abdampfen des Alkohols das Hypericumrot als eine amorphe, käfergrüne, fast schwarz aussehende Masse.

Ich habe zur Gewinnung dieses Farbstoffs einen etwas abweichenden Weg eingeschlagen — hauptsächlich aus dem Grunde, weil ich nicht die Blumenkronenblätter allein, sondern ganze Blüten in Arbeit nahm.

Gepflückte Blüten wurden zunächst getrocknet, dann bei 80° mit 90%igem Alkohol erschöpft und die vereinigten alkoholischen Auszüge durch Destillation eingeengt. Die resultierende Flüssigkeit wurde dann zur Entfernung der Hauptmenge von Salzen mit dem gleichen Volumen von Äther versetzt, die ätheralkoholische Lösung von der ausgeschiedenen schmierigen, gelbbraunen Flüssigkeit abgossen und dann die nach Verjagung des Äthers rückständige alkoholische Lösung mit Petroleumäther so lange ausgeschüttelt, bis sich derselbe nicht mehr färbte. Die so gewonnene Lösung wurde zunächst durch Destillation vom Petroleumäther befreit, noch etwas konzentriert und dann mit einem großen Überschusse von Äther versetzt. Es schied sich wieder eine gelbbraune, schmierige sirupöse Masse aus. Die von dieser abgossene ätheralkoholische Lösung wurde dann bis auf ein kleines Volumen abdestilliert, um den größten Teil von Alkohol zu entfernen. Der erhaltene Rückstand wurde abermals mit überschüssigem Äther übergossen und 24 Stunden stehen gelassen. Der von dem gebildeten Bodensatz abgossene Äther wurde dann mit einer 0,1%igen Sodalösung geschüttelt. Dabei geht beinahe der ganze Farbstoff in die wässrige Lösung über, welche hierauf eine saure Reaktion annimmt und, mit Essigäther geschüttelt, diesem den roten Farbstoff abgibt. Die essigätherische Lösung wurde dann abdestilliert und der Rückstand im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure und Natronstücken getrocknet. Auf

diese Weise wurde eine amorphe, spröde Substanz erhalten, die beinahe schwarz war, im durchfallenden Lichte aber granatrot erschien. Dieselbe war frei von N, S und P und enthielt nur geringe Spuren von Eisen. Sie war im Alkohol und Essigäther sehr leicht, im gewöhnlichen Äther etwas schwieriger löslich, und im Chloroform, Schwefelkohlenstoff und Benzol beinahe unlöslich.

Die Angabe Dieterichs, daß der Farbstoff in den drei letztgenannten Lösungsmitteln mit grüner Farbe sich auflöst, konnte ich nicht bestätigen.

Die Elementaranalyse dieses Stoffes lieferte folgende Werte:<sup>1)</sup>

- 0,1487 g Substanz gaben 0,1031 g H<sub>2</sub>O, 0,3271 g CO<sub>2</sub> und 0,0024 g Asche, entsprechend 7,82% H und 60,97% C.  
 0,1213 g Substanz gaben 0,0810 g H<sub>2</sub>O, 0,2656 g CO<sub>2</sub> und 0,0019 g Asche, entsprechend 7,53% H und 60,66% C.

Weitere Versuche haben jedoch gezeigt, daß die erhaltene Substanz kein einheitlicher Stoff ist. Als ich nämlich versuchte, diese Substanz durch Auflösen in ganz kleiner Menge heißen absoluten Alkohols rein und womöglich auch krystallinisch zu gewinnen, schied die Lösung in der Kälte einen weißen Niederschlag aus, während die aus dem Filtrate nach dem Eindampfen der Lösung und Trocknen im Vakuumexsikkator erhaltene Substanz einen höheren C- und einen niedrigen H-gehalt aufwies, wie aus dem Ergebnis der vorgenommenen Elementaranalysen folgt:

- 0,1170 g Substanz gaben 0,0687 g H<sub>2</sub>O, 0,2595 g CO<sub>2</sub> und 0,0012 g Asche, entsprechend 6,59% H und 61,11% C.  
 0,1260 g Substanz gaben 0,0714 g H<sub>2</sub>O, 0,2827 g CO<sub>2</sub> und 0,0011 g Asche, entsprechend 6,35% H und 61,72% C.

Die oben erwähnte weiße Substanz verdient einer besonderen Erwähnung. Dieselbe färbt sich an der Luft rasch gelblich, löst sich in kaltem Wasser wenig, mehr in kochendem, und diese Lösungen werden durch Alkalien intensiv gelb gefärbt. Dieselben geben mit Eisenchlorid einen olivengrünen, mit essigsauerm Blei einen gelben Niederschlag, reduzieren Fehlingsche Lösung nicht, wohl aber ammoniakalische Silber-

<sup>1)</sup> Sämtliche Werte sind auf aschenfreie Substanz berechnet.

nitratlösung. Mit konzentrierter Schwefelsäure liefert diese Substanz eine orangegelbe Lösung, aus der sich nach kurzer Zeit kugelige, aus radiär angeordneten Nadeln zusammengesetzte Drusen ausscheiden. Beim Erhitzen zersetzt sich dieselbe, ohne zu schmelzen, bei ca. 178°.

Die Elementaranalyse dieser, allerdings schon schwefelgelb verfärbten Substanz lieferte:

0,1176 g Substanz gaben: 0,0555 g H<sub>2</sub>O, 0,2329 g CO<sub>2</sub> und 0,0009 g Asche  
entsprechend 5,25% H und 54,00% C,

woraus sich die Formel: C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub> ergibt.

Durch manche der erwähnten Eigenschaften nähert sich diese Substanz der seinerzeit von O. Hesse<sup>1)</sup> aus *Protea mellifera* isolierten und beschriebenen Proteasäure C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>. Vielleicht ist dieselbe bloß eine etwas veränderte Proteasäure oder ein Homolog derselben.

Es schien sehr wahrscheinlich, daß durch das Trennen bloß mittels absoluten Alkohols die weiße Substanz aus der Farbstofflösung nicht vollständig entfernt wurde, und weitere Versuche haben das bestätigt. Es bildete sich nämlich in alkoholischer Lösung des Rohfarbstoffs nach Zusatz von alkoholischer Bleiacetatlösung ein grügelber Niederschlag, während das Filtrat rot gefärbt blieb.

Der Rest der Substanz (ca. 5 g) wurde daher in einer kleinen Menge 96%igen Alkohols gelöst, diese Lösung solange mit alkoholischer Bleiacetatlösung gefällt, als sich noch ein Niederschlag bildete, und das Filtrat von dem entstandenen Niederschlage mit überschüssigem Äther versetzt, worauf sich noch eine geringe Menge eines gelben Niederschlags bildete. Die abermals filtrierte ätherische Lösung wurde zuerst durch Schütteln mit verdünnter Schwefelsäure entbleit, dann von der überschüssigen Schwefelsäure durch Wasser befreit und endlich derselben durch wiederholtes Schütteln mit 1%iger Natriumacetatlösung der Farbstoff entzogen. Aus der wässrigen Acetatlösung wurde der Farbstoff mit Essigäther ausgeschüttelt und nach Abdampfung der Hauptmenge desselben der Rückstand im Vakuumexsikkator getrocknet. Die so erhaltene Substanz lieferte bei der Elementaranalyse folgende Zahlen:

0,1006 g Substanz gaben 0,0515 g H<sub>2</sub>O, 0,2356 g CO<sub>2</sub> und 0,0051 g Asche, entsprechend 5,99% H und 67,28% C.

<sup>1)</sup>O. Hesse. Über den Zuckerbusch, Liebigs Annalen, Bd. 290, S. 317.

Da bei diesen Versuchen der ganze Vorrat des im Sommer 1909 gesammelten Materiales verarbeitet und beinahe die ganze Ausbeute des Rohfarbstoffs verbraucht wurde, mußte wieder auf die Blütezeit des Johanniskrauts gewartet werden, um neues Material zu weiteren Versuchen zu gewinnen.

Bei den hierauf angestellten Versuchen wurde der Gang der Darstellung des Pigments so weit abgeändert, daß von dem zeitraubenden Ausschütteln des gelben Farbstoffs mit Petroleumäther ganz Abstand genommen wurde.<sup>1)</sup>

Getrocknete Blüten wurden bei 80° mit 90% igem Alkohol behandelt und die vereinigten Alkoholauszüge auf ein kleines Volumen abdestilliert und dann mit alkoholischer Bleizuckerlösung gefällt. Das Filtrat von dem Bleiniederschlage wurde noch etwas konzentriert und mit dreifachem Volumen Äthers versetzt, wobei noch eine geringe Fällung erfolgte. Die filtrierte alkoholätherische Lösung wurde auf dieselbe Weise wie früher entblät usw. und dann durch Schütteln mit einer wässerigen 1% igen Natriumacetatlösung, wobei die ätherische Lösung durch Zusatz von Äther immer auf das ursprüngliche Volumen nachgefüllt wurde, das rote Pigment entzogen.

Aus dieser wässerigen Lösung kann der Farbstoff in zweierlei Weise gewonnen werden: entweder in Form eines dunkelrotbraunen Niederschlags: durch Fällen mit Salzsäure (Präp. I) oder durch Ausschütteln mit Essigäther (Präp. II). Es ist wahrscheinlich, daß das Fällen mit Salzsäure rascher zu reineren Präparaten führt.

Die aus den Lösungen in Essigäther nach dem Abdampfen des Essigäthers und Trocknen im Vakuumexsikkator gewonnene Substanz (Präp. II) ergab bei der Elementaranalyse:

0,1035 g Substanz gaben 0,0607 g H<sub>2</sub>O, 0,2326 g CO<sub>2</sub> und 0,0020 g Asche, entsprechend 6,64% H und 62,49% C.

0,1160 g Substanz gaben 0,0665 g H<sub>2</sub>O, 0,2627 g CO<sub>2</sub> und 0,0020 g Asche, entsprechend 6,77% H und 62,85% C.

---

<sup>1)</sup> Ich habe es zwar schon früher versucht, getrocknete Blüten zuerst mit Petroleumäther im Extraktionsapparate zu extrahieren, aber ohne besonderen Erfolg.

Schon bei den Vorversuchen habe ich mehrmals bemerkt, daß beim Ansäuern einer alkoholischen Pigmentlösung mit Salzsäure sich ein krystallinischer Niederschlag bildet, und habe es daher versucht, auf diese Weise den Farbstoff krystallisiert zu gewinnen.

Im ersten Versuche habe ich den noch übrig gebliebenen Rest des Farbstoffs von den früheren Versuchen, dann die durch Fällen von wässerigen Natriumacetatlösungen mit Salzsäure erhaltene Substanz (Präp. I) in einer kleinen Menge von Alkohol gelöst, dann die Lösung tropfenweise mit Salzsäure versetzt, bis die Fluorescenz verschwand. Es schied sich in der Kälte im Laufe von 24 Stunden ein Bodensatz ab, der aus ganz kleinen, mikroskopischen kugeligen orangebraunen Drusen bestand, deren Struktur eine nur undeutliche radiäre Anordnung von nadelförmigen Krystallen erkennen ließ. Nach Zusatz eines Tropfens Ammoniaks unter das Deckglas zerfielen die Drusen in kleine violettrot gefärbte Körnchen.

Der am Filter gesammelte und mit Wasser ausgewaschene Niederschlag wurde dann (vakuumtrocken) analysiert:

0,1076 g Substanz gaben 0,0394 g H<sub>2</sub>O, 0,2645 g CO<sub>2</sub> und 0,0016 g Asche, entsprechend 4,13% H und 68,04% C.

In einem zweiten Versuche wurden 4,1 g der Substanz (von Präp. II) in einer kleinen Menge 96%igen Alkohols gelöst und die gekühlte filtrierte Lösung mit einer kleinen Menge alkoholischen Chlorwasserstoffs versetzt. Nach 24stündigem Stehen schied sich eine ganz geringe Menge eines beinahe schwarzgrünen Niederschlags ab, der bei der mikroskopischen Untersuchung nur aus kleinsten Körnchen ohne erkennbare Krystallform zusammengesetzt erschien.

Die davon abfiltrierte Flüssigkeit lieferte nach Zusatz einer kleinen Menge (etwa  $\frac{1}{4}$  Vol.) Wassers eine weitere Fällung, die aus den oben beschriebenen Drusen bestand. Der chlorfrei gewaschene Niederschlag lieferte (vakuumtrocken) bei der Elementaranalyse:

0,1127 g Substanz gaben 0,0414 g H<sub>2</sub>O, 0,2812 g CO<sub>2</sub> und 0,0002 g Asche, entsprechend 4,08% H und 68,16% C.

Die gewonnene Substanz stellte ein dunkelviolettes,

sammetglänzendes zartes, sehr leichtes und lockeres Pulver dar, das in den oben genannten Lösungsmitteln viel weniger als der ursprüngliche Rohfarbstoff löslich war. Bei diesen Versuchen wurden nur äußerst geringe Mengen des krystallinischen Pigments erhalten: ein großer Teil des Farbstoffs bleibt immer in den Mutterlaugen, und man kann ihn durch nachfolgendes Verdünnen der alkoholischen Lösung mit Wasser, lediglich aber nur in Form einer amorphen Fällung gewinnen.

Ich bekam z. B. im letzten Versuche aus 4,1 g Rohpigments im ganzen ca. 0,57 g reinen Farbstoff, davon etwa bloß 0,133 g krystallinisch. Die Mutterlaugen davon enthielten immer einen harzigen Stoff und eine durch Bleiessig fällbare Substanz, die wahrscheinlich mit derjenigen auf der Seite 373 beschriebenen identisch ist.

Auch die Gesamtausbeute an Farbstoff war nur ganz unbedeutend. Ich habe z. B. im letzten Versuche aus 2470 g trockener Blüten (entsprechend 12,350 kg frischer) im ganzen ca. 6,6 g Rohpigments erhalten und aus 4,1 g desselben 0,57 g reinen Farbstoffs, sodaß die Ausbeute an reinem Farbstoff aus der verarbeiteten Menge der Blüten rund auf 1 g geschätzt werden kann.

Die bei den Analysen reinen Farbstoffs für C, H und O gefundenen Werte entsprechen am besten einer Formel:  $C_{16}H_{10}O_3$ . Eine solche Verbindung erfordert theoretisch:

C: 68,08%, H: 3,58%, O: 28,36%.

Die gefundene Substanz enthielt durchschnittlich:

C: 68,10%, H: 4,10%, O: 27,80%.

Mit seiner perzentuellen Zusammensetzung steht dieser Farbstoff, der des öfteren auch mit dem Namen Hypericin bezeichnet wird, welche Benennung im folgenden beibehalten ist, den Farbstoffen aus der Flavongruppe sehr nahe.

Hierhergehörende Stoffe charakterisieren sich dadurch, daß sie in ihrer empirischen Formel 15 C-Atome besitzen und bei der Kalischmelze Protokatechusäure und Phloroglucin zu liefern pflegen.<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Czapek, Biochem. d. Pflanzen, Bd. 2. S. 512.

Kostanecki<sup>1)</sup> erhielt bei der Spaltung des Chrysin  $C_{15}H_{10}O_4$  neben Phloroglucin einerseits Acetophenon und  $CO_2$ , anderseits Benzoesäure und Essigsäure, und erklärt auf Grund dessen die Spaltungsart von Flavonderivaten<sup>2)</sup> in der Weise, daß bei diesen Verbindungen unter  $H_2O$ -Aufnahme der Pyronring an derjenigen Stelle, an der das ätherartig gebundene O-Atom steht, gesprengt wird, wobei zuerst beim Chrysin das Benzoyl-Aceto-Phloroglucin entsteht, und dann aus dem Benzoylessigsäurereste durch die Säurespaltung Essigsäure und Benzoesäure, durch die Ketonspaltung Acetophenon sich bilden.

Die oben ausgesprochene Meinung, daß das Pigment den Farbstoffen der Flavongruppe angehört, konnte ich vorläufig experimentell nicht genau begründen, da die Menge von reinem Farbstoff, die mir zur Verfügung stand, zu klein war, sodaß eine eingehende Untersuchung desselben schon von vornherein aussichtslos erschien.

Bei diesen Versuchen (in dem einen wurden 0,465 g Hypericins durch 6 Stunden mit 25%iger alkoholischer Kalilauge gekocht, in dem anderen 0,06 g im Wasser suspendierten Pigments mit Na-Amalgam behandelt, bis die grüne Farbe der Lösung vollkommen verschwand und die Flüssigkeit gelbbraun wurde), habe ich eine bei der Destillation mit Wasserdämpfen flüchtige Substanz erhalten, die in Äther löslich war und nach Verjagung des Äthers in Form eines krystallinischen Sirups zurückblieb, der bei  $38^\circ$  schmolz (Acetophenon + Benzoesäure?).

Aus dem Destillationsrückstand extrahiert Äther eine gelbbraun gefärbte Substanz; diese war im Wasser unlöslich, in Alkalien löslich, reduzierte weder die Fehlingsche Lösung, noch die ammoniakalische Silbersalpeterlösung und gab keine Färbung mit Eisenchlorid.

Die Lösungen des Hypericins in Alkohol, Essigäther und Äther sind blutrot gefärbt; verdünnt zeigen sie einen Stich ins Violette und zeichnen sich durch eine prächtige feurigrote

<sup>1)</sup> Kostanecki. Über das Chrysin, Berl. Ber., Bd. 26, S. 2901.

<sup>2)</sup> Feuerstein und Kostanecki, Synthese des Flavons, Berl. Ber., Bd. 31, S. 1760.

Fluorescenz aus. Diese Fluorescenz ist so stark ausgeprägt, daß auch solche Lösungen, die im durchfallenden Lichte beinahe farblos erscheinen, dieselbe noch ganz deutlich im auffallenden Lichte aufweisen, sodaß sie blutrot aussehen. Am besten ist die Fluorescenz der Lösungen in Essigäther bemerkbar.

Die Lösungen des Hypericins in Natriumacetatlösungen sind mehr violett gefärbt; die Farbe derselben ähnelt mehr derjenigen des reduzierten Hämoglobins; die Fluorescenz ist bei denselben undeutlich.

Nach Wolff<sup>1)</sup> zeigt eine alkoholische Hypericinlösung zwei Absorptionsstreifen und zwar:

$\alpha$ : zwischen  $\lambda$  606—570

$\beta$ : „ „  $\lambda$  558—544.

während die allmählich zunehmende Absorption nach dem brechbaren Ende des Spektrums bei ca.  $\lambda$  512 beginnt. Bei starker Durchleuchtung des brechbaren Teils des Spektrums sind noch zwei Absorptionsstreifen in Grünblau und Blau zu erkennen.

Die Ähnlichkeit des Spektrums des Hypericins mit demjenigen des Blutfarbstoffs ist zwar eine täuschende, aber wie Wolff selbst bemerkt, ergibt die genaue Messung der Grenzen der beiden Absorptionsbänder der Spektra bei annähernd gleicher Intensität derselben eine deutliche Verschiedenheit der Lage derselben.

Nach den Messungen Formánek's<sup>2)</sup> liegt der erste Hauptstreifen des Oxyhämoglobins auf  $\lambda$  578,1 und der zweite  $\beta$  auf  $\lambda$  541,7.

Außer diesen zwei Streifen ergeben sich auch im Spektrum des Blutfarbstoffs zwei schwache Absorptionsstreifen, die, auf der Grenze des sichtbaren spektralen Violett liegend, zwar durch direkte (visuelle) spektroskopische Beobachtung nicht wahrnehmbar, durch geeignete Vorrichtungen dagegen nachweisbar sind.<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> l. c.

<sup>2)</sup> J. Formánek, O absorpčních spektrech barviva krevního. Rozpravy č. akad. R. X, Tr. II, S. 26. (Über die Absorptionsspektren des Blutfarbstoffes. Ber. der böhm. Akad., Jg. X, Cl. II, S. 26.)

<sup>3)</sup> O. Schumm, Über den Nachweis von Blutfarbstoff usw., Diese Zeitschrift. Bd. 63, S. 478.

Obzwar also eine ziemlich große Ähnlichkeit zwischen beiden Spektren besteht, kann man dieselben doch auch ohne Skala auf den ersten Blick unterscheiden: denn der erste Streifen  $\alpha$  ist bei Hypericin breiter als der zweite  $\beta$ , während bei Oxyhämoglobin das Verhältnis ein umgekehrtes ist.

Weiter ist der erste Absorptionsstreifen bei Hypericin doppelt und besteht aus einem sehr dunklen und aus einem zweiten mehr hellen Bande (wovon Wolff keine Erwähnung macht).

Ich habe das spektroskopische Verhalten des nach der oben erwähnten Methode gewonnenen Hypericins in verschiedenen Lösungsmitteln (Alkohol, Äther, Essigäther, Aceton) untersucht und fand Werte, die mit denjenigen von Wolff übereinstimmen.

Der erste Absorptionsstreifen  $\alpha$  ist zwischen  $\lambda$  605—585 sehr dunkel, weiter bis zu  $\lambda$  570 weniger dunkel; der zweite  $\beta$  zwischen  $\lambda$  558—545 liegende ist wieder dunkel. Der Raum zwischen den beiden Absorptionsstreifen ist besonders in mehr konzentrierten Lösungen etwas verdunkelt. (Fig. 1a.)

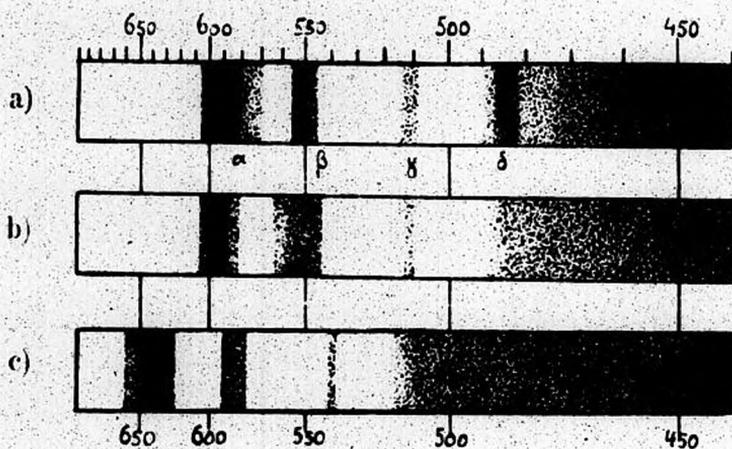


Fig. 1.

Es ist interessant, daß sich das Absorptionsspektrum des Hypericins in einer wässrigen Natriumacetatlösung noch mehr demjenigen des Oxyhämoglobins nähert, indem der zweite Absorptionsstreifen breiter ist als der erste. Der erste zwischen  $\lambda$  605—585 liegende Streifen  $\alpha$  ist sehr dunkel, wird dann

bis zu  $\lambda$  580 weniger dunkel; der zweite  $\beta$  beginnt schon bei  $\lambda$  565 und reicht bis zu  $\lambda$  540. (Fig. 1 b.)

Durch Einwirkung von Alkalien ändert sich die rote Farbe der alkoholischen Hypericinlösungen in eine blaugrüne, worauf schon Dieterich hinweist. Eine solche Lösung besitzt einen breiten, wenig intensiven Streifen, der zwischen  $\lambda$  660—540 liegt. Die grünen Lösungen zeigen eine schwache rote Fluorescenz, und ihre grüne Farbe geht allmählich ins Olivengrün, endlich ins Gelbbraun über, worauf das Spektrum verschwindet.

Verdünnte Mineralsäuren (HCl) rufen in den alkoholischen und ätherischen Hypericinlösungen wenig charakteristische Veränderungen hervor. Die violettrote Farbe der ursprünglichen Lösung schlägt in eine kirschrote um; die Absorptionsstreifen werden schmaler, schwächer und undeutlicher.

Wässrige Hypericinlösungen (im Na-Acetat) werden durch verdünnte Mineralsäuren gefällt (violettbraune Fällung); ebenso auch durch manche Metallsalzlösungen, so z. B. gibt Kalialaun einen grünen, Eisenchlorid einen schwarzen Niederschlag.

Sehr charakteristisch ist die Einwirkung von konzentrierter Schwefelsäure, welche das Hypericin zu einer smaragdgrünen Flüssigkeit auflöst, die eine schöne rote Fluorescenz aufweist. In einer solchen Lösung kommen zwei Absorptionsstreifen vor und zwar erstens ein sehr dunkler und breiter zwischen  $\lambda$  660—620, und ein zweiter, schmalerer und weniger dunkler zwischen  $\lambda$  590—575, dann noch ein ganz schwacher Streifen (Schatten) zwischen  $\lambda$  540—538, während das violette Ende des Spektrums von  $\lambda$  515 diffus verdunkelt ist. (Fig. 1 c.)

Ich habe es endlich versucht, auch die Empfindlichkeit des Absorptionsspektrums des Hypericins im Vergleich mit demjenigen des Blutfarbstoffs zu prüfen, indem ich aus dem rückständigen Pigmente 0,0214 g in 214 ccm 80%igen Alkohols löste und so eine Lösung von der Konzentration 0,1:1000 bereitete. Durch entsprechende Verdünnung dieser Stammlösung wurden dann weitere Lösungen bereitete, welche immer in einer 10 mm dicken Schicht zur Beobachtung gelangten.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in folgender Tabelle zusammengestellt, worin durch die Zeichen unter den

Zahlen der Wellenlängen die Stärke der Absorption **=====** als sehr dunkel, **=====** dunkel, **-----** ziemlich dunkel, **.....** ganz schwach bezeichnet wird. (Vgl. Fig. 2.)

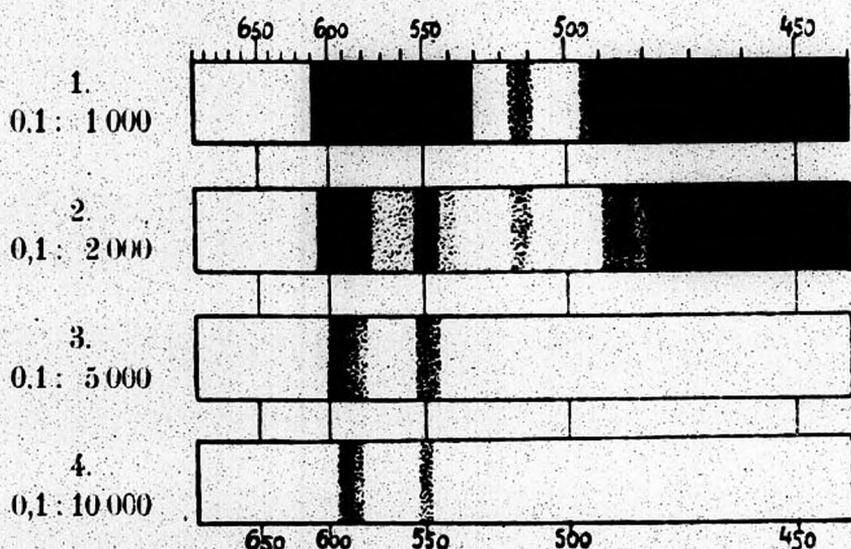


Fig. 2

Lösung	1.	2.	3.	4.
Konzentration	0,1 : 1000	0,1 : 2000	0,1 : 5000	0,1 : 10000
$\alpha$	<u>610</u> <u>570</u> <u>560</u>	608—585—572—552	598—588—575	592—582—580
$\beta$	<u>560—530</u>	<u>552—542—535</u>	<u>552—542</u>	<u>551—548</u>
$\gamma$	<u>515—508</u>	<u>515—508</u>		
$\delta$	495 in der Endabsorption	<u>490—480</u> — Endabsorption		

Wie aus dieser Zusammenstellung ersichtlich ist, stimmt die Empfindlichkeit des Hypericinspektrums gut mit derjenigen des Blutfarbstoffs.

Nach F. Müller<sup>1)</sup> sollen die zwei direkt sichtbaren Streifen des Hämochromogens bei einer 10 mm dicken Schicht bis zur Verdünnung von 1:10,000 erkennbar sein, während die Verdünnungsgrenze für die zwei sichtbaren Streifen des Oxyhäoglobins bei 1:100,000 liegt.

<sup>1)</sup> Oppenheimer, Biochemie, Bd. 1, S. 663 u. 673.