

# Über die Darstellung und das Umkrystallisieren des Hämins.

Von

**Ant. Hamsik.**

(Aus dem mediz.-chem. Institut der böhm. Universität in Prag.)  
(Der Redaktion zugegangen am 25. Juni 1912.)

Als Hämatin wird die eisenhaltige Komponente des Blutfarbstoffs bezeichnet, die sich durch Reduzierbarkeit in Hämochromogen und durch das Vermögen, Hämin zu liefern, auszeichnet. Seit Hoppe-Seylers<sup>1)</sup> Zeiten wurde die letzt erwähnte Eigenschaft dem mit Alkalien in Berührung gekommenen Hämatin abgesprochen. Neuerdings hat besonders Küster<sup>2)</sup> gegen die von Eppinger<sup>3)</sup> und teilweise auch gegen die von Siewert<sup>4)</sup> angegebenen Methoden der Rückverwandlung von dem aus dem Hämin durch Auflösen in Alkalien erhaltenen Hämatin in Hämin Einspruch erhoben, da er fand, daß die nach den genannten Autoren dargestellten Präparate nicht deutlich krystallisiert, sondern nur krystallinisch sind und ferner leicht sowohl Eisen als auch Chlor abgeben. Demgegenüber hält Eppinger<sup>5)</sup> seinen Befund, daß Hämatin in Hämin rückverwandelt werden kann, in vollem Umfange aufrecht.

Das aus dem Oxyhämoglobin direkt abgespaltene Hämatin, das in reinem Zustande nicht bekannt ist, ist jedenfalls, was die Häminbildung betrifft, von dem auf dem Umwege über das Hämin (durch Lösen in Alkali bei Zimmertemperatur) hergestellten Hämatin (sog.  $\beta$ -Hämatin oder Ht. s. str.) verschieden. Durch Zeynek<sup>6)</sup> ist der Beweis erbracht worden, daß das

<sup>1)</sup> Mediz.-chem. Untersuchungen, 30, S. 298, 1867.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 66, S. 165, 1910.

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

<sup>4)</sup> Arch. exp. Path. u. Pharm., Bd. 58, S. 386, 1908.

<sup>5)</sup> Piloty-Eppinger, Liebigs Ann., Bd. 377, S. 314, 1910.

<sup>6)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 30, S. 126, 1900 und Bd. 49, S. 472, 1906.

aus dem Oxyhämoglobin durch Pepsin-Salzsäure abgespaltene Hämatin (sog. Verdauungshämatin oder  $\alpha$ -Ht.) in Hämin verwandelt werden kann. Bei allen bisher angewandten Darstellungsmethoden des Hämins wird die Abspaltung und Extraktion des Farbstoffs durch eine Säure bewerkstelligt, nur bei dem von Siewert<sup>1)</sup> angegebenen Verfahren wird mit alkoholischer Kalilauge extrahiert. Da die Extraktion jedoch in der Kälte und mit schwacher Kalilauge geschieht, ist nach Klaveren<sup>2)</sup> zu schließen, daß hier hauptsächlich das sog. Kathämoglobin extrahiert wird.

Es schien daher wünschenswert, durch länger dauerndes Kochen mit genügend konzentrierter, wässriger Lauge aus Oxyhämoglobin Hämatin abzuspalten und mit diesem die Häminbildung sowie eventuell auch das Umkrystallisieren dieses letzteren nach wiederholter Einwirkung von Alkali zu versuchen.

#### Darstellung des Ausgangsmaterials.

1 l Blut wurde in der Porzellanschale mit  $\frac{1}{2}$  l 40%iger, wässriger Lauge versetzt und auf freiem Feuer 3—5 Stunden lang gekocht; das verdampfende Wasser wurde ersetzt und gegen Ende mehr Wasser bis zur vollständigen Lösung hinzugefügt. Nach dem Erkalten wurde durch Glaswolle filtriert und im Filtrat mit verdünnter Schwefelsäure schwach saure Reaktion hergestellt. Bei genügender Verdünnung (auf 1 l Blut insgesamt ca. 8—10 l Wasser) setzte sich der allen Farbstoff enthaltende Niederschlag rasch ab. Bei kurz dauerndem Kochen und bei Verwendung von weniger konzentrierter Lauge blieb ein Teil des Farbstoffs in Lösung. Der Niederschlag wurde zuerst durch Dekantation, dann auf dem Filter mit warmem Wasser (nicht jedoch bis zum vollständigen Verschwinden der Reaktion mit  $\text{BaCl}_2$ ) gereinigt, auf dem Wasserbade getrocknet und pulverisiert (eventuell wieder getrocknet und im Soxhletschen Apparate mit Äther extrahiert).

Aus 1 l Blut wurden ca. 20—50 g eines schwarzbraunen Pulvers erhalten, das in verdünnter Lauge in der Kälte lang-

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

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 33, S. 293, 1901.

sam, beim Erwärmen rasch löslich war, spektroskopisch sich wie Hämatin verhielt und nach der Reduktion das Hämochromogenspektrum lieferte. Der Gehalt an Farbstoff konnte nur ca.  $\frac{1}{5}$ — $\frac{1}{10}$  des Gesamtgewichtes betragen, das übrige bestand aus anderen mitgefällten Stoffen.

Aus diesem Material wurde nun die Hämindarstellung mittels 1. Aceton, 2. Eisessig, 3. Äthylalkohol versucht.

### I. Das Hämin aus Aceton.

Die 1 l Blut entsprechende Menge des Ausgangsmaterials wurde in der Kälte mit 1  $\frac{1}{2}$  l Aceton, das 20% Wasser und 0,2% HCl enthielt, durch 1—3 St. extrahiert. Das Filtrat wurde teilweise bei gewöhnlicher Temperatur verdunstet. Es schieden sich zuerst große vereinzelt, sechsseitige und vierseitige Tafeln, dann kleinere, gut ausgebildete, meist in Drusen gruppierte Krystalle und zuletzt kugelförmige Gebilde aus. Die Krystalle wurden zunächst mit 70% Wasser und 0,2% HCl enthaltendem Aceton wiederholt dekantiert, um dieselben von den zugleich ausgefallenen Beimengungen zu befreien, dann auf dem Filter mit 0,2% iger wässriger HCl gewaschen, alsdann auf dem Fließpapier und zuletzt im Vakuum über  $H_2SO_4$  und KOH getrocknet. Aus 1 l Blut wurden ca. 4 g gut ausgebildeter Krystalle und außerdem ca. 1 g kugelförmiger Gebilde erhalten. Makroskopisch war das Präparat braun bis schwarz-violett schillernd, in verdünnten Alkalien in der Kälte leicht löslich. Nur die aus gut ausgebildeten Krystallen bestehende Partie konnte nach dem Lösen in einem Gemisch von Pyridin und Chloroform aus Eisessig umkrystallisiert werden, während das Umkrystallisieren der kugelförmigen Gebilde mißlang. Bei dem Umkrystallisieren wurden die von Küster<sup>1)</sup> angegebenen Bedingungen beibehalten: 2,5 g Rohhämin wurden in einem Gemisch von 100 ccm Chloroform und 12,5 ccm Pyridin gelöst und das Filtrat in 375 ccm kochsalzhaltigen und fast zum Sieden erhitzten Eisessig, der kurz vorher mit 1,25 ccm konzentrierter Salzsäure versetzt war, eingetragen. Die bald aus-

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 40, S. 398, 1903.

gefallenen, gut ausgebildeten kleinen Krystalle wurden nach 24 Stunden filtriert, mit verdünnter, salzsäurehaltiger Essigsäure und schließlich mit wässriger 0,2%iger HCl gewaschen, zunächst auf dem Fließpapier, dann im Vakuum über  $H_2SO_4$  und KOH getrocknet. Die Ausbeute betrug nur ca. 60%; die Mutterlauge blieb stark gefärbt. Die Analyse des umkrystallisierten, bei  $110^\circ$  getrockneten Präparates ergab die auf die Formel  $C_{34}H_{32}O_4N_4ClFe$  stimmenden Zahlen.

0,1135 g Substanz, im Hahnrohr mit vorgelegter Kupfer- und Silberspirale verbrannt, gaben 0,2612 g  $CO_2$ , 0,0494 g  $H_2O$  und 0,0141 g Asche = 62,76% C, 4,83% H, 8,69% Fe.

0,1084 g Substanz gaben 0,2480 g  $CO_2$ , 0,0464 g  $H_2O$ , 0,0139 g Asche = 62,39% C, 4,75% H, 8,97% Fe.

0,1474 g Substanz gaben 11,7 ccm N bei  $20,8^\circ$  und 740 mm = 8,74% N (Dumas).

0,1292 g Substanz, 0,274 g AgCl und 0,0164 g  $Fe_2O_3$  = 5,24% Cl und 8,88% Fe (Carius).

Für die Formel  $C_{34}H_{32}O_4N_4ClFe$ :

	berechnet:	gefunden:
C	62,62%	62,57%
H	4,91%	4,79%
N	8,59%	8,74%
Cl	5,43%	5,24%
Fe	8,59%	8,84%

Nachdem die Darstellung des Hämins aus dem direkt aus dem Blutfarbstoff durch Einwirkung von Alkali abgespaltenen Hämatin gelang, wurde nun auf dieselbe Weise die Häminbildung aus dem auf dem Umweg über das Hämin bereiteten Hämatin versucht.

4 g gut ausgebildeter Krystalle des Rohproduktes wurden in 200 ccm 1%iger NaOH bei der Zimmertemperatur gelöst, das Filtrat mit 200 ccm  $n/4$ - $H_2SO_4$  neutralisiert, mit Wasser verdünnt; der nun rasch sich absetzende Niederschlag wurde hierauf viermal durch Dekantation, dann auf dem Filter mit Wasser gewaschen, auf dem Wasserbade getrocknet und pulverisiert. Das Pulver wurde mit 600 ccm Aceton, das 20% Wasser und 0,2% HCl enthielt, in der Kälte extrahiert; nach  $1/2$  Stunde filtriert und das Filtrat bei gewöhnlicher Temperatur teilweise verdunstet. Der in kugelförmigen Gebilden ausgefallene

Farbstoff wurde, wie bei dem Rohprodukt angegeben wurde, gereinigt, getrocknet und umkrystallisiert. Aber selbst nach mehreren Tagen bildete sich nur ein minimaler Absatz. Erst nach Hinzufügen von mehr konzentrierter Salzsäure in der Kälte fiel ein Teil des Farbstoffs aus, dessen Eigenschaften jedoch denjenigen des Hämins nicht entsprachen, so daß aus diesem Hämatin das Hämin nicht rückgebildet werden konnte.

## II. Das Hämin aus Eisessig.

Die 1 l Blut entsprechende Menge des Ausgangsmaterials wurde mit  $1\frac{1}{2}$  l Eisessig 3—5 Minuten gekocht. Das verhältnismäßig wenig Farbstoff enthaltende Filtrat wurde durch Einstellen in kaltes Wasser gekühlt und von dem ausgeschiedenen Niederschlag filtriert. Nach nochmaliger Wiederholung dieser Prozedur wurde erst jetzt zur eigentlichen Extraktion des Farbstoffs aus dem so gereinigten Ausgangsmaterial mit der zum Auskochen verwendeten Essigsäure, der nun etwas Kochsalz zugegeben wurde, geschritten. Die Flüssigkeit wurde 5—10 Minuten im schwachem Sieden erhalten und dann filtriert. Der Filterrückstand wurde eventuell mit kleiner Menge kochsalzhaltigen Eisessigs auf dieselbe Weise extrahiert. Aus dem Filtrat krystallisierte der Farbstoff bald aus und zwar in typischen vierseitigen Täfelchen, sowie auch in wetzsteinartigen und nadeligen Formen, die gewöhnlich in Drusen gruppiert waren. Nach 24 Stunden wurden die Krystalle mit verdünnter salzsäurehaltiger Essigsäure wiederholt dekantiert, auf dem Filter mit 0,2%iger HCl gewaschen, zuerst auf dem Fließpapier, dann im Vakuum über  $H_2SO_4$  und KOH getrocknet.

Außerdem wurden Präparate durch direkte Extraktion des Ausgangsmaterials mit kochsalzhaltigem Eisessig — also ohne vorherige Reinigung mit bloßem Eisessig — dargestellt; hierbei war der Verbrauch an Eisessig größer (auf die ca.  $\frac{1}{4}$  l Blut entsprechende Menge des Ausgangsmaterials 1 l Eisessig) und der Farbstoff fiel aus dem Filtrat in Form von kugeligen Gebilden mit radiärer Struktur, die mit fremden Beimengungen stark verunreinigt waren, aus, sodaß hier ein wiederholtes Dekantieren mit verdünnter Essigsäure notwendig war. Aber auch

dieses Präparat bestand nach dem Umkrystallisieren aus gut ausgebildeten typischen Formen.

Die Ausbeute an Rohprodukt aus 1 l Blut betrug ca. 2,5 bis 3 g. Das Präparat war schwarzviolett, schillernd, leicht in verdünnten Alkalien in der Kälte, nur wenig in Alkohol und Aceton, nicht aber in Chloroform löslich. Es konnte nach Küster<sup>1)</sup> mit einer Ausbeute von ca. 60% umkrystallisiert werden; der Verlust war teils durch die Carcasse, hauptsächlich aber durch den in der Mutterlauge gebliebenen Farbstoff bedingt. Dasselbe Präparat wurde noch zum zweitenmal mit einer Ausbeute von ca. 75% umkrystallisiert. Bei der ersten Umkrystallisation wurden größere, bei der zweiten kleinere typische Formen erhalten; makroskopisch war dieses Präparat braun, jenes schwarzviolett. Das zweimal umkrystallisierte Präparat wurde bei 110° getrocknet und analysiert.

0,1048 g gaben 0,0496 g H<sub>2</sub>O, 0,2395 g CO<sub>2</sub> und 0,0132 g Asche = 62,32% C, 5,25% H, 8,83% Fe. (Verbrannt mit vorgelegtem Kupfer und Silber.)

0,1370 g gaben 10,8 ccm Stickstoff bei 18,6° und 730 mm = 8,67% N.

0,1405 g gaben 0,0300 g AgCl und 0,0173 g Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Carius) = 5,28% Cl und 8,61% Fe.

Für C<sub>34</sub>H<sub>32</sub>O<sub>4</sub>N<sub>4</sub>ClFe:

	berechnet:	gefunden:
C	62,62%	62,32%
H	4,91%	5,25%
N	8,59%	8,67%
Cl	5,43%	5,28%
Fe	8,59%	8,72%

Aus dem Rohacethämin wurde auf dieselbe Weise, wie bei dem Acetonhämin angeführt ist, durch Lösen in Alkali das Hämatin dargestellt und die Rückverwandlung in Hämin versucht. 3 g dieses Hämatins wurden mit 750 ccm Eisessig, der über NaCl gestanden hat, 10 Minuten gekocht. Aus dem Filtrat hat sich bald ein reichlicher Niederschlag ausgeschieden, der teils aus dunkelgefärbten kugeligen Gebilden mit angedeuteter Struktur, teils aus helleren kleineren, nicht gut ausgebildeten Formen bestand. Er wurde nach dem üblichen Waschen und

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

Trocknen nach Küster<sup>1)</sup> umkrystallisiert, aber im Laufe von mehreren Tagen bildete sich nur ein unbedeutender, nicht gut krystallisierter Absatz; erst nach dem Hinzufügen von neuer konzentrierter Salzsäure in der Kälte fiel mehr Farbstoff aus. Die zuerst mit verdünnter salzsäurehaltiger Essigsäure, dann mit 0,2%iger wässriger HCl gewaschene, auf dem Fließpapier, über  $H_2SO_4$  und KOH im Vakuum und zuletzt bei  $110^\circ$  getrocknete Substanz ergab bei der Analyse weniger Kohlenstoff, Stickstoff und Eisen, dagegen mehr Chlor (61,28% C, 4,76% H, 7,29% N, 8,27% Fe [aus Asche], 8,09% Fe [Carius] und 6,29% Cl [Carius]).

Wurden der ganzen Prozedur nur ca. 0,25 g Hämin unterworfen, so war der aus Pyridin-Chloroform-Eisessig (ohne nachträglichen Salzsäurezusatz) ausgeschiedene krystallinische Niederschlag, der das rückverwandelte Hämin enthalten sollte, verhältnismäßig viel reichlicher.

Die Rückverwandlung des aus dem Acethämin dargestellten Hämatins konnte auf diese Weise nicht erzielt werden. Wurde dagegen das aus dem Blutfarbstoff direkt durch Alkali abgespaltene, freilich unreine Hämatin des Ausgangsmaterials derselben Prozedur unterworfen (also in verdünntem Alkali gelöst usw.), wurden zuletzt aus Pyridin-Chloroform-Essigsäure gut ausgebildete Häminkrystalle erhalten. Das direkt aus dem Blutfarbstoff abgespaltene Hämatin war in Essigsäure, selbst beim Kochen, weit weniger löslich als das aus dem Hämin dargestellte; auch in Pyridin war dieses letztere besser löslich als jenes. Das Hämin war hier in Alkali bei Zimmertemperatur gelöst; es ist möglich, daß das Produkt kein unverändertes Hämatin war. Wie Piloty-Eppinger<sup>2)</sup> bemerken, wird aus dem Hämin durch Einwirkung von Alkali schon bei Zimmertemperatur nicht nur Chlor, sondern auch Eisen abgespalten.

### III. Das Hämin aus Äthylalkohol.

Die 1 l Blut entsprechende Menge des Ausgangsmaterials wurde in  $1\frac{1}{2}$  l Alkohol, der 10% Wasser und 0,2% HCl

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

<sup>2)</sup> l. c.

enthielt, suspendiert, die Mischung bis zum beginnenden Sieden erhitzt und durch 2 Faltenfilter in 2 Erlenmeyer-Kolben rasch filtriert. Bei langsamer Filtration krystallisierte der Farbstoff bereits auf dem Filter zum Teil aus. Nach 48 Stunden wurde der aus dem Filtrat abgeschiedene, aus gut ausgebildeten, vereinzelt Krystallen zusammengesetzte Niederschlag durch wiederholte Dekantation mit stufenweise verdünntem, 0,2% HCl enthaltendem Alkohol, zuletzt auf dem Filter mit 0,2%iger HCl gewaschen, zunächst auf dem Fließpapier, dann im Vakuum über  $H_2SO_4$  und KOH getrocknet. Ausbeute aus 1 l Blut ca. 2,5 g. Das Präparat war in verdünntem Alkali in der Kälte leicht löslich. Die zweite Krystallisation bestand aus kugelförmigen Gebilden. Besonders gut ausgebildete Krystalle wurden bei Verwendung von dem mit bloßem Eisessig extrahierten und so gereinigten Ausgangsmaterial erhalten.

Ein anderes Präparat wurde durch Extraktion von 60 g des Ausgangsmaterials (= ca.  $1\frac{1}{4}$  l Blut) mit  $1\frac{1}{2}$  l 97%igen Alkohols, der 0,15% HCl enthielt, wobei die Suspension 3 Minuten lang im Sieden erhalten wurde, dargestellt. Der auf dem Filter verbleibende Rückstand wurde noch zweimal mit je  $\frac{3}{4}$  l 95%igen Alkohols, dem 3 ccm konzentrierte Salzsäure zugesetzt waren, 5 Minuten gekocht und dann rasch filtriert. Die aus dem ersten Filtrate nach 3 Tagen abfiltrierten Krystalle wurden, wie oben beschrieben, gewaschen und getrocknet. Die Ausbeute betrug ca. 2,5 g. Auch dieses Präparat war in verdünntem Alkali in der Kälte löslich, beim Umscheiden nach Küster<sup>1)</sup> konnten nur 40% gut ausgebildeter, in Drusen gruppierter Krystalle erhalten werden. Bei der Analyse hat dieses Präparat mehr Stickstoff ergeben, was wahrscheinlich auf einer Verunreinigung, die durch einmaliges Umscheiden nicht beseitigt worden ist, beruht. Aber auch das Kochen bei der Darstellung konnte mitwirken.

0,1081 g (bei 110° getrocknet), 0,2486 g  $CO_2$ , 0,0461 g  $H_2O$ , 0,0135 g Asche = 62,72% C, 4,74% H, 8,73% Fe. (Verbrannt mit vorgelegter Kupfer- und Silberspirale.)

0,1585 g gaben 13,5 ccm N bei 22° und 743 mm = 9,38% N (Dumas).

0,1405 g gaben 12,4 ccm N bei 22,6° und 734 mm = 9,57% N (Dumas.)

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

0,1604 g gaben 0,0334 g AgCl und 0,0205 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  = 5,15% Cl und 8,94% Fe (Carius).

Für  $\text{C}_{34}\text{H}_{32}\text{O}_4\text{N}_4\text{ClFe}$ :

	berechnet:	gefunden:
C	62,62%	62,72%
H	4,91%	4,74%
N	8,59%	9,47%
Cl	5,43%	5,15%
Fe	8,59%	8,82%

Die aus dem zweiten und dritten Filtrate ausgefallenen Krystalle, die aus sternförmig gruppierten Nadeln bestanden, konnten nach Küster<sup>1)</sup> nicht umkrystallisiert werden. Erst nach Hinzufügen neuer konzentrierter Salzsäure in der Kälte schied sich der Farbstoff in Form von schwarzen, kurzen Stäbchen und kleinen Kugeln zum Teil aus. Diese Substanz, mit verdünnter, salzsäurehaltiger Essigsäure und dann mit 0,2%iger HCl gewaschen und wie üblich getrocknet, ergab bei der Analyse einen sehr hohen Gehalt an Chlor und einen sehr niedrigen Gehalt an Stickstoff (im Mittel 59,66% C, 5,01% H, 5,22% N, 7,78% Cl, 7,80% Fe). In verdünnter Lauge war das Präparat in der Kälte unlöslich, beim Erwärmen löste es sich auf; die Lösung hatte nach der Reduktion die Farbe und das Spektrum des Hämochromogens.

Außerdem wurde versucht, das Hämatin des Ausgangsmaterials mit 90%igem Alkohol, der 1 Vol.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  enthielt, zu extrahieren. In der Kälte war die Extraktion unbefriedigend; die Suspension wurde deshalb bei 50° digeriert. Das Filtrat wurde bis zum beginnenden Sieden erhitzt und nun mit so viel salzsäurehaltigem Alkohol versetzt, daß der Gehalt an Salzsäure ca. 0,15% betrug. Der Farbstoff fiel nur zum Teil und zwar meist in kugelförmigen Gebilden aus. Die Mutterlauge wurde mit neuer Salzsäure in der Kälte versetzt, was eine neue krystallinische Abscheidung zur Folge hatte. Beide Präparate wurden wie üblich gewaschen und getrocknet. Präparat I war in verdünntem Alkali in der Kälte nur langsam löslich, konnte aber nach Küster in gut ausgebildeten Formen umgeschieden werden, während das Präparat II sich nicht um-

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

krystallisieren ließ. Wurden beide Präparate vermischt und zusammen umkrystallisiert, so fiel im Verlauf von einer Woche aus der Essigsäure kein Farbstoff aus; erst nachdem mehr Salzsäure in der Kälte zugesetzt war, schieden sich schwarze, stäbchenförmige und kugelige Gebilde aus. Der gut krystallisierende Farbstoff wurde also durch den anderen an Krystallisation gehindert; dadurch läßt sich vielleicht auch erklären, warum das Umkrystallisieren des nach dem Lösen in Alkali rückverwandelten Hämins mißlang. Wenn ein Teil des Hämins rückverwandelt worden war, so konnte derselbe durch den anderen, schon veränderten Anteil des Farbstoffs an Krystallisation gehindert werden.

Auch hier wurde die Rückverwandlung des auf dem Umwege über das Hämin dargestellten Hämatins versucht. Gut ausgebildete Krystalle des Rohproduktes wurden mittels verdünnter Natronlauge in der schon beschriebenen Weise in Hämatin umgewandelt. 3 g dieses Hämatins wurden mit 750 ccm 90%igen Alkohols, der 0,5 Volumprocente  $H_2SO_4$  enthielt, in der Kälte extrahiert. Der Farbstoff löste sich jetzt viel besser als der des Ausgangsmaterials auf. Nach 1 Stunde wurde filtriert, das Filtrat fast zum Sieden erhitzt und mit einem Gemisch von je 3 ccm Alkohol und konzentrierter Salzsäure versetzt, alsdann durch Einstellen in kaltes Wasser gekühlt. Es schied sich bald ein krystallinischer Niederschlag aus, der nach 24 Stunden, wie oben angeführt ist, gewaschen, getrocknet und nach Küster umkrystallisiert wurde (2 g Substanz, 80 ccm Chloroform, 10 ccm Pyridin, 300 ccm kochsalzhaltigen Eisessig, 1 ccm konz. Salzsäure). Im Laufe von mehreren Tagen hat sich nur ein unbedeutender Absatz gebildet; erst nach dem Hinzufügen von mehr konzentrierter Salzsäure in der Kälte fiel der Farbstoff zum Teil in Form von schwarzen, stäbchen- und kugelförmigen Gebilden aus, die nicht Hämin sein konnten.

21. Juni 1912.

---