

Über die Methylierung des Hämins.

IV. Mitteilung.

Von

William Küster.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Tierärztl. Hochschule in Stuttgart.)

(Der Redaktion zugegangen am 21. September 1912.)

Vor zwei Jahren¹⁾ habe ich eine erste kurze Notiz über das Dimethylhämin veröffentlicht, wonach einmal der Befund Nenckis²⁾ bestätigt wurde, daß durch Einwirkung von Methylalkohol und Salzsäure auf das «Acethämin» zwei Methyle eintreten, und in der dann eine neue Darstellungsart desselben Körpers beschrieben wurde, bei der von der Verwendung von Essigsäure abgesehen wurde. Diese Herstellung gründete sich auf die Methode von Mörner;³⁾ das in guter Ausbeute entstehende Rohprodukt wurde sogleich mit Hilfe von Pyridin und Chloroform gelöst und durch Eintragen dieser Lösung in salzsäurehaltigen Methylalkohol reines Dimethylhämin gewonnen.

Seitdem haben wir uns mit den Rohprodukten näher befaßt und gefunden, daß nicht nur die Ausbeuten schwanken und die Zusammensetzung der Rohprodukte in bezug auf die Menge der einzelnen Bestandteile eine wechselnde sein kann, sondern daß auch die nach dem in der zweiten Mitteilung⁴⁾ angegebenen Verfahren getrennten Individuen des Gemisches nicht immer die gleichen Eigenschaften aufweisen.

Und zwar handelt es sich einmal um die elementare Zusammensetzung des Dimethylhämins, die bei einem Präparat⁵⁾ etwas höhere Werte für den Kohlenstoff aufwies, als sich für

¹⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. 43, S. 2960 (1910).

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 30, S. 384 (1900).

³⁾ Nordisk. Med. Arch., Festband 1, Nr. 26 (1896), und Diese Zeitschrift, Bd. 29, S. 187 (1900).

⁴⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. 45, S. 1935 (1912).

⁵⁾ Es handelt sich um das im experimentellen Teil mit Nr. 1 u. 2 bezeichnete Präparat.

die Formel $C_{36}H_{36}O_4N_4FeCl$ berechnet, und dann um das Verhalten der Monomethylhäminfraktion verschiedener Präparate gegenüber 0,7%iger Kaliumcarbonatlösung, aus dem hervorzugehen scheint, daß wir es mit den beiden, durch das Vorhandensein zweier Carboxyle¹⁾ im Hämin bedingten Isomeren zu tun haben. Da nun immer das gleiche Verfahren bei der Herstellung der Rohprodukte angewendet wurde, könnte das Auftreten der isomeren Monomethylhämine auf eine Verschiedenheit des Blutes verschiedener Individuen in bezug auf das Hämoglobin derselben zurückgeführt werden. Halten wir uns nämlich an die Vorstellung einer polypeptidartigen Bindung des Hämochromogens an das Eiweiß,²⁾ so kann diese entweder mit beiden Carboxylen an zwei Aminogruppen des Globins erfolgen oder mit dem einen oder dem anderen Carboxyl und einer Aminogruppe. In letzterem Falle wäre es vor allem möglich, daß bei der Herstellung von Hämin mit Hilfe von Methylalkohol das freie Carboxyl vorwiegend verestert würde, sodaß ein Gemisch von Monomethylhäminen entsteht, das einmal hauptsächlich aus dem Ester des Carboxyls A, ein andermal vorwiegend aus dem Ester des Carboxyls B besteht. Da ferner das eine Carboxyl (z. B. A) stärker ist als das andere,³⁾ so wird, wenn A frei war, eine weitere Methylierung in geringerem Maßstabe eintreten, als wenn B frei war, in welchem Falle also ein höherer Gehalt des Rohprodukts an Dimethylhämin vorausgesehen werden kann.⁴⁾

In meiner zweiten Notiz über die Methylierung des Hämins in den «Berichten» ist auf diese Verhältnisse nicht eingegangen worden, ich habe nur die Aufarbeitung des bei einem Versuch mit 15 l Blut erhaltenen Rohprodukts beschrieben. In der vorliegenden Zusammenstellung kommen fünf weitere Rohprodukte

¹⁾ Der Beweis hierfür wurde in der dritten Mitteilung über das Dimethylhämin durch die Oxydation desselben zum Ester der Hämatinsäure $C_8H_8O_4N$ erbracht. Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. 45, S. 2503 (1912).

²⁾ Vgl. Diese Zeitschrift, Bd. 66, S. 242 (1910).

³⁾ Vgl. Diese Zeitschrift, Bd. 66, S. 197 (1910).

⁴⁾ Die Möglichkeit einer betainartigen Bindung zwischen Carboxyl resp. Carbmethoxyl und den additionsfähigen Stickstoffatomen, auf welche ich Ber., Bd. 45, S. 1936, hingewiesen habe, kompliziert diese Verhältnisse natürlich noch weiter.

hinzu, sodaß ein Vergleich mit dem beschriebenen Fall möglich wird, der folgendes ergibt.

Obwohl das Verfahren Mörners¹⁾ stets in gleicher Weise gehandhabt wurde, schwankten die Ausbeuten recht beträchtlich, wir haben pro Liter Blut 2,6—4,6 g Hämin erhalten. Die Ausbeuten sind also immer recht gute, insofern sie die mit Hilfe von Äthylalkohol erzielten erreichen oder sogar überschreiten und an die bei Verwendung von Eisessig zu verwirklichenden manchmal herankommen,²⁾ die Eisessigmethode Schalfejeffs liefert aber viel gleichmäßigere Resultate.

Die hohen Werte sind aber nicht etwa auf große Mengen von beigemengtem Eiweiß zurückzuführen, wie wir durch Herstellung der «Dehydrochloridhämine» eigens feststellten, auch war der nach dem Abpressen der Farbstofflösung erhaltene Blutkuchen augenscheinlich in jedem Fall gleichmäßig frei von Farbstoff. Die Höhe der Ausbeuten dürfte vielmehr damit zusammenhängen, daß es eine in Methylalkohol leichter und eine sehr schwer lösliche Modifikation des Monomethylhämins gibt; je mehr von der ersteren gebildet wird, desto schlechter werden die Ausbeuten, desto weniger enthält dann die Monomethylhäminfraktion von der leichter löslichen Modifikation. Hand in Hand mit dem Vorwalten der schwerer löslichen Modifikation geht aber auch ein erhöhter Gehalt an in Methylalkohol unlöslichem Dimethylhämin, und je mehr von letzterem gebildet wird, desto besser die Ausbeute. Es ist nun bemerkenswert, daß, wie auf Grund vieler Beobachtungen gesagt werden kann, gerade das Blut sehr kräftiger Tiere nach der Methode Mörners verarbeitet schlechte Ausbeuten, allerdings aber auch immer ein sehr schönes Präparat liefert (vgl. Tab. I).

¹⁾ Es wurde nur an Stelle des Äthylalkohols 90%iger Methylalkohol verwendet.

²⁾ Wenn Piloty (Liebigs Ann., Bd. 377, S. 361, 1910) Ausbeuten von «7,3 g pro Liter» angibt, so beziehen sich diese natürlich auf das Liter Pferdeblut-Körperchen, nicht auf das Blut. Übrigens kann ich die Verwendung von Blutkörperchen, auf die ich als manchmal nützlich schon früher hingewiesen habe (Diese Zeitschrift, Bd. 40, S. 404, 1903), im allgemeinen nicht zur Häminbereitung nach Schalfejeffs Methode empfehlen. Man erhält häufig ein stark eiweißhaltiges Produkt.

Bei der Bestimmung der Methylzahl der Rohprodukte nach Zeisel wurden, mit einer Ausnahme, Werte zwischen 2 und 3 gefunden, während ein Dimethylhämin 4,4% Methyl verlangt, es handelte sich also augenscheinlich um Gemische von mono- und dimethylierten Häminen, trotzdem erwiesen sich die Rohprodukte, mit zwei Ausnahmen, als unlöslich in kalter 5%iger Natriumcarbonatlösung. Die eine betraf ein Präparat, das nur 0,7% Methyl enthielt (Tab. I Nr. 6) und sich also schon hierdurch von den übrigen Rohprodukten unterschied, die zweite Ausnahme machte aber ein Rohprodukt mit i. D. 2% Methyl (Tab. I Nr. 3). Hier wurde dann auch versucht, eine Trennung des Gemisches auf chemischem Wege, d. h. gerade durch Behandlung mit Soda zu erreichen, wobei sich zeigte, daß der mit einer zur völligen Neutralisation unzureichenden Menge des Alkalis bereits in Lösung gehende Anteil ebenfalls 2,08% CH_3 enthielt, während der zunächst auf dem Filter bleibende Rest beim Auswaschen allmählich in colloide Lösung ging. So erschien es auch hier nicht ratsam, die Trennung auf dem gedachten Wege zu versuchen. Sie glückte bis zu einem gewissen Grade bei allen Präparaten, nachdem sich Aceton und auch Chloroform als nicht geeignet erwiesen hatten, schließlich auf folgendem Wege. Das schwefel- und salzsäurefrei gewaschene, getrocknete und mit Petroläther¹⁾ extrahierte Rohprodukt wird zunächst mit Benzol heiß extrahiert (Teil A), dann mit Chloroform geschüttelt, bis nur noch geringe Substanzmengen herausgelöst wurden (Teil B), und der Rückstand (C) schließlich mit siedendem Methylalkohol erschöpfend behandelt.

Teil A. Der nach dem Abdestillieren des Benzols verbleibende Rückstand erwies sich meist als zum größten Teil in kaltem Benzol unlöslich (Ac), der hier in Lösung gegangene Anteil konnte dann durch Petroläther gefällt werden (Ab), im Filtrat blieben nur geringe Mengen fester Substanz (Aa).

¹⁾ Hierbei wird eine harzige Masse herausgelöst, die wie ein rohes Wollfett aussieht; ihre Lösung in Chloroform gibt denn auch mit konzentrierter Schwefelsäure die Cholesterinreaktion. Ein Rohprodukt, das sich aus den Filtraten des zuerst abgeschiedenen Hämins im Laufe einiger Tage abgesetzt hatte, gab dagegen an Petroläther direkt Cholesterin ab, das nach dem Umkrystallisieren den Schmelzpunkt 147—149° zeigte.

In den Anteilen Ab liegt ein Dimethylhämin vor, das außer durch die Löslichkeit in Benzol dadurch charakterisiert ist, daß es beim Erhitzen mit 5%iger Sodalösung nicht verändert wird. Die Fraktionen Ac enthielten nur 3—3,5% Methyl; es liegt ein Gemisch von di- und monomethylierten Häminen vor, dem ersteres durch Chloroform entzogen werden kann. Entsprechend enthalten die durch Chloroform extrahierten Fraktionen B nicht unbeträchtliche Mengen in Benzol löslicher Substanz, trotzdem mit Benzol vorher bis zur Erschöpfung extrahiert worden war, die sich als Dimethylprodukt erwies, während der Rest immer noch ein Gemisch von Di- und Monomethylhämin vorstellt. Diese Verhältnisse erklären sich dadurch, daß auch reines Dimethylhämin beim Abdampfen seiner benzolischen Lösung stets zu einem Teil in Benzol unlöslich wird, während sich derselbe in Chloroform noch löst und dann nach Verdampfen dieses Lösungsmittels auch wieder in Benzol löslich geworden ist.

Der nach der Extraktion mit Benzol und mit Chloroform verbleibende Rückstand (C) überwiegt der Menge nach in allen Rohprodukten; er betrug z. B. 67, 86 und 60% (vgl. Tab. I) und stellt ein Monomethylhämin vor, das sich durch Methylalkohol in leichter und sehr schwer lösliche Anteile (C_2) trennen ließ. Von ersteren erwies sich dann wieder nach dem Abdestillieren des Methylalkohols der größere Teil als sehr schwer in diesem Alkohol löslich (C_2).¹⁾ Es scheint also auch beim Monomethylhämin geradeso wie beim Dimethylhämin die Möglichkeit einer Umwandlung in eine zweite Modifikation zu bestehen. Hier liegen aber noch kompliziertere Verhältnisse vor, denn die Fraktionen C_3 verschiedener Rohprodukte zeigten in ihren Eigenschaften feine Unterschiede. Die Fraktionen C_3 von den Rohprodukten 1 und 2 sowie 4 lösten sich bei kurzer Einwirkung 5%iger Sodalösung nicht, wohl aber beim Erwärmen, in kalter 1%iger Natronlauge lösten sie sich allmählich vollständig, wobei auch das Chlor abgespalten wurde, allerdings ebensowenig quantitativ als aus dem Hämin selbst. Die Fraktion C_3 des Rohprodukts C_3 löste sich dagegen in derselben Sodalösung bei

¹⁾ Mit C_1 ist dann der im Methylalkohol löslich bleibende Anteil bezeichnet.

ganz schwachem Erwärmen.¹⁾ Da nun der Prozentgehalt an Methyl mit diesem Verhalten Hand in Hand ging — er betrug bei 1 und 2 sowie bei 4 etwa 2%; bei 3 dagegen nur 1,65% —, glaubte ich zunächst, eine Beimengung nicht methylierten Hämins bedinge die Löslichkeit, ein Zusatz von etwas Acethämin zu einer Probe der Fraktion C₃ von 1 und 2 bewirkte indessen nicht die Lösung der ganzen Menge.²⁾ In der Tat spricht nun das Verhalten gegen 0,7%ige Kaliumcarbonatlösung dafür, daß wir es in der Fraktion C₃ von 3, welches Rohprodukt aus dem Blut eines sehr kräftigen Tieres gewonnen wurde, mit einem Körper zu tun haben, der sich von der entsprechenden Fraktion des Rohprodukts 4 chemisch unterscheidet, während C₃ von 1 und 2 eine Mittelstellung einnimmt.

C₃ von 3 löste sich nämlich in 0,7%iger Kaliumcarbonatlösung, wenn auch langsamer als in der 5%igen Sodalösung, vollständig auf, eine Verseifung trat nicht ein, die gelöste Substanz wies noch einen bedeutenden Gehalt an Chlor auf. C₃ von 1 und 2 sowie von 4 lösten sich nicht vollständig unter denselben Bedingungen, die ungelöste Substanz war nicht verseift, enthielt aber bemerkenswerterweise kein Chlor mehr oder nur Spuren, in der gelösten war bei 1 und 2 teilweise Verseifung eingetreten, aber alles Chlor entfernt.

Auf die Folgerungen, welche dieses Verhalten in bezug auf die Struktur dieser Monomethylhämine vielleicht schon zuläßt, komme ich zurück, nachdem die Tatsache beleuchtet worden ist, daß das eine Monomethylhämin unter der Einwirkung von 0,7%iger Kaliumcarbonatlösung sein Chlor selbst aus den nicht in Lösung gegangenen Teilen so gut wie vollständig abgegeben hat, während das andere selbst in den gelösten Teilen noch bedeutende Mengen von Chlor enthält. Es ist beim Hämin selbst schon lange bekannt, daß einerseits ein Behandeln mit heißem Wasser genügt, um einen Teil des Chlors zu entfernen, ander-

¹⁾ Die Fraktionen C₁ und C₂ vom Rohprodukt 3 mit 1,4% Methyl lösten sich schon in 5%iger Sodalösung bei Zimmertemperatur.

²⁾ Auch der S. 138 beschriebene Versuch, wonach bei der Behandlung des Rohprodukts 3 mit einer zur vollständigen Lösung nicht ausreichenden Menge Natriumcarbonat ein Monomethylhämin zunächst in Lösung geht, spricht gegen die Anwesenheit nicht veresterten Hämins.

seits selbst beim Auflösen in Alkalien ein Teil des Chlors nicht von der organischen Substanz abzutrennen ist. Wir treffen also bereits beim Hämin genau dieselben Erscheinungen an wie bei den Monomethylhäminen, nur scheinen sie dort an einem chemischen Individuum vor sich zu gehen, hier an verschiedenen, d. h. aber das Hämin selbst kann bereits in zwei Modifikationen reagieren, die durch die Methylierung einen gewissen Grad von Stabilität erlangen.¹⁾ Noch deutlicher tritt die Reaktionsfähigkeit nach zwei Richtungen beim Dimethylhämin hervor, indem hier bereits verschiedene Lösungsmittel einen Einfluß haben.

Wie ich schon in der II. Mitteilung hervorhob, wird eine Lösung von Dimethylhämin in Chloroform sichtbar leichter durch Hydrazin zum entsprechenden Hämochromogen reduziert als eine Lösung in Benzol. Entsprechend wurde in den Rückständen, die nach Abdestillieren des Lösungsmittels aus einer benzolischen Lösung des Dimethylhämins hinterbleiben, eine Modifikation aufgefunden, die das Chlor fester gebunden enthält als frisch hergestelltes Dimethylhämin.

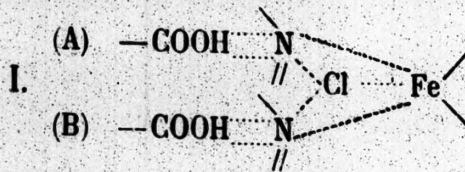
Aus allen Beobachtungen geht meines Erachtens zunächst mit Sicherheit hervor, daß das Chlor im Hämin nicht nur an das Eisen gekettet ist, sondern auch an den Stickstoff, was natürlich nur möglich ist, wenn letzterer additionsfähig ist. Diese letztere Annahme ist aber in der Tat zulässig, weil das Hämatoporphyrin ausgesprochen basische Eigenschaften aufweist und, wie ich gezeigt habe,²⁾ beim Übergang von Hämin in Hämatoporphyrin keine Veränderungen vor sich gehen, die das Entstehen additionsfähigen Stickstoffs zur Folge haben könnten. Da nun ferner das Hämatoporphyrin zweibasisch ist, haben wir es auch mit zwei additionsfähigen Stickstoffatomen im Hämin³⁾ zu tun, und die Annahme liegt nahe, daß beide mit der Chlorferrigruppe

¹⁾ Ich darf hier wohl an das Beispiel der Blausäure und ihrer Alkylderivate, der Nitrile und Isonitrile, erinnern.

²⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. 45, S. 1943 (1912).

³⁾ Der direkte Nachweis für basische Gruppen im Hämin ist noch nicht gelungen, der Salzbildung steht die Chlorferrigruppe hindernd im Wege, wie daraus hervorgeht, daß z. B. Überchlorsäure einen Teil des Chlors verdrängen kann. Ein Additionsprodukt mit Methylchlorid habe ich in der 2. Mitteilung beschrieben.

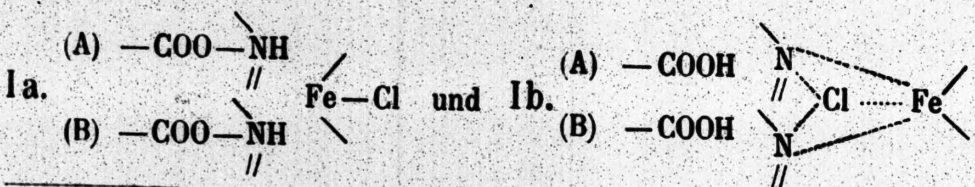
des Hämins in Verbindung stehen können, woraus sich sofort auch für das Eisen die zuerst von Willstätter¹⁾ geforderte Bindung mit Partialvalenzen an diese beiden Stickstoffatome ergibt. Da nun aber ein Teil des Chlors sich als leicht abspaltbar erweist, kann die geschilderte Bindung keine vollständige sein, was dadurch zu erklären ist, daß die beiden Carboxyle des Hämins einen gewissen Bruchteil der vierten und fünften Valenz der Stickstoffatome für sich unter Herstellung einer betainartigen Bindung in Anspruch nehmen, sodaß sich ein Gleichgewicht herstellt, das sich für die sauren und basischen Gruppen des Hämins durch folgende Formulierung wiedergeben läßt:



Durch die Methylierung wird dieses Gleichgewicht verschoben, indem die betainartige Bindung herabgedrückt wird; nur unter besonderen Bedingungen wird sie erhöht, z. B. durch das Lösen in Chloroform.

Die Einwirkung methylalkoholischer Natronlauge auf Dimethylhämin, Monomethylhämin und Hämin unter gleichen Bedingungen ergab nämlich als Resultat die Herausnahme von $\frac{2}{3}$, $\frac{3}{4}$ und $\frac{4}{5}$ der Gesamtmenge des vorhandenen Chlors aus den genannten Körpern. Da hierbei eine Verseifung nicht eintrat, ist das Verfahren auch geeignet, präparativ die dem Hämatin entsprechenden methylierten Hämatine herzustellen.

Im Hämin und im Dimethylhämin liegen also chemische Individuen vor, die in verschiedenen, bisher untrennbaren Modifikationen reagieren können, und zwar ergeben sich aus dem Formelbild I die beiden folgenden Grenzzustände Ia und Ib für das Hämin:



¹⁾ Liebigs Annalen der Chemie, Bd. 371, S. 49 (1909).

Aus dem Dargelegten folgt dann aber auch, daß wir es im Hämatin mit einem Körper zu tun haben, der sich vom Hämin recht wesentlich unterscheidet. Das harmonische Spiel der sauren und basischen Gruppen im Verbands des großen Häminmoleküls wird durch das Zahlenverhältnis 3:2 geregelt, im Hämatin ist es gerade umgekehrt; hier sind zwei saure und drei basische Gruppen vorhanden. Das Hydroxyl wird vornehmlich am Eisen haften, das Metall wird daher mit weniger Partialvalenz an den Stickstoff verkettet sein und damit leichter abspaltbar werden, als aus dem Hämin, wie es tatsächlich der Fall ist, der Ausgleich zwischen Carboxyl und Stickstoff wird ungehindert stattfinden, woher die Schwierigkeit stammt, normal zusammengesetzte Salze zu erhalten.¹⁾ In diesen Verhältnissen haben wir endlich auch den Grund dafür zu suchen, daß es nicht gelingt, aus dem, mit Hilfe von Alkalien aus dem Hämin hergestellten Hämatin in einer glatten Reaktion wieder Hämin zu gewinnen.²⁾ Ich führe im experimentellen Teil eine weitere Versuchsreihe in dieser Richtung an, die unter neuen Bedingungen ausgeführt wurde. Hämatin, wie Monomethylhämatin lösen sich nämlich sehr glatt in Methylalkohol auf, dem wenige Tropfen verdünnter Schwefelsäure zugesetzt worden sind; das gleiche Verhalten zeigen die entsprechenden Dehydrochloridhämine. Die zum Sieden erhitzte alkoholische Lösung wurde darauf mit Salzsäure gefällt und in sehr guter Ausbeute ein «Hämin» gewonnen. Die Analysen zeigten, daß einzig das Dehydrochloridhämin selbst Chlor wieder im berechneten Verhältnis aufgenommen hatte, alle anderen Präparate nahmen nur etwa $\frac{4}{5}$ der berechneten Menge auf, also gerade soviel, als das Hämin bei der Einwirkung alkoholischer Natronlauge abgegeben hatte. Bei unserem Verfahren trat nun gleichzeitig auch Veresterung ein und zwar wurde Hämatin, Dehydrochloridhämin und Monomethylhämatin in ein dimethyliertes Produkt übergeführt, während Monomethyldehydrochloridhämin keine Weitermethylierung erlitt.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 66, S. 191 (1910).

²⁾ In neuester Zeit hat sich A. Hamsik vergeblich bemüht, diese Umsetzung zu verwirklichen. Diese Zeitschrift, Bd. 80, S. 35 (1912).

Diese rohen dimethylierten Präparate lösten sich alle in Chloroform und Eisessig, aber nur das aus Dehydrochloridhämin erhaltene Produkt wurde nach dem Verdunsten des Lösungsmittels in prächtigen Krystallen erhalten, die sich nicht merklich in Methylalkohol und verdünnter Schwefelsäure lösten. Es gelingt also, die Überführung des Dehydrochloridhämins sowohl in Hämin wie in Dimethylhämin. Das aus Hämatin erhaltene dimethylierte Produkt lieferte bei analoger Behandlung kein krystallisiertes Dimethylhämin, das aus Dehydrohämatin erhaltene Produkt gab an, mit verdünnter Schwefelsäure versetzten Methylalkohol beträchtliche Substanzmengen ab, der Rückstand krystallisierte aus einem Gemisch von Chloroform und Essigsäure in häminähnlichen Formen. Es ist also wahrscheinlich, daß hier die Rückverwandlung erfolgt ist, sie erstreckt sich aber nur auf einen kleinen Teil.

Ich halte es nach allem für beinahe ausgeschlossen, daß man, vom gewöhnlichen Hämatin ausgehend, zu einem «reinen» Hämin in quantitativer Ausbeute gelangt, trotzdem beide Körper zueinander gehören, und möchte Herrn O. Piloty nochmals ersuchen, die Bedingungen, unter denen er mit Eppinger zusammen die gedachte Umwandlung bewirkt hat, so scharf zu formulieren, daß ein jeder imstande ist, den Versuch zu wiederholen. Mit meiner ersten diesbezüglichen Aufforderung¹⁾ habe ich ja nur erreicht, daß Herr Piloty die unklare Vorschrift aus der Dissertation seines Schülers in die Annalen verpflanzt hat, anstatt neues Versuchsmaterial und einige Angaben über die Mengenverhältnisse zu bringen. Denn ich habe gerade die Behauptung Pilotys, die Umwandlung vollziehe sich «quantitativ», angegriffen, durchaus aber nicht die Möglichkeit bestritten, einen chlorhaltigen Körper zu gewinnen. Wenn also Piloty den Lesern der Annalen versichert, ich hätte schließlich zugeben müssen, daß ein, wenn auch nicht reines Hämin entsteht, so verschweigt er wohlweislich, daß damit das Wesen der Streitfrage gar nicht berührt wird. Will doch — ich wiederhole es — Piloty quantitative Ausbeuten an sogar typisch

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 66, S. 215/216 (1910).

krystallisiertem Hämin,¹⁾ aus einer bestimmten Hämatinmenge erhalten haben.

Außer dem Monomethylhämin und dem Dimethylhämin wurde auch eine Anzahl von Rohprodukten der Einwirkung von Anilin unterzogen, einmal, um die Menge der Verunreinigung durch Eiweiß zu kontrollieren, dann auch, um festzustellen, ob hier ebenfalls Chlorwasserstoff, oder ob etwa Chlormethyl abgespalten wird, endlich, um eine Trennung der Bestandteile in Form der Dehydrochloridkörper zu versuchen und um dann durch Wiederanlagerung von Chlorwasserstoff zu den entsprechenden Häminen zu gelangen. Diese Versuche ergaben zunächst das Resultat, daß die Rohprodukte 1 und 2, 3 und 5 als nicht nennenswert durch Eiweiß verunreinigt waren, das Rohprodukt 4 enthielt ca. 0,5%, während die mit Hilfe von Äthylalkohol gewonnenen Hämine bis zu 8% Eiweiß aufgewiesen hatten. Die Chlorabspaltung war überall eine fast vollständige, auf eine Abspaltung von Methyl deutete bisher nur eine Analyse und zwar bei einem aus Dimethylhämin, aus rohem Acethämin hergestellt, hervorgegangenen Präparat. Der in Äther lösliche Teil dieses Dehydrochloridproduktes enthielt noch 4,1% CH_3 , der nicht gelöst nur 3,3%. Da aber ein analytischer Fehler nicht unwahrscheinlich ist und weitere Untersuchungen ergaben, daß eine Abspaltung von Methyl nicht stattfindet, so müssen die Vorstellungen,²⁾ die ich mir über die Bildung der Dehydrochloridhämine gemacht habe, eine Korrektur erfahren. Bisher wurde angenommen, daß ein Austritt von Chlorwasserstoff zwischen einem Carboxyl- und der Chlorferrigruppe erfolge. Dies wird aber bei einem Dimethylester unmöglich, wenn das Hämin als saure Gruppen nur zwei Carboxyle enthält, wie dies jetzt nachgewiesen ist. Es muß also der Wasserstoff von einer anderen Stelle des Moleküls fortgenommen werden.³⁾ Im Anschluß an diese Folgerung haben

¹⁾ Piloty hat an meiner Ausdrucksweise «typisches Hämin» Anstoß genommen, ich ersetze sie daher durch die hoffentlich eindeutige «typisch krystallisiertes Hämin».

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 66, S. 234 (1910).

³⁾ Das dürfte auch beim Hämin und den Monomethylhäminen eintreten können, und es ist daher damit zu rechnen, daß die — bisher nicht krystallisiert erhaltenen — Dehydrochloridprodukte Gemische vorstellen.

wir aus einem Dehydrochloridhämin durch Einwirkung von Alkalien das Dehydrohämatin hergestellt, um durch die Analyse zu ermitteln, ob hierbei eine Einlagerung von Wasser stattfindet, oder ob beide Präparate dieselbe Zusammensetzung aufweisen, wie es zwei Analysen bisher möglich erscheinen ließen.¹⁾ Der Ausfall der neuen Analyse spricht nun zugunsten der ersteren Auffassung, d. h., also für eine Identität des sogenannten Dehydrohämatins mit dem Hämatin. Somit ist also eine endgültige Entscheidung noch nicht möglich. Eine glatte Rückverwandlung des «Dehydrohämatins» in ein Hämin war natürlich ebensowenig möglich, wie die des Hämatins, es wurde sogar noch weniger Chlorwasserstoff aufgenommen, als durch das Hämatin.

Die Trennung der Dehydrochloridpräparate, die aus den Rohprodukten erhalten worden waren, ist insofern nicht aussichtslos, als der dimethylierte Körper in Äther löslich ist, der monomethylierte nicht. So wurde denn auch beim Rohprodukt 4 ein Monomethyldehydrochloridhämin gewonnen, das, nach der Analyse zu urteilen, Anspruch auf Reinheit hat. Doch ist diese Art der Trennung natürlich sehr umständlich. Auch die Trennung der Rohprodukte selbst ist recht mühsam und liefert namentlich nur geringe Mengen an reinem Dimethylhämin, da sie ja gewöhnlich höchstens zu einem Drittel aus diesem Produkt bestehen. So ist es für die Gewinnung von Dimethylhämin ratsam, das Rohprodukt sogleich noch einmal mit Hilfe von Methylalkohol und Salzsäure zu methylieren, wie ich es in der ersten Mitteilung angegeben habe, oder vom Acethämin Schalfejeffs auszugehen, wobei man aber zweckmäßig nicht mehr als 5 g zu einer Operation verwendet. Daß das hierbei entstehende Produkt sehr leicht lösliche Anteile enthält, die nach ihrer Analyse als ein Anlagerungsprodukt von Chlor-methyl an Dimethylhämin angesprochen werden dürfen, habe ich in der zweiten Mitteilung schon erwähnt. Auf dieses interessante Produkt, das die Additionsfähigkeit eines Stickstoffatoms im Hämin direkt beweisen würde, soll bei weiteren Versuchen besonders Rücksicht genommen werden. Inzwischen

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 40, S. 414 (1903).

ist es uns geglückt, mit Hilfe von Dimethylsulfat auf einfacherem Wege größere Mengen von reinem Dimethylhämin zu gewinnen, worüber in einer folgenden Abhandlung berichtet werden wird.

Was die Analyse der erhaltenen Substanzen betrifft, so machte die Kohlen- und Wasserstoffbestimmung mancher Präparate Schwierigkeiten; namentlich wollte es nicht gelingen, bei den aus dem Rohprodukt 1 und 2 dargestellten Häminen einheitliche Resultate zu erübrigen, die Werte fielen für den Kohlenstoff meistens um $\frac{1}{2}$ bis 1% zu hoch aus.

Treffliche Dienste leistete die Zeiselsche Methode der Methoxylbestimmung; es sei hier erwähnt, daß das zweite Methyl sich als viel leichter abspaltbar erwies, als das erste¹⁾ und daß die Abspaltung aus den methylierten Hämatinen etwas schwieriger vonstatten ging, als aus den Häminen, was aber auch damit zusammenhängen mag, daß letztere voluminösere Pulver geben, als erstere.

Erwähnt sei ferner, daß mehrere Male auch eine Alkylbestimmung nach Herzig-Meyer ausgeführt wurde, wobei jedoch stets nur minimale Mengen der Silberverbindungen erhalten wurden. Eine Wanderung der Alkyle der bei der Einwirkung des Jodwasserstoffs entstehenden substituierten Pyrrole (Hämo-, Krypto- und Phyllopyrrol) vom Kohlenstoff zum Stickstoff, also die Umkehrung einer experimentell zu verwirklichenden Reaktion, tritt somit bei etwa 130° nur im geringsten Maße auf. Dagegen findet, wenn man die Möglichkeit einer betainartigen Bindung zugibt, die Wanderung des Methyls vom Stickstoff zum Sauerstoff sehr leicht statt, da die Abspaltung beim Arbeiten nach der Methode Zeisels stets vollständig wurde. Solche Wanderungen sind aber vielfach beobachtet worden,²⁾

¹⁾ Dimethylhämine zeigten Abspaltung von Methyl gewöhnlich schon, bevor die Jodwasserstoffsäure ins Sieden kam, Monomethylhämin dagegen meist erst 5 bis 10 Minuten, nachdem der Siedepunkt der Säure erreicht war.

²⁾ Vgl. z. B. Willstätter, Ber., Bd. 35, S. 584 (1902); Bd. 37, S. 401 (1904). — Goldschmidt-Hönigschmid, Ber., Bd. 36, S. 1850 (1903); Monatshefte, Bd. 27, S. 849 (1906); Bd. 28, S. 1063 (1907).

so daß die Tatsache der Abspaltung des Methyls nach Zeisel nicht gegen die Bindung an den Stickstoff herangezogen werden kann.

Experimenteller Teil.

Tabelle I.

Darstellung, Ausbeute und Eigenschaften der mit Hilfe von Methylalkohol nach Mörners Methode erhaltenen Rohhämine.

Präparat-Nr.	Blutmenge Liter	Ausbeute ¹⁾		Methylalkohol	Nach Zusatz der Salzsäure	°/o CH ₃	In Na ₂ CO ₃		°/o Monomethylhämin	
		gesamt in g	pro Liter in g				kalt	heiß	Ge- samt	In CH ₃ OH schwer lösl.
1 u. 2	28	74,3	2,65	unver- dünnt	sogleich abgekühlt	2,4 u. 2,6	keine Lösung	Lösung	67	42,5
3	15	54	3,6	mit 10% Wasser	»	1,8 u. 2,2	allmäh- liche Lösung	—	86	76
4	15	70,2	4,68							
5	15	52	3,47	ver- dünnt	1/4 Stunde im Sieden erhalten	3,2	keine Lösung	Lösung	—	—
6	15	70	4,67							
7	15	42	2,8							

Analytische Belege.

Präp. 1 u. 2.	0,3127 g Subst. (120°):	0,1206 g AgJ nach Zeisel	= 2,46°/o CH ₃
	0,3146 » » (i. Vak.):	0,1285 » » » »	= 2,6°/o »
	0,2661 » » (110°):	0,1116 » » » »	= 2,68°/o »
» 3.	0,1739 » » (120°):	0,0503 » » » »	= 1,85°/o »
	0,2036 » » (110°):	0,0700 » » » »	= 2,19°/o »
» 4.	0,316 » » (110°):	0,1382 » » » »	= 2,8°/o »
» 5.	0,2744 » » (110°):	0,1371 » » » »	= 3,19°/o »
» 6.	0,2474 » » (110°):	0,027 » » » »	= 0,7°/o »
» 7.	0,1616 » » (110°):	0,0622 » » » »	= 2,46°/o »

A. Beschreibung der einzelnen Rohprodukte.

Präparat Nr. 1 und 2 war aus dem Blut verschiedener Tiere erhalten worden, 28 l lieferten 74,3 g eines braunvioletten Pulvers, das, unter dem Mikroskop betrachtet, nur undeutlich

¹⁾ Mit Äthylalkohol wurde bei einer Reihe von Darstellungen 2,4 bis 3,9 g Hämin pro Liter Blut erhalten.

krystallisiert erschien. Nach der Analyse zu urteilen, konnte es ein Dimethylderivat vorstellen.

0,1600 g Substanz (100°): 0,3723 g CO₂ und 0,081 g H₂O
 0,0977 » » (100°): 6,8 ccm N, 9°, 738,5 mm
 0,2025 » » (100°): 0,0440 g AgCl (Carius).

	C	H	N	Cl	Fe
Berechnet für C ₃₆ H ₃₆ O ₄ N ₄ FeCl:	63,57%	5,34%	8,22%	5,22%	8,22%
Gefunden:	63,40%	5,63%	8,32%	5,37%	—

Die schon angegebenen Methylzahlen wiesen aber auf ein Monomethylderivat, auch löste sich das in kalter Soda unlösliche Produkt beim Erwärmen auf. Es wurde nun versucht, durch weitere Methylierung zu einem Dimethylhämin zu gelangen. Zu diesem Zweck wurden 5 g mit 80 ccm Chloroform geschüttelt, filtriert und das Ungelöste mit 50 ccm Chloroform nachgespült. Das Gesamtfiltrat wurde in 200 g Methylalkohol eingetragen, der zum Sieden erhitzt und dann mit 25 ccm 40%iger Salzsäure versetzt worden war, worauf noch auf dem Wasserbade erhitzt wurde, bis sich der zum Umrühren benutzte Glasstab mit schwarzen Krystallen bedeckte. Das nach eintägigem Stehen abgesetzte Produkt wurde abgesaugt und mit Methylalkohol chlorfrei gewaschen, dann im Vakuum getrocknet. Aus 3 g bei der soeben beschriebenen Behandlung in Lösung gegangenen Farbstoff wurde hier nur 1 g wiedererhalten, aus Aceton, in dem das Präparat sehr leicht und völlig löslich war, in feinen Nadeln krystallisierend, in Soda auch beim Erhitzen nicht löslich.

Analyse.

0,1470 g Subst. (100°): 0,3422 g CO₂ u. 0,0716 g H₂O = 63,49% C u. 5,42% H
 0,1667 » » (120°): 0,0347 » AgCl (Carius) = 5,15% Cl
 0,0913 » » (110°): 0,0597 » AgJ (Zeisel) = 4,19% CH₃.

Danach liegt hier nun wirklich ein Dimethylhämin vor, das aber in sehr schlechter Ausbeute erhalten worden war.

In der Tat schied sich aus den Mutterlaugen nach dem Verdampfen des Chloroforms noch «Hämin» ab, das aber in Methylalkohol sehr leicht löslich war. Da nun auch nach Abdestillation des größten Teils des Lösungsmittels keine Abscheidung eintrat, wurde durch 25%ige Salzsäure gefällt, der Niederschlag abfiltriert und chlorfrei gewaschen. Hier lag nun aber ein in seiner Zusammensetzung wesentlich von einem

Hämin abweichender Körper vor, der sich auch schon dadurch unterschied, daß beim Erhitzen auf 110° ein Zusammensintern eintrat.

Die Analyse gab nämlich folgende Werte:

0,1355 g Substanz (110°): 0,2893 g CO₂ und 0,0655 g H₂O
= 58,23% C und 5,37% H

0,2105 g Substanz (120°): 0,0869 g AgCl und 0,0230 g Fe₂O₃ (Carius)
= 10,21% Cl und 7,65% Fe

0,1469 g Substanz (110°): 0,1370 g AgJ (Zeisel) = 5,95% CH₃.

Es muß also eine Addition von Methylchlorid erfolgt sein.¹⁾

Wie erwähnt, waren bei der erstmaligen Behandlung mit Chloroform von den verwendeten 5 g nur etwa 3 g in Lösung gegangen. Der Rest von etwas über 2 g löste sich nun sehr leicht und fast vollständig in 2 g Chinin und 90 ccm Chloroform,²⁾ welche Lösung alsdann in 150 g Methylalkohol eingetragen wurde, der zum Sieden erhitzt und mit 20 ccm 40%iger Salzsäure versetzt worden war. Am nächsten Tage wurden die sehr schönen Krystalle abgesaugt, mit verdünnter Salzsäure chininfrei und mit Wasser chlorfrei gewaschen. Nach dem Trocknen im Vakuum ergab sich ein Gewicht von fast 2 g, wovon 0,2 g beim Waschen mit Aceton abgegeben wurden. Der Rest löste sich leicht und vollständig in Chloroform und krystallisierte daraus in prächtigen, häminähnlichen Formen. Gepulvert erschien die Substanz braunviolett, sie löste sich nicht in heißer Sodalösung.

Auch hier gab die Analyse zu hohe Werte für den Kohlenstoff, leider differierten sie nicht unerheblich.

0,1060 g Subst. (110°): 0,2557 g CO₂, 0,0578 g H₂O und 0,0132 g Fe₂O₃
= 65,79% C, 6,06% H und 8,68% Fe

0,1463 „ „ (100°): 0,3502 g CO₂, 0,0693 g H₂O und 0,0164 g Fe₂O₃
= 65,28% C, 5,27% H und 7,85% Fe

0,1313 „ „ (110°): 0,3128 g CO₂, 0,0694 g H₂O und 0,0150 g Fe₂O₃
= 64,97% C, 5,83% H und 8,0% Fe

0,0921 „ „ (100°): 6,5 ccm N, 15,5° und 732 mm B. = 7,87% N

0,1290 „ „ (100°): 0,027 g AgCl (Carius) = 5,17% Cl

0,0863 „ „ (110°): 0,0539 g AgJ (Zeisel) = 4,0% CH₃

(nach Herzig-Meyer kein AgJ)

¹⁾ Vgl. Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. 45, S. 1940 (1912), und Seite 38.

²⁾ Das Präparat enthielt also nur Spuren von Eiweiß.

0,0920 g Subst. (130°): 0,0621 g AgJ (Zeisel) = 4,3% CH₃ (Kühler 80°)
 0,1523 „ „ (110°): 0,0172 g Asche, nach Lösen derselben in Salzsäure und Fällen mit Ammoniak: 0,0177 g Fe₂O₃ = 8,13% Fe.

Ein zweiter Versuch bezweckte die Trennung der im Präparat 1 und 2 vorhandenen Bestandteile durch Chloroform. 10 g wurden mit 100 ccm Chloroform 1½ Stunde geschüttelt, die Lösung abfiltriert und der Rückstand der gleichen Behandlung nochmals unterzogen. Nach mehrmaligem Nachwaschen mit Chloroform betrug das Gewicht der nicht gelösten Teile 6,6 g, wobei auch die Teile mitgerechnet sind, die nach Abdestillation des Chloroforms aus den Filtraten beim Wiederaufnehmen dieses Rückstands in Chloroform zurückblieben. Diese Lösung wurde mit hochsiedendem Petroläther versetzt und auf dem Wasserbade langsam erwärmt, wobei sich der Farbstoff in kleinen zu Drusen vereinigten Nadeln absetzte, die dann abgesaugt und mit Petroläther nachgewaschen wurden. Ihr Gewicht betrug 2,5 g.

Analyse.

0,1370 g (110°): 0,3240 g CO₂, 0,0699 g H₂O und 0,0164 g Fe₂O₃
 0,1400 „ (110°): 0,3265 „ „ 0,0711 „ „
 0,176 „ (110°): 0,0371 „ AgCl (Carius)
 0,1761 „ (110°): 0,1078 „ AgJ (Zeisel).
 Gefunden: 64,5% C, 5,67% H, 8,38% Fe — —
 63,6% C, 5,65% H — 5,22% Cl, 3,9% CH₃.

Ein ganz reines Dimethylderivat lag aber nicht vor, da sich das Präparat in Benzol nicht völlig löste, während beim Kochen mit Sodalösung allmählich Lösung eintrat.

Der in Chloroform schwer lösliche oder unlösliche Teil (6,6 g) enthielt nur 2,6% CH₃, trotzdem stimmte die Analyse auf ein Dimethylderivat:

0,1444 g Subst. (110°): 0,3373 g CO₂, 0,0707 g H₂O und 0,0177 g Fe₂O₃
 0,2406 „ „ (110°): 17 ccm N, 740 mm B., 16°
 0,1469 „ „ (110°): 0,0605 g AgJ (Zeisel).
 Gefunden: 63,6% C, 5,44% H, 8,57% Fe, 8,02% N, 2,6% CH₃.

Nun konnte durch Schütteln mit Methylalkohol eine weitere Trennung erreicht werden, etwa 1/3 des Präparats blieb ungelöst. Dieser Teil mußte die geringen Beimengungen enthalten, trotzdem gab er die Methylzahl 2,18 (0,1502 Substanz [100°],

0,0511 AgJ), auch war er unlöslich in kalter Sodalösung, löslich dagegen in Natronlauge bei Zimmertemperatur. Ein reines Monomethylhämin lag nicht vor, da nur 4,75% Chlor erhalten wurden.

(0,1425 g Subst.: 0,0274 g AgCl [Carius]), die Elementaranalyse gab 62,4% C, 5,05% H, 8,85% Fe. (0,1210 g Subst. (100°): 0,2779 g CO₂, 0,0550 g H₂O, 0,0153 g Fe₂O₃).

Das anfänglich in Methylalkohol Gelöste zerfiel wieder in zwei Teile, da nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels nur noch ein kleiner Teil in Methylalkohol löslich war, der aus dieser Lösung durch verdünnte Salzsäure gefällt wurde (C₁), die Hauptmenge war so gut wie unlöslich geworden, löste sich aber in Methyläthylketon und krystallisierte aus dieser Lösung in Formen, die durchaus an Hämin erinnerten (C₂). In Soda waren beide Teile erst beim Erhitzen löslich.

C₁ enthielt 2,8% CH₃ (0,1313 g Subst.: 0,0578 g AgJ).

• • 4,7% Cl und 8,16% Fe (0,1321 g Subst.: 0,0251 g AgCl und 0,0154 g Fe₂O₃, Carius).

C₂ gab folgende Werte: 62,42% C, 5,04% H, 8,77% Fe, 5,02% Cl, 2,25% CH₃, 0,1548 g Subst. (110°): 0,3543 g CO₂, 0,0702 g H₂O, 0,0194 g Fe₂O₃,

0,1544 • • (110°): 0,0313 • AgCl

0,1700 • • (110°): 0,060 • AgJ.

Zur Überführung in das dimethylierte Produkt wurden 2 g der in Chloroform schwer löslichen Teile mit Hilfe von 2 g Chinin mit 50 ccm Chloroform unter Schütteln gelöst, die Lösung filtriert und das Filtrat mit 50 ccm Chloroform ausgewaschen, wonach nur Spuren zurückblieben. Die Lösung wurde jetzt in 150 ccm siedenden Methylalkohols eingetragen, dem 20 ccm 40%ige Salzsäure zugefügt waren, und auf dem Wasserbade im Sieden erhalten, bis sich der zum Umrühren benutzte Glasstab mit dem sich abscheidenden Produkt zu beschlagen begann. Der am nächsten Tage abgesaugte, dreimal mit Methylalkohol, dann mit verdünnter Salzsäure chininfrei und mit Wasser chlorfrei gewaschene Krystallbrei wog nach dem Trocknen 1,4 g. Er wurde nunmehr mit kaltem Aceton erschöpfend extrahiert, wobei etwa die Hälfte in Lösung ging. Nach dem Abdestillieren dieses Lösungsmittels erwies sich der Rückstand als fast unlöslich in Aceton, in Chloroform löste

er sich leicht. Beide Fraktionen krystallisierten wie Dimethylhämin, verhielten sich auch gegen Soda wie ein solches, auch gab hier die Analyse Übereinstimmung mit den berechneten Werten.

Teil 1 (in Aceton löslich gewesen).

0,1859 g Subst. (100°): 0,4304 g CO₂, 0,0924 g H₂O, 0,0214 g Asche
= 63,14% C, 5,52% H, 8,06% Fe

0,0630 „ „ (100°): 0,0125 g AgCl = 4,91% Cl

0,0947 „ „ (100°): 0,0617 g AgJ = 4,15% CH₃ (die Abspaltung geht leicht vor sich).

Teil 2 (in Aceton nicht gelöst).

0,1736 g Subst. (100°): 0,4029 g CO₂, 0,0897 g H₂O, 0,0200 g Asche
= 63,3% C, 5,74% H, 8,07% Fe

0,0995 „ „ (100°): 0,0638 g AgJ = 4,09% CH₃ (die Abspaltung erfolgt leicht).

Die bei der Umscheidung erhaltene Mutterlauge lieferte, nachdem das Chloroform verdunstet und der größte Teil des Methylalkohols abdestilliert worden war, durch Fällen mit Salzsäure einen Niederschlag, der chlorfrei gewaschen und getrocknet 0,5 g wog.

Er enthielt 8,82% Cl und 8,07% Fe (0,1943 g Substanz (110°): 0,0693 g AgCl und 0,0224 g Fe₂O₃), bestand also zum Teil wieder aus dem Additionsprodukt von Methylchlorid an Dimethylhämin, er sinterte auch beim Trocknen bei 110° zusammen.

5 g des Rohhäminprodukts 1 und 2 wurden nach der früher¹⁾ gegebenen Vorschrift in das Dehydrochloridprodukt übergeführt, die Ausbeute betrug 4,6 g, einen Rückstand hatte die Lösung des Hämins in Anilin nicht hinterlassen. Während der nun folgenden dreitägigen Extraktion mit Äther hatten sich einmal bis 5 mm lange, schmale, zu Büscheln vereinigte Nadeln an der Hülse abgeschieden, eine Erscheinung, die bisher nicht wieder beobachtet werden konnte. Leider reichte die Menge zu einer analytischen Untersuchung nicht aus. Im ganzen waren 0,8 g herausgelöst worden, die bei dem Versuch, sie aus heißem Alkohol umzukrystallisieren, eine Umwandlung erlitten, deren Natur noch nicht ermittelt werden konnte.

Das nach der Extraktion mit Äther auch noch mit Aceton erschöpfend behandelte Produkt zeigte folgende Zusammensetzung:

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 40, S. 408 (1904).

	C	H	N	Fe	CH ₃	Cl
	I. 66,80%	6,18%	9,13%	8,55%	1,8%	0,34%
Berechnet für C ₃₃ H ₃₃ O ₄ N ₄ Fe:	66,77	5,25	8,9	8,9	2,39	0,0
I. 0,1493 g Subst. (120°):	0,3662 g CO ₂ ,	0,0831 g H ₂ O				
0,1066 > > (120°):	8,6 ccm N,	17,5°, 743,5 mm B.				
0,1653 > > (120°):	0,0023 g AgCl und	0,0202 g Fe ₂ O ₃ (Carius).				
0,2842 > > (120°):	0,08 g AgJ (Zeisel).					

Bei einem 2. Versuch ergab das analog erhaltene Produkt folgende Werte:

II. 66,42%	C	5,25%	H	8,91%	N	9,16%	Fe	2,1%	CH ₃	0,35%	Cl
0,1146 g Subst. (120°):		0,2791 g CO ₂ ,		0,0542 g H,		0,015 g Asche (Fe ₂ O ₃)					
0,1000 > > (120°):		8 ccm N,		18°, 733,5 mm B.							
0,1714 > > (120°):		0,0024 g AgCl (Carius)									
0,1640 > > (120°):		0,0538 g AgJ (Zeisel).									

Die Trennung der Bestandteile von Präparat 1 und 2 gestaltete sich wie folgt: 25 g wurden zwei Tage lang mit siedendem Benzol extrahiert, wodurch 2,5 g, also 10% herausgenommen wurden (Fraktion A). Das Ungelöste wurde nunmehr mit je 100 ccm Chloroform dreimal geschüttelt, wobei sich zuletzt nur noch wenig löste; hierbei wurden 5,8 g oder 23% extrahiert (Fraktion B). Dem Rückstand wurden durch siedenden Methylalkohol 3,5 g entzogen (C₁), so daß ein in Methylalkohol schwer löslicher Teil von 12 g schließlich zurückblieb (C₂).

Fraktion A wurde nach Abdestillation des Benzols dadurch wieder geteilt, daß der Rückstand mit kaltem Benzol erschöpfend behandelt wurde, die Hauptmenge (1,6 g) blieb hierbei ungelöst (A₃), aus der benzolischen Lösung wurden 0,6 g (A₂) durch Petroläther gefällt, eine sehr geringe Menge blieb hierbei in Lösung (A₁). A₃ löste sich merklich nur in heißem Benzol und krystallisierte nach dem Verdampfen des Lösungsmittels in kleinen Nadeln, auch in Eisessig löste sich diese Fraktion nur in der Hitze, fiel aber beim Erkalten nicht aus. In heißer Soda erwies sie sich als allmählich löslich, in heißer Natronlauge als völlig löslich. Die Analyse ergab nur einen Gehalt von 3,5% CH₃, dagegen für den Kohlenstoff einen um 0,6% höheren Wert als sich für ein Dimethylhämin, das 4,4% CH₃ erfordert hätte, berechnet.

- 0,1680 g Subst. (100°): 0,3953 g CO₂, 0,081 g H₂O und 0,0202 g Fe₂O₃
 = 64,17% C, 5,3% H, 8,42% Fe
- 0,1707 „ „ (100°): 0,0350 g AgCl und 0,0209 g Fe₂O₃ (Carius)
 = 5,07% Cl und 8,57% Fe
- 0,1993 „ „ (100°): 0,109 „ AgJ (Zeisel) = 3,5% CH₃.

A₂ wurde durch Sodalösung im kochenden Wasserbade nur spurenweis gelöst.

Fraktion B. Der nach dem Abdestillieren des Chloroforms bleibende Rückstand wurde zunächst noch einmal in möglichst wenig Chloroform aufgenommen, wobei aber nur sehr geringe Mengen, die mit C vereinigt wurden, zurückblieben. Dann wurde das Chloroform wieder abdestilliert und der Rückstand mit warmem Benzol digeriert, da sich gezeigt hatte, daß dieses Lösungsmittel, trotzdem augenscheinlich mit ihm bei der Gewinnung der Fraktion A₁ vollständig extrahiert worden war, jetzt wieder Teile herausnahm. Und zwar sogar etwa die Hälfte der ganzen Fraktion (B₁), sie wurde wieder durch Füllen mit Petroläther isoliert, löste sich in Sodalösung erst nach halbstündigem Verweilen im kochenden Wasserbade und erwies sich auch nach der Analyse als mit A₃ gleich zusammengesetzt.

- 0,1584 g Subst. (100°): 0,3713 g CO₂, 0,0756 g H₂O und 0,0192 g Fe₂O₃
 = 63,93% C, 5,3% H, 8,48% Fe
- 0,1589 „ „ (100°): 0,0346 g AgCl (Carius) = 5,38% Cl
- 0,1610 „ „ (100°): 0,0955 „ AgJ (Zeisel) = 3,8% CH₃.

Die andere Hälfte (B₂) löste sich auch nur bei längerem Erhitzen in Soda auf, erwies sich aber in der Zusammensetzung als abweichend und spaltete ihr Methyl erst bei längerer Einwirkung über 140° ab.

- 0,1774 g Subst. (100°): 0,4096 g CO₂, 0,0815 g H₂O, 0,0222 g Fe₂O₃
 = 62,98% C, 5,1% H, 8,76% Fe
- 0,1534 „ „ (100°): 0,0747 g AgJ (Zeisel) = 3,1% CH₃.

Die Fraktion C (16,7 g) wurde durch Extraktion mit siedendem Methylalkohol zerlegt; es blieben 12 g (C₂) zurück, während nach Abdestillation des Methylalkohols, Aufnahme in Methyläthylketon und Eingießen der filtrierten Lösung in Wasser 3,5 g (C₁) gefällt wurden. Beide Fraktionen lösten sich erst in

heißer Sodalösung vollkommen auf, deutliche Krystalle konnten hier nicht erhalten werden.

C ₁ .	0,1630 g Subst. (110°):	0,3796 g CO ₂ ,	0,0824 g H ₂ O,	0,0202 g Fe ₂ O ₃ ,
		= 63,51% C, 5,62% H und 8,7% Fe		
	0,1827 „ „	(110°):	0,0335 g AgCl (Carius)	= 4,54% Cl
	0,1403 „ „	(100°):	0,0487 „ AgJ	= 2,21% CH ₃ (Zeisel).
C ₂ .	0,1435 „ „	(100°):	0,0505 „ „	= 2,1% CH ₃ .

Verseifung von C₂ durch Natronlauge.

2,5 g von C₂ wurden mit Hilfe von 250 ccm 0,2%iger Natronlauge (etwas mehr als 3 Mol. NaOH) bis auf Spuren in Lösung übergeführt, was durch längeres Schütteln erreicht wurde. Das Filtrat wurde mit Essigsäure gefällt, der Farbstoff filtriert und im Filtrat das Chlor bestimmt, es enthielt 0,115 g Cl (gef. 0,465 AgCl) was, da ca. 0,13 g vorhanden waren, 89% dieser Menge entspricht. Der Farbstoff enthielt kein Methyl mehr, verwendet wurden 0,3375 g Substanz zur Bestimmung nach Zeisel.

Einwirkung 0,7%iger Kaliumcarbonatlösung.

C₂. 2 g wurden mit 100 ccm 0,7%iger Pottaschelösung unter öfterem Schütteln einen Tag lang digeriert, der Rückstand wurde in gleicher Weise behandelt. Zunächst hatten sich nur 0,13, bei der zweiten Behandlung hatten sich 0,4 g gelöst. Die ersteren Anteile enthielten 1,24% CH₃, die letzteren 0,79% CH₃, 1,08% Chlor und 9,5% Eisen.

0,1187 g Subst.:	0,0232 g AgJ	= 1,24% CH ₃	(das Methyl wurde sehr schwer abgespalten).
0,1546 „ „	: 0,0182 „ „	= 0,79% „	
0,1532 „ „	: 0,0067 „ AgCl und 0,0208 g Fe ₂ O ₃	= 1,08% Chlor und 9,5% Eisen.	

Was nach der zweimaligen Behandlung mit Kaliumcarbonat zurückblieb, erwies sich als unverseift, enthielt aber nur noch Spuren von Chlor:

0,1463 g Subst.:	0,0523 g AgJ	(das Methyl wurde leicht abgespalten)
		= 2,28% CH ₃ .
0,1889 „ „	: 0,0005 „ AgCl.	

Diese Substanz war zum Teil in heißem Methyalkohol löslich, der Rückstand dieser Lösung enthielt Spuren eines in

Wasser löslichen Körpers — wohl ein Kaliumsalz — und gab, von diesem befreit, bei der Analyse Werte, die auf ein Monomethylhämatin weisen.

0,1664 g Subst.: 0,3928 g CO₂, 0,0858 g H₂O, 0,0215 g Fe₂O₃.

C₃₅H₃₅O₅N₄Fe. Berechnet: 64,91% C, 5,41% H, 8,65% Fe

Gefunden: 64,38% C, 5,69% H, 9,00% Fe.

Was im Methylalkohol allein nicht löslich war, ging auf Zusatz weniger Tropfen verdünnter Schwefelsäure in Lösung und wurde durch Salzsäure dann vollständig gefällt. Die so gewonnene Substanz enthielt 4,17% Chlor.

0,1262 g Substanz: 0,0213 g AgCl.

5 g von C₃ wurden in das Dehydrochloridhämin übergeführt, wobei ein Rückstand von Eiweiß nicht aufgefunden wurde; die Ausbeute betrug 4,5 g. Äther entzog dem Produkt nur Spuren von Substanz, in Aceton war es etwas löslich, krystallisiert wurde es nicht erhalten. Die Elementaranalyse gab Werte, aus denen hervorzugehen scheint, daß bei der Herstellung eine Einlagerung von Wasser erfolgt ist.

0,1608 g Subst.: 0,3845 g CO₂, 0,0780 g H₂O, 0,0200 g Asche

0,1755 „ „ : 0,0427 „ AgJ (das Methyl wird rasch abgespalten)

0,1832 „ „ : 0,0006 „ AgCl (Carius).

	C	H	Fe	CH ₃	Cl
C ₃₅ H ₃₃ O ₄ N ₄ Fe. Berechnet:	66,77%	5,25%	8,9%	2,39%	0,00%
C ₃₅ H ₃₅ O ₅ N ₄ Fe. „	64,91%	5,4%	8,65%	2,3%	0,00%
Gefunden:	65,21%	5,4%	8,71%	1,55%	Spuren

Zur Rückverwandlung in das Hämin wurde 1 g in 50 ccm Methylalkohol unter Zusatz von 10 Tropfen verdünnter Schwefelsäure gelöst, die siedende Lösung mit Salzsäure gefällt, der Niederschlag abgesaugt und chlorfrei gewaschen. Das nicht krystallisiert zu erhaltende Produkt wird durch heiße Soda-lösung sofort gelöst, erweist sich aber in Methylalkohol und verdünnter Schwefelsäure als nicht löslich, in Chloroform ist es viel leichter löslich als die Fraktion C₃.

0,1522 g Subst.: 0,0253 g AgCl = 4,11% Chlor

0,1343 „ „ : 0,0612 „ AgJ = 2,8% CH₃ (Methylabspaltung ziemlich schwierig).

Das bei der Verseifung von C₃ erhaltene Hämatin ergab dagegen bei gleicher Behandlung ein in Soda auch in der Hitze

nicht lösliches «Hämin», das sich aber in Methylalkohol auf Zusatz von verdünnter Schwelsäure auflöste. Das Auswaschen wurde hier nur solange fortgesetzt, bis das Filtrat annähernd Cl-frei war:

0,1698 g Subst.: 0,0293 g AgCl = 4,27% Chlor

0,1020 » » : 0,0725 » AgJ = 4,5% CH₃ (Methylabspaltung ziemlich schwierig).

Das Präparat 3 war aus 15 Litern Blut eines sehr kräftigen Tieres in der Ausbeute von 54 g gewonnen worden und stellte ein schwarzes Pulver vor, das aus deutlich ausgebildeten Krystallen bestand. Nach dem Ausfall der Analyse hätte man schließen können, daß in ihm ein reines Monomethylhämin vorlag.

0,1608 g Subst. (120°): 0,3719 g CO₂, 0,0773 g H₂O, 0,0207 g Fe₂O₃

0,1760 » » (120°): 0,4057 » » 0,0826 » » 0,0220 » »

0,2348 » » (120°): 16,3 ccm N (732 mm, 12°)

0,2212 » » (100°): 0,0445 g AgCl

0,2035 » » (100°): 0,0250 » Fe₂O₃ = 8,6% Fe.

	C	H	N	Fe	Cl	.CH ₃
C ₃₅ H ₃₄ O ₄ N ₄ FeCl. Berechnet:	63,11%	5,11%	8,41%	8,41%	5,33%	2,25% ¹⁾
Gefunden:	63,09%	5,35%	7,93%	9,01%	—	—
	62,92%	5,22%	—	8,75%	4,98%	—
	—	—	—	8,6%	—	2,0%

Eine Löslichkeitsbestimmung mit Hilfe von Aceton zeigte aber, daß ein Gemisch vorliegen müsse.

1 g wurde mit 15 ccm Aceton $\frac{1}{2}$ Stunde geschüttelt.

6,61 g der filtrierten Lösung enthielten 0,2302 g Substanz. Löslichkeit 1:27,7.

Der Rückstand wurde in der gleichen Weise behandelt.

1,785 g der filtrierten Lösung enthielten 0,0223 g Substanz. Löslichkeit 1:79.

Die leichter löslichen Anteile ergaben fast 3% Methyl, die schwerer löslichen nur 1,5%, auch erwiesen sich die ersteren als nicht mehr in Soda sofort löslich.

0,2519 g Substanz: 0,1160 g AgJ = 2,99% CH₃

0,1952 » » : 0,0449 » » = 1,49% »

Trennung durch Chloroform.

Ganz ähnliche Resultate wurden bei Verwendung von Chloroform als Lösungsmittel erhalten. Von 10 g des Präpa-

¹⁾ Vgl. Tab. I.

rats blieben bei zweimaliger Behandlung mit je 100 ccm Chloroform 8,2 g als schwer löslich zurück; nach der Konzentration der Lösung durch Abdestillieren des größten Teils des Lösungsmittels wurden 1,3 g durch Petroläther gefällt. Der Rest von 0,5 g blieb im Filter. Nach dem Ausfall der Elementaranalysen hätte man nun wieder meinen können, die Trennung in das Dimethyl- und das Monomethylhämin sei geglückt.

Präp. von 1,3 g. 0,1311 g Subst. (110°): 0,3051 g CO₂, 0,0647 g H₂O, 0,0152 g Fe₂O₃,
0,1842 g AgCl u. 0,0214 g Fe₂O₃ (Carius)

C₃₆H₃₆O₄N₄FeCl. Berechnet: 63,57% C 5,34% H 8,22% Fe 5,22% Cl
Gefunden: 63,47% C 5,5% H 8,1 u. 8,13% Fe 5,11% Cl

Präp. von 8,8 g. 0,1284 g Subst. (110°): 0,2963 g CO₂, 0,0601 g H₂O, 0,0153 g Fe₂O₃,
0,2050 g AgCl u. 0,0431 g Fe₂O₃ (Carius)

C₃₅H₃₄O₄N₄FeCl. Berechnet: 63,11% C 5,11% H 8,41% Fe 5,33% Cl
Gefunden: 62,94% C 5,2% H 8,31 u. 8,23% Fe 5,20% Cl

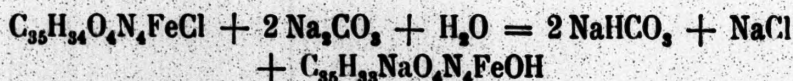
Doch löste sich das vermeintliche Dimethylprodukt nach längerer Einwirkung in heißer Sodalösung und die Methylzahl war nur 3,1, die des anderen 1,7.

0,1851 g Subst. (110°): 0,0893 g AgJ = 3,08% CH₃

0,1987 g Subst. (110°): 0,0527 g AgJ = 1,7% CH₃

Einwirkung von Soda.

So wurde versucht, ob sich vielleicht durch kalte Sodalösung in unzureichender Menge eine Trennung der Bestandteile würde verwirklichen lassen. Da nach der Gleichung



1 g des «Hämins» 3 ccm N · Na₂CO₃ zur völligen Lösung erfordert hätte, wurden 2,07 g des Präparates mit 3 ccm N · Na₂CO₃ und 200 ccm Wasser (ca. 0,075% ige Lösung) 2 Stunden geschüttelt. Nach zwölfstündigem Stehen wurde die Lösung durch ein dickes Filter (Nr. 381 von Dreverhoff) filtriert und das Filtrat 9 Tage lang der Dialyse unterworfen, d. h. bis ein Austritt von Alkali nicht mehr stattfand,¹⁾ worauf der Inhalt des Dialysators mit verdünnter Schwefelsäure gefällt wurde. Erhalten wurden nur 0,2 g Substanz und im Filtrat 0,0215 g

¹⁾ Vgl. Diese Zeitschrift, Bd. 66, 196/7 (1910). Das Cl' war natürlich auch entfernt worden.

$\text{Na}_2\text{SO}_4 = 0,00697 \text{ g Na}$, woraus folgt, daß ein Mononatriumsalz eines Methylhämatins vorgelegen hatte, da sich $0,2 : 0,00697$ verhält wie $647 : 22,5$ und die Bestimmung nach Zeisel folgendes ergab: $0,1927 \text{ g Subst. (100}^\circ) = 0,063 \text{ AgJ} = 2,08\% \text{ CH}_3$. Wir hatten also ein Monomethylhämatin in Händen gehabt. Doch hatte sich weit weniger Substanz gelöst, als erwartet worden war; beim Nachwaschen des auf dem Filter befindlichen Rückstandes mit Wasser ging derselbe alsdann fast völlig in das Filtrat. Hier lag eine colloide Lösung vor, da sich beim Stehen immer wieder Absätze fester Substanz bildeten.

Die Trennung der Bestandteile von Präparat 3 mit Hilfe von Benzol und Chloroform wurde in derselben Weise vorgenommen, wie es bei Präparat 1 und 2 beschrieben ist. Die Ausbeuten betragen bei Verwendung von 38 g:

A_1 Spuren, A_2 0,1 g, A_3 1,9 g (ca. 5%)
 B_1 0,5 g B_2 2,9 g (ca. 7,6%)
 C 32,5 g.

Die letzte Fraktion wurde durch Methylalkohol getrennt; nach mehrmaligem Auskochen blieben 28,7 ungelöst (C_3). Aus den Filtraten wurde der Methylalkohol unter vermindertem Druck abdestilliert und der Rückstand mit Methyläthylketon in der Wärme aufgenommen. Hierbei blieben ungelöst 2,2 g (C_{2b}), beim Erkalten fielen aus 1,7 g (C_{2a}); schließlich wurde aus der Lösung noch 1 g durch Wasser gefällt (C_1). Das Präparat enthielt also nur sehr wenig Dimethylhämin. Die Eigenschaften der Fraktion A_3 deckten sich mit denen der entsprechenden Fraktion vom Präparat 1 und 2. Aus der in der Hitze bereiteten Lösung in Äthylmethylketon krystallisierte die Substanz in kleinen Nadeln.

Die Analyse ergab: 63,00% C, 5,09% H, 5,4% Cl, 8,87% Fe, 3,2% CH_3 .
 0,1587 g Subst. (100°): 0,3666 g CO_2 und 0,0726 g H_2O
 0,1602 „ „ (100°): 0,0350 „ AgCl und 0,0203 g F_2O_3 (Carius)
 0,1797 „ „ (100°): 0,0897 „ AgJ (Zeisel).

Um die Einheitlichkeit zu prüfen, wurden die in Chloroform am leichtesten löslichen Teile mit den anscheinend schwerer löslichen in bezug auf die Methylzahl verglichen. Hierbei ergab sich, daß A_3 nicht einheitlich ist, jene Anteile enthielten:

3,8% CH_3 (0,1520 g Subst. (100°) = 0,0906 g AgJ), diese 2,45% CH_3
(0,1550 g Subst. [100°]; 0,0597 g AgJ).

Fraktion B_1 (0,5 g) erwies sich auch bei längerer Einwirkung von heißer Sodalösung als unlöslich, bestand also aus dem Dimethylprodukt. Fraktion B_2 (2,9) wurde durch Soda bei halbstündigem Verweilen im kochenden Wasserbade gelöst. Die Analyse gab wieder Werte, die mit denen bei A_3 erhaltenen ziemlich übereinstimmten, bei der Zeiselbestimmung fand eine Abspaltung von Alkyl bereits bei 115° statt.

0,1597 g Subst. (100°): 0,3696 g CO_2 , 0,0745 g H_2O und 0,0198 g Fe_2O_3
= 63,12% C, 5,19% K, 8,68% Fe
0,1572 g Subst. (100°): 0,0721 g AgJ = 2,92% CH_3 (Zeisel).

Das Präparat löste sich noch spurenweise in kaltem Benzol, nach viermaliger Ausschüttelung mit je 40 ccm des Lösungsmittels und Abdestillation des größten Teils desselben, wobei wieder Substanz unlöslich wurde, fällte Petroläther 0,1017 g aus, die 3,35% CH_3 enthielten (gefunden: 0,0533 g AgJ). Nach dem Ausfall des Trennungsversuchs, der bei A_3 beschrieben wurde, ist wohl kein Zweifel, daß auch in B_2 noch ein Gemisch vorliegt, doch läßt sich demselben mit Hilfe von Benzol das Dimethylhämin nur sehr schwer entziehen.

C_1 . (1 g) erwies sich als in kalter 5%iger Sodalösung leicht löslich und enthielt 1,46% CH_3 , das Alkyl wurde schwer abgegeben.

0,1628 g Subst.: 0,0371 g AgJ.

C_{2a} . (1,7 g) krystallisierte aus der Lösung in Methyläthylketon, war in Soda langsam, in 0,7%iger Kaliumcarbonatlösung sofort löslich und enthielt 1,35% CH_3 ; das Alkyl wurde schwer abgegeben.

0,1222 g Subst.: 0,0258 g AgJ

0,1496 g Subst.: 0,0330 g AgCl = 5,45% Cl.

Untersuchung der Fraktion C_3 . Verseifung und Einwirkung 0,7%iger Kaliumcarbonatlösung.

C_3 . (28,7 g) löste sich erst beim schwachen Erwärmen in Soda, sofort in 0,7%iger Kaliumcarbonatlösung und in 0,2%iger Natronlauge, enthielt 1,65% CH_3 (0,1670 Subst.: 0,0432 AgJ).

Durch das Carbonat fand hier so gut wie keine Verseifung statt, durch die Lauge dagegen vollständige.

0,116 g Subst. (aus Sodalösung durch Essigsäure gefällt):
0,0251 g AgJ = 1,4% CH_3 (das Methyl wird schwer abgespalten).

2,5 g wurden einen Tag lang unter öfterm Schütteln mit 250 ccm 0,2% iger Natronlauge digeriert, die Lösung von dem ganz unbedeutenden Rückstand filtriert, das Filtrat durch Essigsäure gefällt.

0,1560 g Subst. ergaben bei der Bestimmung nach Zeisel kein Alkyl.

Im Filtrat fanden sich 0,465 g AgCl = 0,115 g Cl oder etwa 90% des vorhandenen Chlors.

2 g wurden mit 100 ccm 0,7% iger Pottaschelösung geschüttelt, die Lösung filtriert und der Rückstand in gleicher Weise behandelt; was jetzt noch ungelöst geblieben war, löste sich bei nochmaligem Schütteln mit 100 ccm obiger Lösung vollständig auf. Die Ausbeuten betragen a) 0,5 g, b) 1 g, c) 0,4 g.

a) enthielt 1,22% CH_3 und 1,68% Chlor

0,2043 g Subst.: 0,039 g AgJ (Methylabspaltung sehr schwer)

0,1913 „ „ : 0,0130 g AgCl.

b) enthielt 1,15% CH_3 und 1,7% Chlor

0,1148 g Subst.: 0,021 g AgJ (Methylabspaltung schwierig)

0,1527 g „ : 0,0105 g AgCl (Carius).

c) enthielt 1,52% CH_3 und 1,20% Chlor, sowie 9,2% Eisen

0,1200 g Subst.: 0,0286 g AgJ (Methylabspaltung schwierig)

0,1688 „ „ : 0,0088 g AgCl und 0,0223 g Fe_2O_3 .

10 g der Fraktion C_3 wurden in das Dehydrochloridprodukt übergeführt, wobei nur Spuren von Eiweiß zurückblieben. Die Ausbeute betrug 9 g. Das Präparat löste sich in Äther nur spurenweise, auch in Aceton und Chloroform gab es nur sehr wenig Substanz ab, etwas besser löste es sich in Methyläthylketon, konnte aber aus dieser Lösung nicht kristallisiert erhalten werden. In dem Verhalten gegenüber Alkalien gleicht es dem Produkt C_3 durchaus.

Bei der Elementaranalyse wurden Resultate erhalten, die wieder auf eine Wassereinlagerung hinweisen,¹⁾ auch wurde noch ein Gehalt von 0,48% Chlor konstatiert.

¹⁾ Vgl. S. 136.

- 0,1774 g Subst. (100°): 0,4250 g CO₂, 0,0872 g H₂O, 0,0225 g Asche
 = 65,3% C, 5,46% H, 8,87% Fe
 0,1560 „ „ (100°): 0,3754 g CO₂, 0,0785 g H₂O = 65,63% C, 5,6% H.
 0,1661 „ „ (100°): 0,0032 „ AgCl = 0,476% Chlor.
 0,1010 „ „ (100°): 0,0238 „ AgJ = 1,5% CH₃ (das Methyl wird
 ziemlich rasch gespalten).

2 g des Dehydrochloridhämins wurden in 70 ccm Methylalkohol unter Zusatz von 10 Tropfen verdünnter Schwefelsäure gelöst, die filtrierte Lösung siedend durch 25% ige Salzsäure gefällt, der abgesaugte Niederschlag chlorfrei gewaschen und getrocknet. Ausbeute fast 2 g eines braunvioletten, undeutlich krystallinischen Pulvers mit den Eigenschaften des Monomethylhämins gegenüber Alkalien, aber in Chloroform und heißer Essigsäure viel leichter löslich als das ursprüngliche Monomethylhämin.

- 0,1485 g Subst.: 0,0267 g AgCl und 0,0185 g Fe₂O₃ = 4,44% Chlor und
 8,7% Eisen
 0,1750 „ „ : 0,0665 „ AgJ = 2,4% CH₃ (das Methyl wird rasch ab-
 gespalten).

Das Rohpräparat 4 war aus 15 Liter Blut in einer Ausbeute von 70,2 g erhalten worden, die Methylzahl war 2,8.

1. Bei der Überführung in das Dehydrochloridprodukt hinterließen 5 g 0,026 g Eiweiß, die Ausbeute betrug bei zwei Portionen à 5 g: 4,4 und 4,3 g. Der erhaltene Körper enthielt 2,95% CH₃ (0,2708 g Subst.: 0,1252 g AgJ). Bei der Extraktion mit Äther wurde nur ganz wenig Substanz herausgelöst, Aceton nahm ca. 1 g heraus.

2. Durch Chloroform wurde eine Trennung in 72% schwerer und 28% leichter lösliche Anteile bewirkt, beide Fraktionen waren aber nicht einheitlich.

3. Die Auftrennung des Gemisches mit Benzol, Chloroform und Methylalkohol ergab folgende Resultate. Fraktion A betrug ca. 19%, hiervon war der größte Teil in kaltem Benzol unlöslich, etwa 18% (A₃). Die Analyse ergab:

- 62,97% C, 5,1% H, 8,85 und 8,3% Fe, 5,16% Cl, 3,17% CH₃.
 0,1701 g Subst. (110°): 0,3924 g CO₂, 0,0781 g H₂O, 0,0215 g Fe₂O₃,
 0,1832 „ „ (100°): 0,0382 „ AgCl und 0,0217 g Fe₂O₃ (Carius)
 0,2082 „ „ (100°): 0,1035 „ AgJ (Zeisel).

A_2 war auch in heißer Soda nicht löslich, sondern erst in heißer Natronlauge, die Fraktion enthielt 4,1% CH_3 (0,1348 Subst. (100°): 0,0863 AgJ). Hier lag also ein Dimethylhämin vor, doch waren nur 0,4 g gewonnen worden.

Fraktion B betrug ca. 9% und enthielt 3,1% CH_3 (0,1753 Subst.: 0,0876 AgJ); auch hier löste sich wieder ein Teil in Benzol, der Rest bis auf kleine Mengen in Chloroform.

Fraktion C betrug ca. 72% und wurde wieder durch Methylalkohol getrennt, wobei $\frac{2}{3}$ als sehr schwer löslich zurückblieben (C_3), während sich das lösliche Drittel trennte in einen Hauptteil, der nach dem Abdestillieren des Methylalkohols sich nur sehr schwer wieder löste (C_2), und einen kleineren, der dann aus der alkoholischen Lösung durch verdünnte Salzsäure gefällt wurde (C_1). Diese Teile erwiesen sich alle als Monomethylhämin, einmal durch die Methylzahl und dann durch das Verhalten gegen Alkalien, sie waren alle in kalter Soda-lösung unlöslich, lösten sich aber beim Erhitzen, in $\frac{1}{10}$ -n-Lauge waren sie alle schon in der Kälte löslich.

C_1 enthielt: 63,25% C, 5,5% H, 8,2% Fe, 4,86% Cl, 1,9% CH_3 ,
0,1717 g Subst. (100°): 0,3982 g CO_2 , 0,085 g H_2O , 0,0201 g Fe_2O_3 ,
0,1542 > > (100°): 0,0303 > AgCl (Carius)
0,0635 > > (100°): 0,0195 > AgJ (Zeisel). Die Abspaltung trat sehr langsam ein.

C_2 enthielt 63,08% C, 5,22% H, 8,5% Fe (resp. 8,79%), 5,18% Cl, 1,8% CH_3 resp. 1,7.

0,1886 g Subst. (100°): 0,4362 g CO_2 , 0,0886 g H_2O , 0,0229 g Fe_2O_3 ,
0,2387 > > (100°): 0,0500 > AgCl, 0,0300 g Fe_2O_3 (Carius)
0,1810 > > (100°): 0,0516 > AgJ (Zeisel). (Die Abspaltung erfolgte schwer).
0,166 > > (100°): 0,0455 > > (> >).

Diese Fraktion krystallisierte aus Methyläthylketon in großen braunen Rhomboedern, die meistens einzeln auftreten, seltener zu Büscheln vereint waren.

C_3 enthielt: 62,78% C, 5,2% H, 8,56% Fe (resp. 8,47%), 5,31% Cl, 1,83% CH_3 resp. 1,7.

0,2088 g Subst. (100°): 0,4789 g CO_2 , 0,0975 g H_2O , 0,0255 g Fe_2O_3 ,
0,2073 > > (100°): 0,0445 > AgCl, 0,0251 g Fe_2O_3 (Carius)
0,2115 > > (100°): 0,0609 > AgJ (Carius)
0,1750 > > (100°): 0,0495 > > (> >) (die Abspaltung erfolgt schwer).

Einwirkung von Alkalien und Dialyse.

Die Fraktionen C₂ und C₃ wurden nun daraufhin geprüft, ob sie durch Soda gleichmäßig angegriffen werden oder nicht. Zu dem Zweck wurde je 1 g mit einem Molekül Soda $\frac{1}{2}$ Stunde im Wasserbade erhitzt. Von C₂ blieben hierbei ungelöst 0,45 g, von C₃ 0,65, die Lösung wurde durch Essigsäure gefällt. Die Menge des wiedergewonnenen Farbstoffs betrug bei C₂ 0,47, bei C₃ 0,3 g. Dieser Teil enthielt bei C₂: 1,46% CH₃ (0,1383 Subst.: 0,0315 AgJ), bei C₃: 1,8% CH₃ (0,1446 Subst.: 0,041 AgJ).

Die Präparate verhielten sich also gegen Soda nicht prinzipiell verschieden und das Löslichwerden in Soda ist bei beiden nicht in einer Verseifung zu erblicken. Die anfangs nicht gelösten 0,45 g von C₂ lösten sich dann beim mäßigen Erwärmen mit n-Sodalösung sehr rasch, der durch Essigsäure gefällte Farbstoff enthielt 2,1% CH₃ (0,2205 g Subst.: 0,073 AgJ). Hier fand sich auch noch Chlor im Filtrat, die Abspaltung des Chlors geht also mit der Lösung im Alkali Hand in Hand.

— 1,002 g von C₂ wurden mit 26 ccm $\frac{1}{10}$ -n-NaOH und 174 ccm Wasser im ganzen 3 Stunden geschüttelt. Nach dem Absetzen des Niederschlags, was übrigens längere Zeit in Anspruch nahm, wurde durch ein dickes Filter filtriert. Der Rückstand betrug 0,118 g, er ging auf Zusatz von 10 ccm $\frac{1}{10}$ -n-NaOH und 50 ccm Wasser allmählich vollständig in Lösung, worauf der Farbstoff durch Essigsäure gefällt wurde, im Filtrat fanden sich 0,0022 g Cl (0,0090 AgCl). Durch 26 ccm $\frac{1}{10}$ -n-NaOH waren also 0,884 g Substanz gelöst worden, was dafür spricht, daß das verwendete Monomethylhämin sich wie eine einbasische Säure verhält, da nach der Gleichung:



26,52 ccm $\frac{1}{10}$ -n-NaOH erforderlich gewesen wären. Die Gleichung entspricht allerdings nicht ganz den wirklichen Verhältnissen, da es auch hier wieder nicht möglich gewesen war, das gesamte Chlor abzuspalten. Die Lösung des Hämins gab nämlich nach 7tägiger Dialyse gegen das wieder er-

neuerte Außenwasser nur noch Spuren von Cl ab. Gefunden wurden nach 3 Tagen 0,0223 Cl, dann 0,013 und 0,0069 g Cl nach je zwei weiteren Tagen. Rechnet man noch die oben erwähnte Chlormenge hinzu, so ergibt sich als abgespalten 0,0444 g Cl', während 1,002 g Hämin 0,052 g enthalten hatten. Während der Dialyse war auch etwas Alkali in das Außenwasser getreten und zwar wurden im ganzen 5,5 ccm $\frac{1}{10}$ -n-HNO₃ verbraucht. Das ist aber etwas mehr, als dem nicht abgespaltenen Chlor entspricht, für das sich nur 2,15 ccm berechnen würden. Nun hatte sich ja beim Hämatin ergeben, daß beim Dialysieren der mit 2 Molekülen Alkali hergestellten Lösung etwa ein Molekül Alkali wieder abgespalten wird. Ich hatte daher erwartet, daß das Monomethylhämatin das aufgenommene Natriumatom bei der Dialyse wieder abgeben würde, da ja anzunehmen war, daß bei der Veresterung das stärkere Carboxyl zuerst Methyl aufnehmen würde. Es mußte also Verseifung eingetreten sein und zwar nur eine teilweise, da ja etwas Alkali abgespalten war. Dies bestätigte auch die Analyse des durch Essigsäure gefällten «Hämatins», dasselbe enthielt nur noch 1,28 resp. 1,15% CH₃.

0,2026 g Subst. (100°): 0,0409 g AgJ. 0,1800 g Subst. (100°): 0,0324 g AgJ.

Bei einem zweiten Versuch wurde in bezug auf die Abspaltung des Chlors die gleiche Erfahrung wie beim ersten gemacht: sie blieb unvollständig. Während der Dialyse wurde hier Kohlendioxyd in die Innenflüssigkeit eingeleitet, wodurch die Abspaltung von Alkali etwas vermehrt wurde, zugleich bildete sich eine gallertartige Ausscheidung. Die Kohlensäure ist also imstande, wenn sie im Überschuß einwirkt, das Monomethylhämatin aus dem Natriumsalz zu verdrängen.

Untersuchung der Fraktion C₃.

In dem Präparat C₃ mußten sich die eiweißartigen Beimengungen angereichert vorfinden. In der Tat hinterließen 5 g beim Lösen in Anilin 0,1 g Eiweiß, also 2%; erhalten wurden 4,7 g Dehydrochloridmonomethylhämin, das sich gegen Alkalien wie das Präparat C₃ verhielt.

0,1754 g Subst. (100°): 0,4270 g CO₂, 0,0812 g H₂O, 0,0210 g Fe₂O₃
 0,2038 „ „ (100°): 0,0021 „ AgCl (Carius)
 0,1817 „ „ (100°): 0,0561 g AgJ (Zeisel).

	C	H	Fe	CH ₃	Cl
Berechnet für C ₃₅ H ₃₃ O ₄ N ₄ Fe:	66,77%	5,25%	8,9%	2,39%	0,0%
Gefunden:	66,38	5,15	8,4	1,97	0,25 ¹⁾

Das Präparat wurde auf folgendem Wege wieder in ein «Hämin» verwandelt, was indessen nicht vollkommen gelang.

2 g wurden in 75 ccm Methylalkohol + 10 Tropfen verdünnter Schwefelsäure gelöst und die filtrierte, erhitzte Lösung durch 25%ige Salzsäure gefällt. Das ausgewaschene und getrocknete Produkt wog 1,92 g, sah braunviolett aus und löste sich erst in heißer Soda:

0,1379 g Subst. (100°): 0,0245 g AgCl = 4,4% Cl Carius)
 0,0831 „ „ (100°): 0,0311 „ AgJ = 2,3% CH₃ (Zeisel).

Eine weitere Methylierung hatte also nicht stattgefunden.

Einwirkung von Alkalien.

Während die Fraktion C₃ von 1/10-n-Natronlauge verhältnismäßig rasch gelöst wird, greifen Carbonate langsamer an; 5%ige kalte Sodalösung bleibt fast ohne Einwirkung, durch 0,7%ige Kaliumcarbonatlösung findet eine sehr allmähliche Lösung statt, von 2 g lösten sich beim Schütteln mit 100 ccm in 2 Stunden 0,4 g, dann bei der Wiederholung des Verfahrens 0,5 g, hierbei wurde der größte Teil des Chlors herausgenommen, während auch die gelösten Teile nur ganz geringe Verseifung erlitten hatten. Es befanden sich in der Lösung: 0,0705 g Cl (0,285 g AgCl) resp. 0,0273 g Cl (0,1105 AgCl), also waren von 0,106 g Cl—0,0978 g abgespalten worden, entsprechend enthielten die 0,4 resp. 0,5 g nur noch Spuren von Chlor und auch die ungelöst gebliebenen Teile ergaben nur einen Gehalt von 0,35% Chlor (0,1542 Subst.: 0,0022 g AgCl).

Präp. von 0,4 g. 0,1236 g Subst.: 0,0308 g AgJ = 1,6% CH₃ (schwer abspaltbar)

0,1200 „ „ : Spuren von AgCl.

¹⁾ Im Gegensatz zur Fraktion C₃ von 1—2, sowie von 3 gab also hier das Dehydrochloridhämin Werte, die mit den aus der Formel berechneten übereinstimmen.

Präp. von 0,5 g. 0,1518 g Subst.: 0,0315 g AgJ = 1,32% CH₃ (schwer
abspaltbar).

0,1572 > > : 0,0006 > AgCl.

Nicht gelöste Teile: 0,1495 > > : 0,0469 g AgJ = 2,00% CH₃ (etwas
leichter abspaltbar).

Beim Behandeln des Dehydrochloridmonomethylhämins mit einem Überschuß von $\frac{1}{10}$ -n-NaOH — es wurden auf 1,05 g Substanz 32 ccm d. h. 2 Moleküle¹⁾ verwendet — war nach einstündigem Schütteln bereits fast vollständige Lösung eingetreten, der Rückstand betrug 0,06 g. Die Lösung wurde im ganzen 11 Tage lang der Dialyse unterworfen, wobei nur 8 ccm Alkali austraten. Das durch Essigsäure gefällte Hämatin enthielt nur noch 1,18% CH₃ (0,144 Subst.: 0,0267 AgJ), es war also bereits bei Zimmertemperatur eine teilweise Verseifung eingetreten.²⁾

Langsamer geht die Einwirkung von Soda vor sich; 0,9152 g Substanz wurden mit 30 ccm $\frac{1}{10}$ -n-Na₂CO₃ und 150 ccm Wasser nur kurze Zeit im Wasserbade erwärmt, da augenscheinlich Lösung eintrat, worauf noch eine Stunde geschüttelt wurde. Die angegebene Menge des Alkalis entspricht nur einem kleinen Überschuß, da sich nach der Gleichung $C_{35}H_{33}O_4N_4Fe + Na_2CO_3 = C_{35}H_{32}NaO_4N_4Fe + NaHCO_3$ für die verwendete Menge der Substanz 29,1 ccm berechnen. Es waren dann auch fast 0,4 g ungelöst geblieben. Das aus der Lösung durch Essigsäure gefällte Hämatin löste sich nur spurensweise in kalter Soda und enthielt noch 1,6% CH₃ (0,155 g Subst. [100°]: 0,0375 AgJ).

¹⁾ Die Menge des Alkalis ist also von erheblicher Bedeutung für die Verseifung, da 0,2%ige NaOH in einer Menge von mehr als 3 Molekeln verwendet bei Präp. 1–2 C₃, sowie Präp. 3 C₃ totale Verseifung bewirkt hatte.

²⁾ Dieses, übrigens in Sodalösung erst beim Erwärmen lösliche Hämatin wurde in «Hämin» zurückzuverwandeln gesucht und zwar durch Auflösen in etwas Schwefelsäure haltendem Methylalkohol und Fällen der siedenden Lösung mit Salzsäure. Erhalten wurde ein auch in heißer Soda nichtlösliches braunviolett Pulver mit 4,5% CH₃, das

(0,1242 g Subst.: 0,0871 g AgJ)

sich in schwefelsäurehaltigem Methylalkohol zum größten Teil auflöste.

Die anfangs nicht gelösten 0,4 g wurden darauf mit 15 ccm $\frac{1}{10}$ -n- Na_2CO_3 durch Erwärmen im Wasserbade in Lösung übergeführt, wobei schließlich ein paar Tropfen Natronlauge zugesetzt wurden, um eine klare Lösung zu erhalten, dann wurde mit Essigsäure gefällt. Das ausgewaschene und getrocknete Hämatin löste sich ohne Rückstand in wenig Methylalkohol auf Zusatz einiger Tropfen verdünnter Schwefelsäure auf. Die filtrierte und erhitzte Lösung wurde durch 25%ige Salzsäure gefällt, wodurch ein «Hämin» erhalten wurde, das sich in Äther und heißer Soda als unlöslich erwies, erst durch heiße Natronlauge ging es in Lösung. Das Gewicht betrug nach dem Auswaschen und Trocknen 0,3 g. Die Analyse bestätigte den qualitativen Befund: es hatte sich ein Dimethylderivat gebildet.

0,1095 g Subst. (110°): 0,0190 g AgCl und 0,0133 g Fe_2O_3
 = 4,29% Cl und 8,5% Fe (Carius)

0,1320 » » (110°): 0,0927 g AgJ = 4,5% CH_3 .

Es erscheint demnach bemerkenswert, daß sich aus einem Hämatin ein Dimethylester bildet unter Bedingungen, bei denen ein Dehydrochloridmonomethylhämin keine weitere Veresterung erlitten hatte.

Das Rohprodukt V war aus 15 Liter Blut in einer Ausbeute von 52 g gewonnen worden. Daß bei seiner Herstellung nach dem Eintragen der Salzsäure noch eine Viertelstunde erhitzt worden war, machte sich insofern geltend, als das Präparat 3,19% CH_3 enthielt.

Bei der Herstellung des Dehydrochloridprodukts wurde konstatiert, daß eine merkbare Verunreinigung durch Eiweiß nicht vorlag.

2 g des erhaltenen Körpers wurden darauf durch Behandeln mit Methylalkohol unter Zusatz weniger Tropfen verdünnter Schwefelsäure in Lösung gebracht und die filtrierte und erhitzte Lösung durch 25%ige Salzsäure gefällt. Erhalten wurden fast 2 g eines «Hämins», das 4,9% Cl und 3,29% CH_3 enthielt. Es war also auch hier eine weitere Methylierung nicht eingetreten.

0,2637 g Subst.: 0,1101 g AgJ (Zeisel)
 0,1493 » » : 0,0294 » AgCl (Carius).

B. Umscheidung oder weitere Methylierung eines Rohprodukts.

Zur Entscheidung der Frage, ob bei der sogenannten Umscheidung des Rohprodukts unter allen Umständen ein dimethyliertes Hämin entsteht, wurden 58 g — die Ausbeute aus 15 Litern Blut — in Portionen von ca. 10 g mit Hilfe von je 16 ccm Pyridin und je 150 ccm Chloroform¹⁾ in Lösung gebracht, die filtrierte Lösung in 600 ccm siedenden Methylalkohol eingetragen, dem 50 ccm rauchende Salzsäure zugesetzt worden waren. Nach eintägigem Stehen wurde der Krystallbrei abgesaugt,²⁾ mit Methylalkohol ausgewaschen, dann mit Salzsäure pyridinfrei und mit Wasser chlorfrei gewaschen.

Die Ausbeute betrug ca. je 7,5 g im Vakuum getrocknetes Präparat.

Analyse.

0,1682 g Subst. (100°): 0,3980 g CO₂, 0,0818 g H₂O = 63,04% C u. 5,4% H
 0,2958 „ „ (i.Vak.): 0,1698 „ AgJ = 3,65% CH₃
 0,3126 „ „ (140°): 0,3126 „ „ = 3,3% „

Der Ausfall der Methoxybestimmung sprach also nicht für das Vorliegen eines reinen Dimethylderivates; auch zeigte sich bei einer Löslichkeitsbestimmung mit Hilfe von Aceton, wobei ein Überschuß des Hämins bei 30° eine Stunde mit 10 g des Lösungsmittels geschüttelt und der hier verbleibende Rest wiederum mit 10 g Aceton behandelt wurde, daß zunächst leichter lösliche Anteile entfernt wurden.

7,967 g der ersten Lösung hinterließen 0,2632 g; Löslichkeit 1 : 29,2
 7,142 „ „ zweiten „ „ 0,1195 „ ; „ 1 : 58,8

Es wurde nunmehr versucht, durch eine zweite Umscheidung völlige Methylierung zu erreichen, wobei ein Teil des in Pyridin und Chloroform gelösten Präparats in Methylalkohol eingetragen wurde, der mit der Salzsäure versetzt und dann zum Sieden erhitzt worden war (Präp. A), während bei dem andern Teil der Zusatz der Salzsäure zu dem schon siedenden Methylalkohol erfolgte (Präp. B). Hier zeigten sich nun schon im Aussehen sowie im Verhalten gegenüber Alkalien Unterschiede, indem A, ein braunviolettes Pulver, sich in heißer

¹⁾ Wovon 50 ccm zum Nachspülen dienten.

²⁾ Die Mutterlaugen wurden hier nicht untersucht.

Soda zu lösen begann, B, ein schwarzes Pulver, dagegen unlöslich war, trotzdem war die Methylzahl bei beiden sehr hoch:

A enthielt 4,64% CH_3 (0,223 g Subst.: 0,1624 g AgJ)

B „ 5,39% „ (0,1387 „ „ : 0,1641 „ „).

Es mußte also ein Gemisch vorliegen; in der Tat löste sich A in Benzol sogar in der Wärme nur zum Teil auf. Der auch in kaltem Benzol lösliche Teil erwies sich als unlöslich in heißer Soda und enthielt 4% CH_3 (0,0855 Substanz: 0,0521 AgJ), der in Benzol unlösliche Teil war in heißer Soda rasch löslich und enthielt 3,2% CH_3 (0,1375 Substanz: 0,0688 AgJ). Beim Fällen der in Benzol gelösten Teile durch Petroläther blieb Substanz in Lösung; sie wurde hier nicht untersucht, dürfte aber den höheren Gehalt an Methyl bedingt haben. B enthielt nämlich in Benzol sehr leicht lösliche Teile, die bei der Analyse folgende Werte gaben:

0,1382 g Subst. (100°): 0,3091 g CO_2 , 0,0612 g H_2O , 0,0170 g Fe_2O_3
 = 61,00% C, 4,88% H, 8,61% Fe

0,1624 „ „ (100°): 0,0387 g AgCl = 5,89% Cl

0,1323 „ „ (100°): 0,106 „ AgJ = 5,1% CH_3 .

Es zeigt sich also, daß einmal die Methylierung nicht ausreichend ist und dann, daß sie zu weit gehen kann. Dies geht noch klarer aus der Untersuchung der Teile hervor, die sich aus den Mutterlaugen bei der zweiten Umscheidung abgesetzt hatten, nachdem das Chloroform und ein großer Teil des Methylalkohols verdampft war. Sie wurden pyridin- und chlorfrei gewaschen, erwiesen sich als sehr leicht löslich in Methylalkohol, Chloroform, Aceton, waren nahezu unlöslich in heißer Soda und zeigten einen unscharfen Schmelzpunkt von 154—160°. Die schwarze, nicht krystallisierende Masse gab bei der Analyse folgende Werte:

0,3265 g Subst.: 0,7002 g CO_2 , 0,1576 g H_2O = 58,9% C und 5,36% H¹⁾

0,1475 „ „ : 0,1259 „ AgJ (Zeisel) = 5,45% CH_3

0,2650 „ „ : 0,1057 „ AgCl (Carius) = 9,8% Cl

¹⁾ Leider ging hier ein Teil der Asche verloren, so daß das Eisen nicht der Menge nach bestimmt werden konnte. Da aber das analoge Präparat, welches bei der Umscheidung vom Rohprodukt 1—2 gewonnen wurde, noch 7,65% Fe enthielt, liegt kein Grund vor, die Möglichkeit in Betracht zu ziehen, daß ein dem Hämatoporphyrin ähnlicher Körper sich gebildet habe, von dem ja bekannt ist, daß es vier Methylene und zwei Molekeln Chlorwasserstoff aufzunehmen vermag.

welche denen nahekommen, die sich für ein Chlormethyl-Additionsprodukt an Dimethylhämin berechnen, während sie mit den aus der Formel $C_{36}H_{38}O_5N_4FeCl_2$ berechneten übereinstimmen.

$C_{37}H_{39}O_4N_4FeCl_2$: 60,9% C 5,2% H 7,68% N und Fe 9,73% Cl 6,18% CH_3
 $C_{36}H_{38}O_5N_4FeCl_2$: 58,93% > 5,2% > 7,64% > > > 9,69% > 6,15% >

Einem ähnlichen Körper waren wir bereits bei der Umscheidung des Rohprodukts 1—2 begegnet, auch gab die Analyse fast übereinstimmende Werte. Leider kann einstweilen über die Natur der Substanz aus Materialmangel nur noch gesagt werden, daß bei der durch Kochen mit 1%iger Natronlauge stattfindenden Auflösung das Chlor völlig abgespalten wird, während nur teilweise Verseifung eintritt. Die wieder gefällte Substanz enthielt noch 1,64% CH_3 (0,1438 Substanz : 0,038 AgJ); ob sie einen Verlust an Stickstoff erlitten hatte, muß dahingestellt bleiben.

Das von mir vor zwei Jahren beschriebene Dimethylhämin verlor bei der Lösung in heißer 1%iger Natronlauge beide Methyle.

C. Die Methylierung von Acethämin.

Bei der Methylierung von Acethämin wurden dieselben Erfahrungen gemacht wie bei der Umscheidung von nach Mörners Methode mit Hilfe von Methylalkohol gewonnenem Hämin. Teils wurden Präparate erhalten mit der berechneten Methylzahl und allen Eigenschaften eines Dimethylhämins, in deren Mutterlaugen sich dann der Körper in sehr geringer Menge befand, der einen höheren Gehalt an Methyl und Chlor aufweist, dann wurde aber auch einmal ein Präparat mit nur 3,06% CH_3 gewonnen. Dieses ließ sich wieder durch Benzol scheiden; die hierin löslichen Teile stellten nach ihren Eigenschaften — Unlöslichkeit auch in heißer Sodalösung, sowie in 1%iger kalter Natronlauge — und der Analyse reines Dimethylhämin vor.

0,1630 g Subst. (100°): 0,3784 g CO_2 , 0,0778 g H_2O , 0,0199 g Fe_2O_3
 = 63,31% C, 5,3% H, 8,55% Fe

0,1743 > > (110°): 0,0412 g AgCl = 5,8% Chlor

0,2055 > > (100°): 0,0130 > AgJ = 4,03% CH_3 .

Durch Einwirkung 1%iger Natronlauge bei 80—90° wird das mit Hilfe von Methylalkohol und Salzsäure direkt erhaltene Dimethylhämin allmählich in Lösung übergeführt, wobei Verseifung und Abspaltung von Chlor eintritt. Beide Reaktionen gehen miteinander Hand in Hand.

Bei dreimaliger Behandlung von 1 g Dimethylhämin mit je 100 ccm 1%iger Natronlauge hatten sich z. B. gelöst: 37%, 17% und 12% der vorhandenen Substanz, in der Lösung fanden sich: 40%, 13% und 11% des vorhandenen Chlors.

Gefunden: 0,0847, 0,0268 und 0,0224 g AgCl
= 0,0209, 0,0063 > 0,0055 > Chlor.

Die in Lösung gegangene Substanz enthielt hier nur noch Spuren von Chlor: 0,1560 Substanz : 0,0010 AgCl (Carius) = 0,16% Chlor.

Daß sich das Dimethylhämin gegenüber Natronlauge in Beziehung auf die Abspaltung des Chlors wesentlich resistenter erweist, sobald es aus seiner benzolischen Lösung durch Abdestillation des Lösungsmittels in eine zweite Modifikation übergegangen ist, die in Benzol kaum noch löslich ist, hatte ich bereits früher beschrieben.¹⁾

Einwirkung von Anilin auf Dimethylhämin.

Die Einwirkung von Anilin ist bisher nur in einem Versuch an einem reinen Dimethylhämin mit 4,21% CH₃ (0,2620 g Substanz bei 140° getr. = 0,1575 AgJ) geprüft worden.

Es wurden 1,45 g in das Dehydrochloridprodukt übergeführt und dieses 5 Tage lang mit Äther extrahiert. Hiernach waren 0,55 g ungelöst geblieben, die beim Erhitzen mit Soda langsam in Lösung gingen, die Methylbestimmung ergab 3,31% CH₃ (0,1484 Substanz (120°) : 0,0770 g AgJ).

Die Substanz löste sich nicht in Methylalkohol, wohl aber auf Zusatz weniger Tropfen verdünnter Schwefelsäure, zeigte also das typische Verhalten eines Dehydrochloridhämins.

Was sich in Äther gelöst hatte, fand sich im Extraktionskölbchen zum Teil im Äther suspendiert vor, zum Teil hatte es

¹⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. 45, S. 1941 (1912).

sich als fester mechanisch nicht zu entfernender Belag an die Wandung angesetzt.

Die durch Filtrieren der ätherischen Suspension und Nachwaschen mit Äther isolierten Anteile wogen 0,4 g, sie krystallisierten in feinen Nadeln, enthielten 4,1% CH_3 (0,2368 Substanz : 0,1520 AgJ) und verhielten sich gegen Methylalkohol und verdünnte Schwefelsäure wie die in Äther unlöslichen Teile.

Der Bodenbelag löste sich in heißem Methylalkohol vollständig auf, die filtrierte Lösung wurde mit Salzsäure in der Hitze versetzt, wobei ein Niederschlag erhalten wurde, der sich nach dem Trocknen zum Teil in Aceton löste und aus dieser Lösung in den Formen des Dimethylhämins krystallisierte.

Was sich in Aceton nicht gelöst hatte, erwies sich ebenfalls als krystallisiert und zeigte gegen Methylalkohol und verdünnte Schwefelsäure das Verhalten eines Dehydrochloridprodukts.

D. Die Einwirkung methylalkoholischer Natronlauge auf die Hämine.

Acethämin löst sich in Methylalkohol nur äußerst schwer auf, fügt man aber methylalkoholische Lauge hinzu, so tritt sofort völlige Lösung ein. Das gleiche Verhalten zeigt nicht nur das Monomethylhämin, sondern auch das Dimethylhämin. Es handelt sich also nicht um die Bildung eines alkohollöslichen Kaliumsalzes, an die zuerst gedacht wurde, umsomehr als eine Abscheidung von Chlorkalium nicht zu bemerken war, sondern um eine Hämatinbildung, da auch eine Verseifung nicht eintritt. Das Chlorkalium bleibt also colloid gelöst und geht beim sofortigen Filtrieren durch das Filter.¹⁾

Nach diesen Vorversuchen wurden je 1 g Dimethylhämin, Monomethylhämin (und zwar Fraktion C₃ vom Rohprodukt 4) und Acethämin in je 4 ccm 5%iger methylalkoholischer Natronlauge — das sind etwas mehr als drei Molekeln auf eine Molekel Hämin berechnet — und 250 ccm Methylalkohol durch Schütteln gelöst, welche Operation etwa 5 Minuten in Anspruch nahm,²⁾ die Lösung darauf filtriert, was wiederum etwa 5 Minuten dauerte.

¹⁾ Allmählich stellt sich doch ein Niederschlag von Chlorkalium ein.

²⁾ Geringere Mengen von Methylalkohol lösen nicht oder zu langsam und bei längerer Einwirkung der Lauge tritt Verseifung ein.

E. Die Anlagerung von Salzsäure an Dehydrochloridhämin, Hämatin und Dehydrohämatin.

Die bereits auf den Seiten 136, 142, 146, 147 und 148 beschriebene Methode zur Rückverwandlung des Monomethyldehydrochloridhämins sowie daraus hergestellter Hämatine in ein «Hämin» würde auch noch auf die in der Überschrift angeführten Körper ausgedehnt.

Als Ausgangspunkt diente ein reines «Acethämin». Das hieraus hergestellte Dehydrochloridhämin gab bei der Analyse annähernd richtige Werte.

0,1690 g Subst. (120°): 0,4057 g CO₂, 0,0795 g H₂O, 0,0218 g Asche
 0,1467 » » (100°): 0,3541 » » 0,0723 » » 0,0184 » »
 0,1834 » » (100°): 0,0040 » AgCl (Carius).

C ₃₄ H ₃₁ O ₄ N ₄ Fe.	Berechnet:	66,34%	C	5,04%	H	9,11%	Fe	0,0%	Cl
	Gefunden:	65,47		5,23		9,03		—	
		65,83		5,48		8,8		0,5	

und lieferte bei 2 Versuchen ein «Hämin» mit berechnetem Chlorgehalt, das dimethyliert worden war:

- 0,1206 g Subst.: 0,0829 g AgJ = 4,3% CH₃
 0,136 » » : 0,0293 » AgCl = 5,3% Cl
- 0,1282 » » : 0,0825 » AgJ = 4,1% CH₃ (das Methyl wird rasch abgespalten).
 0,1517 » » : 0,0315 » AgCl = 5,14% Cl.

Diese Häminpräparate lösten sich in heißer Soda nicht, sondern erst in warmer Natronlauge, zeigten auch gegen organische Lösungsmittel das Verhalten des Dimethylhämins, namentlich war es möglich, sie aus Eisessig oder einem Gemisch von Essigsäure und Chloroform umzukristallisieren. Die nach dem Verdampfen der Lösungsmittel erhaltenen Krystalle lösten sich in Methylalkohol nur spurenweise, auch auf Zusatz weniger Tropfen verdünnter Schwefelsäure trat eine Lösung nicht ein, während das nicht umkristallisierte amorphe Präparat in Methylalkohol etwas löslich war. Die Umwandlung von Dehydrochloridhämin in Dimethylhämin gelingt also ebenso wie die Überführung in das Hämin selbst. Aus dem gleichen Acethämin wurde nach Vorschrift das Hämatin

bereitet; die Zusammensetzung entsprach annähernd der Formel, der Chlorgehalt betrug allerdings fast 1%.

$C_{34}H_{33}O_5N_4Fe$. Berechnet: 64,46% C 5,21% H 8,85% Fe 0,0% Cl
 Gefunden: 64,04% > 5,0% > 8,91% > 0,997% >
 0,1555 g Subst. (100°): 0,3638 g CO_2 , 0,0696 g H_2O , 0,0198 g Fe_2O_3
 0,1810 > > (100°): 0,0073 > AgCl.

1 g dieses Hämatins gab in fast quantitativer Ausbeute ein braunviolettes Pulver mit den Eigenschaften eines Dimethylhämins gegenüber Alkalien, beim Auswaschen mit kaltem Wasser verlor es aber immer wieder Chlor, so daß diese Operation unterbrochen wurde.

Die Analyse ergab alsdann: 4,05% CH_3 und 4,76% Chlor.
 0,1203 g Subst. (110°): 0,0765 g AgJ (das Methyl wird rasch abgespalten)
 0,1664 > > (110°): 0,0313 > AgCl (Carius).

Das Präparat löst sich in Chloroform sehr leicht, auch in einer Mischung von 80% iger Essigsäure und Chloroform, wurde aber nach Verdampfen dieser Lösungsmittel nicht kristallisiert erhalten. Auch war dieser Rückstand in schwefelsäurehaltigem Methylalkohol zum größten Teil löslich, das hierin Ungelöste war aus Essigsäure-Chloroform nicht kristallisiert zu gewinnen.

Das Seite 155 beschriebene Dehydrochloridhämin wurde nun durch Auflösen in Natronlauge und Fällung mit Essigsäure in das entsprechende Hämatin übergeführt. Nach der Analyse zu urteilen, ist hierbei eine Aufnahme von Wasser erfolgt, das erhaltene Präparat hatte die Zusammensetzung eines Hämatins.¹⁾

0,1569 g Subst. (110°): 0,3685 g CO_2 , 0,0713 g H_2O , 0,0197 g Asche
 0,1587 > > (110°): 0,0055 > AgCl (Carius).

$C_{34}H_{33}O_5N_4Fe$. Berechnet: 64,46% C 5,21% H 8,85% Fe 0,0 % Cl
 Gefunden: 64,06% > 5,05% > 8,8% > 0,85% >

¹⁾ Auch ein bereits 1903 beschriebenes (Diese Zeitschrift, Bd. 40, S. 409) Präparat von Dehydrochloridhämin (Nr. A₂) gab nach dem Lösen in 1% iger Natronlauge durch Fällen mit Essigsäure ein «Dehydrohämatin», das die Zusammensetzung eines Hämatins aufwies.

0,1700 g Subst. (100°): 0,4013 g CO_2 , 0,0852 g H_2O , 0,0202 g Asche
 = 64,38% C, 5,57% H, 8,3% Fe.

Bei der Rückverwandlung in ein «Hämin» wurde ein Präparat mit nur 3,5% CH_3 und 3,2% Chlor erhalten.¹⁾

0,1796 g Subst.: 0,0980 g AgJ
0,0993 „ „ : 0,0172 „ AgCl.

Dieses Rohprodukt löste sich in Chloroform, sowie in einem Gemisch von Chloroform und Eisessig völlig auf, nach dem Verdampfen letzterer Lösungsmittel verblieb ein Rückstand, der von mit verdünnter Schwefelsäure versetztem Methylalkohol zum großen Teil gelöst wurde. Der nicht gelöste Teil krystallisierte aus dem Gemisch von Eisessig-Chloroform beim Verdunsten der Lösungsmittel in Formen heraus, die Häminkrystallen glichen.

Die Ergebnisse der Versuche, eine Wiederherstellung von «Hämin» zu erreichen, seien zum Schluß noch tabellarisch zusammengestellt:

Monomethyldehydrochloridhämin liefert ein «Hämin»		mit	
und zwar		% CH_3	% Chlor
Fraktion C ₃ vom Rohprodukt 1 u. 2 mit 2,1% CH_3	} nicht deut- lich kry- stalli- siert	2,8	4,11
„ „ „ „ 3 „ 1,65% „		2,4	4,4
„ „ „ „ 4 „ 1,8% „		2,3	4,4
Hämatin mit 0% CH_3 liefert ein Hämin . . .		4,05	4,76
„ 1,18% „ „ „ „ . . .		4,5	—
„ ? „ „ „ „ . . .		4,5	4,3
„ ? „ „ „ „ . . .	4,5	4,27	
Dehydrohämatin „ „ „ „ . . .	z.T. kryst.	3,5	3,2
Dehydrochloridhämin „ „ „ „ . . .	} schöne Kry- stalle	4,3	5,3
„ „ „ „ . . .		4,1	5,14

Zusammenfassung.

1. Bei der Herstellung von Hämin mit Hilfe von Methylalkohol nach Mörners Methode wird in guter Ausbeute ein Rohprodukt mit sehr geringer Beimengung von Eiweiß ge-

¹⁾ Ein anderes Präparat von Dehydrohämatin gab durch die Rückverwandlung ein «Hämin» mit 3,61% Chlor und 3,46% CH_3 .

0,1420 g Subst.: 0,0212 g AgCl (Carius).

0,1230 „ „ : 0,0667 „ AgJ (Zeisel).

Das Präparat löste sich beim Erhitzen mit Soda allmählich auf und war zum größten Teil in schwefelsäurehaltigem Methylalkohol löslich.

wonnen, das in den meisten Fällen zum kleinen Teil aus Dimethylhämin, zum größten Teil aus Monomethylhämin besteht.

2. Es haben sich Anzeichen dafür ergeben, daß es zwei isomere Monomethylhämine gibt und daß bei der Darstellung aus Rinderblut bald das eine, bald das andere Isomere entsteht.

3. Das eine ist in kalter 5%iger Sodalösung nicht löslich, ebenso wie das von Nencki¹⁾ beschriebene Monoamylhämin in wässrigem Ammoniak und das von mir²⁾ dargestellte Monoäthylbromhämin in Alkalien unlöslich sind.

4. Das zweite Monomethylhämin löst sich in derselben Sodalösung auf, geht auch bei der Behandlung mit 0,7%iger Kaliumcarbonatlösung in Lösung. Der gelöste Farbstoff enthält noch Chlor.

5. Das erste Monomethylhämin verliert, ohne in Lösung zu gehen, das Chlor und liefert ein Monomethylhämatin. Auch durch kurze Einwirkung methylalkoholischer Lauge auf Monomethylhämin kann ein Monomethylhämatin erhalten werden, das wie das Hämatin noch etwas Chlor enthält.

6. Die aus den Monomethylhäminen dargestellten Dehydrochloridprodukte erwiesen sich als verschieden zusammengesetzt. Nach den bisherigen Analysen hat das eine die normale Zusammensetzung, das andere hat bei der Herstellung eine Molekel Wasser aufgenommen.

7. Bei dem Versuch, Monomethyldehydrochloridhämin in das Hämin zurückzuverwandeln und zwar durch Lösen in schwefelsäurehaltigem Methylalkohol und Fällen der siedenden Lösung durch Salzsäure wurde eine nicht vollständige Aufnahme von Chlorwasserstoff festgestellt, eine Veresterung zum Dimethylhämin findet nicht statt.

Monomethylhämatin wie Hämatin selbst werden nach derselben Methode in dimethylierte Produkte übergeführt, die aber ebenfalls den berechneten Chlorgehalt nicht aufweisen, zudem sind sie, wenigstens zum großen Teil, wieder in schwefelsäurehaltigem Methylalkohol leicht löslich, was gegen die Häminnatur dieses Teils spricht.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 30, S. 411 (1900).

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 40, S. 400 (1903).

8. Dehydrochloridhämin läßt sich nach derselben Methode in Dimethylhämin überführen.

9. Auch das Dimethylhämin gibt ein dimethyliertes Dehydrochloridprodukt. Die Abspaltung von Chlorwasserstoff unter dem Einfluß des Anilins erfolgt also nicht nur zwischen der Chlorferrigruppe und einem Carboxyl, wie bisher angenommen wurde, es muß vielmehr der Wasserstoff auch von einer anderen Stelle des Moleküls fortgenommen werden können.

10. Die Verseifung von Monomethylhämin erfolgt durch mehr als drei Moleküle 1%iger Natronlauge bereits bei Zimmertemperatur, die Verseifung von Dimethylhämin erfolgt erst in der Wärme.

11. Dimethylhämin läßt sich durch kurze Einwirkung methylalkoholischer Lauge in Dimethylhämatin überführen.

An der Ausführung der beschriebenen Versuche haben sich meine Assistenten J. Weller und A. Greiner beteiligt.

Stuttgart, am 15. September 1912.