Chlorwasserstoffs zwischen Lösungsmittel und Menthon keinen wesentlichen Einfluß auszuüben. Damit ist erwiesen, daß das Menthon sogar in alkoholischen Lösungen einen Teil der als Katalysator dienenden Säuren bindet,¹⁾ in noch stärkerem Maße wird dies wahrscheinlich in nicht hydrolysierenden Lösungsmitteln geschehen, ein Umstand, der die weitere Untersuchung der Säurekatalyse des Menthons außerordentlich kompliziert.

¹⁾ Nach privater Mitteilung fand auch Hr. Prof. Goldschmidt bei solchen Esterifizierungsversuchen, daß in absolutem Alkohol, wenn 0,1 n-HCl auf 0,4 n-Menthon genommen wird, die katalytische Wirkung des Chlorwasserstoffs um etwa 10 Proz. zurückgedrängt wird, was mit obigen Versuchen gut übereinstimmt.

Über die Konstitution der gefärbten Komponente des Blutfarbstoffes;

von *Oskar Piloty*.

(Mitteilung aus dem chemischen Laboratorium der k. b. Akademie der Wissenschaften zu München.)

(Eingelaufen am 12. Oktober 1910).

Es sind in den letzten Jahren so viele neue Tatsachen bekannt geworden, welche auf den inneren Bau der gefärbten Komponente des Blutfarbstoffs ein recht helles Licht werfen, daß nicht nur das Bedürfnis entstanden ist, diese Tatsachen in ein Konstitutionsbild zusammenzufassen, sondern daß ein Versuch, in dieser Richtung auch mit einiger Wahrscheinlichkeit, das Richtige zu treffen, möglich erscheint. In dieser Mitteilung soll ein solcher Versuch gemacht werden, Formelbilder für das Hämatoporphyrin, Hämin und Hämatin aufzustellen

und zu begründen. Ich möchte ausdrücklich betonen, daß ich die beigebrachten Tatsachen und Gründe nicht für hinreichend halte, um die aufgestellten Formeln *exakt* zu beweisen. Wohl aber glaube ich, daß sie hinreichend sind, um eine brauchbare Arbeitshypothese zu schaffen, die der experimentellen Diskussion zugänglich gemacht wird durch Formulierung des Gesamtausdrucks für die bis jetzt bekannt gewordenen Tatsachen.

Ich habe die Mitteilung in drei Abschnitte geteilt. Der erste Abschnitt umfaßt die Beweisführung dafür, daß das Hämin außer der Eisenkomponente vier und zwar nur vier Pyrrolkerne enthält, und für die Konstitution der einzelnen Bruchstücke des Hämins. Der zweite Abschnitt bringt für die Beurteilung der Konstitution wichtige neue Beobachtungen über das Hämin und Hämatoporphyrin. Im dritten Abschnitt wird endlich die Konstitution des Hämatoporphyrins, Mesoporphyrins, Hämins und Hämatins erörtert.

Die im zweiten Abschnitt mitgeteilten Tatsachen sind zum größten Teil in der Dissertation P. Eppingers (München, 1907, über den Blutfarbstoff), der diese Arbeit gemeinsam mit mir ausführte, enthalten.

1. Abschnitt. Über die Konstitution der sämtlichen Bruchstücke des Hämatoporphyrins.

(Gemeinsam mit *E. Quitmann*.)

1. Über die Konstitution der Phonopyrrolcarbonsäure und des Hämopyrrols.

Der eine von uns hat durch Reduktion des Hämatoporphyrins mittelst Zinn und Salzsäure das Hämopyrrol in so großer Menge und Reinheit darstellen können, daß dadurch die sichere Untersuchung seiner Konstitution ermöglicht wurde. Neben dem Hämopyrrol wurde eine Carbonsäure bei dem gleichen Verfahren entdeckt, welche wegen ihres ähnlichen Verhaltens und ihrer gleichen Herkunft wie das Hämopyrrol Hämopyrrolcarbonsäure

genannt wurde. Der Name erweckt die Vorstellung, daß diese Säure ein carboxyliertes Hämopyrrol sei. Die weitere Untersuchung hat aber ergeben, daß der Säure nicht Hämopyrrol sondern ein anderes Pyrrolderivat zugrunde liegt. Wir sehen uns daher gezwungen, den Namen der Säure zu ändern und schlagen den Namen *Phonopyrrolcarbonsäure* vor. (Der Name ist mit *φόνος* = vergossenes Blut gebildet.)

Es ergab sich ferner, daß das dritte Spaltungsstück des Hämatoporphyrins, welches ebenfalls der eine von uns bei der Reduktion dieses Körpers mit Zinkstaub und Salzsäure entdeckte, die sogenannte Hämatopyrrolidinsäure, auch, wie schon früher vermutet, bei der Reduktion mit Zinn und Salzsäure erhalten wird und in einem bestimmten Stadium des Vorgehens leicht als Pikrat isoliert werden kann. Zudem zeigten sich einige kleine Veränderungen an dem Verfahren zweckmäßig. Deshalb schildern wir die Reduktion des Hämatoporphyrins mit Zinn und Salzsäure in einem der folgenden Abschnitte noch einmal, soweit sie sich mit den früheren Angaben nicht vollständig deckt.

Phonopyrrolcarbonsäure $C_9H_{13}NO_2$.

In einer früheren Mitteilung¹⁾ haben wir die Frage nach der Konstitution der Phonopyrrolcarbonsäure soweit gefördert, daß eine der beiden folgenden Formeln als gesichert bezeichnet werden konnte

und nur unentschieden blieb, ob das α -ständige Methyl in der α - oder α' -Stellung sich befindet. Und zwar konnten wir dies deshalb, weil die Säure beim Behandeln mit salpetriger Säure eine Methylgruppe verliert und in das Oxim der Hämatinsäure $C_8H_9NO_4$ und beim nach-

¹⁾ Ber. d. d. chem. Ges. 42, 4693 (1909).

folgenden Verseifen des Oxims in die Küstersche Hämaminsäure selbst

übergeht und wir den Nachweis führen konnten, daß immer eine α -ständige Methylgruppe bei dieser Prozedur abgespalten wird.

Es liegt also der Carbonsäure ein carboxylfreies Pyrrol zugrunde, dem eine der beiden Formeln zukommen muß:

Aus der oben zitierten Mitteilung geht hervor, daß auch dem Hämopyrrol eine dieser beiden Formeln zukommen muß. Die endgültige Bestimmung der Konstitution der Phonopyrrolcarbonsäure und des Phonopyrrols schließt also gleichzeitig diejenige des Hämopyrrols mit ein, falls dieses und das Phonopyrrol nicht identisch sind, in der Art, daß, wenn dem Phonopyrrol die eine Formel zukommt, das Hämopyrrol dann nach der anderen konstituiert sein muß.

Durch Abspaltung von Kohlensäure ließ sich aus der Phonopyrrolcarbonsäure das *Phonopyrrol* gewinnen; dasselbe ist *nicht* identisch mit dem Hämopyrrol.

Man wäre berechtigt zu erwarten, daß die Phonopyrrolcarbonsäure, wenn sie die α -Methylgruppe auf derselben Seite des Pyrrolkernes hätte wie den Propion-säurerest, wenn ihr die Formel

zukäme, daß dann Neigung vorhanden sein müßte, durch

wasserentziehende Mittel ein Indolderivat, das Skatol, zu bilden.

Skatolbildung konnte auf keine Weise hervorgerufen werden. Ist es auch daher wenig wahrscheinlich, daß in der Phonopyrrolcarbonsäure die α -Methylgruppe die dem Propionsäurerest benachbarte Stellung einnimmt, so hätten wir auf dieses negative Ergebnis allein doch nicht eine Meinung gründen wollen. Sie wird aber durch eine andere Betrachtung unterstützt.

Die Hämatopyrrolidinsäure ist, wie später gezeigt werden wird, aus einem Molekül Phonopyrrolcarbonsäure und einem Molekül Hämopyrrol aufgebaut. Bei der Aufspaltung dieser komplizierten Säure wird nun aus der Phonopyrrolcarbonsäure der Propionsäurerest abgespalten, und es bleibt α, β -Dimethylpyrrol übrig.

Die Phonopyrrolcarbonsäure und das Phonopyrrol haben also folgende Formeln:

Daraus geht nach dem oben Gesagten ohne weiteres hervor, daß das Hämopyrrol die durch folgende Formel auszudrückende Konstitution besitzt

Für die letztere Beweisführung ist die Beantwortung der Frage entscheidend, ob die Phonopyrrolcarbonsäure, welche man durch Reduktion des Hämatoporphyrins mit Zinn oder Zink und Salzsäure erhält, dieselbe ist wie die, aus welcher die Hämatopyrrolidinsäure mit aufgebaut ist. Über die Gründe, welche dies bejahen und über ihre Stichhaltigkeit wird beim Kapitel Hämatopyrrolidinsäure zu handeln sein.

Zur Charakteristik der Phonopyrrolcarbonsäure (früher Hämopyrrolcarbonsäure) ist noch zu dem früher schon Mitgeteilten eine Azoverbindung und das Verhalten gegen schmelzendes Kalihydrat nachzutragen.

Azofarbstoff der Phonopyrrolcarbonsäure.

Zur Darstellung dieser Verbindung folgten wir der Methode von Marchlewski¹⁾ zur Gewinnung der Hämopyrrolazofarbstoffe. 1 g Phonopyrrolcarbonsäure wurde in etwa 50 ccm Äther gelöst und diese Lösung mit 60 ccm einer $\frac{1}{5}$ n-Diazobenzolchloridlösung durchgeschüttelt. Reichlich schieden sich hellgelbrote Flocken ab, die allmählich eine dunkelrote Farbe annahmen. Alsdann wurde die breiige Masse filtriert und der Niederschlag aus verdünntem salzsäurehaltigem Alkohol umkrystallisiert. Die Substanz ist in Äther und Wasser schwer löslich, sehr viel leichter in Alkohol, Eisessig und konz. Schwefelsäure. Sie schmilzt unter Zersetzung bei 145 bis 146°. Die Substanz ist chlorhaltig.

Nach der Analyse liegt das Chlorhydrat eines Monoazofarbstoffes vor.

0,1085 g gaben 0,2309 CO₂ und 0,0636 H₂O.

0,0595 g „ 7,2 ccm Stickgas bei 17° und 720 mm Druck.

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 45, 178 (1905).

	Ber. für $C_{15}H_{18}N_3O_2Cl$	Gef.
C	58,55	57,96
H	5,86	6,51
N	13,66	13,44

Phonopyrrolcarbonsäure und schmelzendes Kali.

3,5 g Phonopyrrolcarbonsäure wurden in 30 g bei 130° geschmolzenes Kalihydrat eingetragen unter langsamer Temperatursteigerung bis 300°. Nach etwa halbstündiger Dauer ließen wir abkühlen, lösten die Schmelze in Wasser und säuerten die Lösung mit Schwefelsäure an. Die saure Lösung wurde ausgeäthert, und beim Verdampfen hinterließ der Äther ziemlich viel einer dunkelroten Krystallmasse. Diese wurde nochmals mit Äther aufgenommen, die Lösung filtriert, eingengt und mit feuchtätherischer Pikrinsäurelösung gefällt. Das abgeschiedene Pikrat schmolz, aus Alkohol umkrystallisiert, unscharf bei 148° und zersetzte sich unter Aufschäumen bei 154—156°. Durch dieses Verhalten, sowie durch die Analyse kennzeichnet sich das Salz als das Pikrat der unzersetzten Phonopyrrolcarbonsäure. Der größere Teil dieser Säure blieb also selbst bei 300° durch schmelzendes Kali unzersetzt — ein Beweis, daß man Umlagerungen nicht zu befürchten braucht, wenn man schmelzendes Kali selbst bei hohen Temperaturen auf die hier in Frage kommenden Pyrrolderivate einwirken läßt.

0,1165 g gaben 0,1955 CO_2 und 0,0427 H_2O .

0,1891 g „ 24,7 ccm Stickgas bei 17° und 713 mm Druck.

	Ber. für $C_{15}H_{16}N_4O_9$	Gef.
C	45,45	45,77
H	4,04	4,07
N	14,14	14,38

*Kohlensäureabspaltung aus der Phonopyrrolcarbonsäure
Phonopyrrol.*

Erhitzt man die Phonopyrrolcarbonsäure unter stark vermindertem Druck, so destilliert die Substanz nahezu unzersetzt. Etwa 4 g Phonopyrrolcarbonsäure wurden

im Vakuum erhitzt, während Wasserstoff durch die Siedekapillare nachgesaugt wurde. Bei 125° schmolz die Säure und bei einem Druck von 20 mm destillierte sie bei 223° als dickflüssiges, gelbes Öl über, das in der Vorlage bald krystallinisch erstarrte. Die Substanz wurde in Äther aufgenommen und mit Petroläther gefällt, wobei sie als farblose feine Nadeln erscheint. Ein Teil dieser Fällung wurde aus Wasser umkrystallisiert und zeigte den Schmelzpunkt 123° , während die reine Carbonsäure bei 125° schmilzt. Der andere Teil wurde in das Pikrat verwandelt, dasselbe schmolz unscharf bei 148° und zersetzte sich unter Gasentwicklung bei $155-156^{\circ}$. Der größte Teil der Säure destilliert also unter diesen Umständen unzersetzt. Das Pikrat wurde analysiert.

0,1365 g gaben 0,2278 CO_2 und 0,0526 H_2O .

0,1143 g „ 14,7 ccm Stickgas bei 17° und 726 mm Druck.

	Ber. für $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_9$	Gef.
C	45,45	45,51
H	4,04	4,28
N	14,14	14,20

Bei gewöhnlichem Druck dagegen findet reichliche Abspaltung von Kohlendioxyd statt.

Etwa 9 g Phonopyrrolcarbonsäure, die sich in einem kleinen Fraktionierkolben befanden, wurden in einem Metallbad unter gleichzeitigem Überleiten von Wasserstoff erhitzt. Die Temperatur wurde rasch auf 250° gebracht und dann innerhalb anderthalb Stunden bis auf 330° erhitzt. Bei 235° begann eine deutliche Gasentwicklung, und sehr bald war in dem Wasserstoff, der den Destillierapparat passiert hatte, Kohlensäure durch Barytwasser deutlich nachweisbar. Erst von 260° an destillierten größere Mengen eines anfangs farblosen Öles. Mit steigender Temperatur wurde dieses gelblich, und es mischten sich ihm Wassertropfen bei. Als die übergehenden Tropfen begannen bräunlich zu werden, wurde der Versuch abgebrochen. Zur Reinigung wurde das Destillat mit Wasserdampf übergetrieben, mit welchem

in der Hauptsache das Phonopyrrol übergang, während die Kondensationsprodukte der Säure zurückblieben. Aus dem Dampfdestillat wurde das Pyrrolderivat ausgeäthert, der Äther abdestilliert und der Rückstand dreimal über Bariumoxyd fraktioniert. Die Ausbeute an gereinigtem, nahezu farblosem Produkt betrug 1,85 g, d. i. 28 Proz. der Theorie.

Das Phonopyrrol destilliert bei einem Druck von 19 mm bei 96—98°. Es ist leicht löslich in Alkohol und Äther, ziemlich schwer in Wasser. Für die Analyse wurde das Produkt noch ein weiteres Mal über Bariumoxyd destilliert.

0,1473 g gaben 0,4208 CO₂ und 0,1400 H₂O.

0,1259 g „ 13,2 ccm Stickgas bei 18° und 724 mm Druck.

	Ber. für C ₈ H ₁₃ N	Gef.
C	78,05	77,91
H	10,57	10,56
N	11,38	11,95

Das *Phonopyrrol* hat demnach dieselbe Zusammensetzung wie das *Hämopyrrol*. Es ist aber nicht mit dem letzteren identisch. Während das *Hämopyrrol* charakterisiert ist durch das leicht und schön krystallisierende Pikrat, konnten wir aus dem *Phonopyrrol* weder in ätherischer noch in wäßriger Lösung ein solches Derivat in krystallinischer Form erhalten. Die erstere färbte sich auf Zusatz von feucht-ätherischer Pikrinsäurelösung nur dunkel ohne Abscheidung. Die letztere ließ ein öliges Pikrat fallen, welches aber auch im Kältemisch nicht erstarrte. Für das *Hämopyrrol* ist die überaus leichte Bildung des Oxims des Äthylmethylmaleinimids bei der Einwirkung von Natriumnitrit auf seine schwefelsaure Lösung sehr charakteristisch. Das *Phonopyrrol* liefert in sehr geringer Menge ein sirupöses Maleinsäureimiderivat, dessen Natur noch nicht erkannt werden konnte. Auch die Einwirkung von Chromsäure in schwefelsaurer Lösung, die nach Plancher und

Cattadoris¹⁾ Vorschrift ausgeführt wurde, führte zu keinem krystallisierten Derivat.

Das Phonopyrrol färbt sich an der Luft zunächst braun, später rot.

*Versuch aus dem Molekül der Phonopyrrolcarbonsäure
Wasser abzuspalten..*

Da weder beim Erhitzen der Säure für sich, noch beim hohen Erhitzen mit Kalihydrat die Bildung von Skatol bemerkt werden konnte, so wurde versucht, mit Chlorzink darauf einzuwirken.

1 g der Säure wurde mit 10 g Chlorzink auf 250° erhitzt. Die Schmelze färbte sich schwarz und zeigte Gasentwicklung. Nach anderthalbstündigem Erhitzen wurde die Schmelze in Wasser aufgenommen, alkalisch gemacht und mit Dampf destilliert. Es gingen nur Spuren eines Pyrrolderivats über, das den Geruch des Phonopyrrols besaß. Skatol war auch hierbei nicht in Spuren nachweisbar. Der Ersatz des Chlorzinks durch Phosphorpentoxyd oder wasserfreie Oxalsäure war ebenfalls erfolglos. Nach dem Alkalischemachen und Destillieren mit Dampf ließ sich im Destillat sogar mit Quecksilberchlorid kein Pyrrolderivat fällen.

**2. Über die Konstitution der sogenannten
Hämatopyrrolidinsäure.**

Diese Verbindung setzt durch ihre physikalischen und chemischen Eigenschaften der Untersuchung besondere Schwierigkeiten entgegen. Sie erinnert in ihren Eigenschaften an die Kolloide, denn sie adsorbiert die verschiedenartigsten Stoffe, die sich mit ihr zugleich in Lösung befinden und gibt damit lockere Additionsprodukte, ohne aber in Gestalt irgend eines Derivates krystallinische Form anzunehmen. Die charakteristischste Verbindung ist bisher immer noch ihr schon früher be-

¹⁾ Gazz. chim. ital. **33**, I, 402 (1903).

schriebenes Pikrat, das in amorphen zitronengelben Flocken aus ihren verdünnten Lösungen durch wäßrige Pikrinsäurelösung gefällt wird; auf welche Weise man auch die „Säure“ gewonnen hat, das Pikrat hat stets dieselbe Zusammensetzung. Uns ist es jetzt gelungen, die freie, d. h. wenigstens metallfreie, aschefreie Verbindung aus dem zinnhaltigen Niederschlag zu erhalten, welcher bei der Reduktion des Hämatoporphyrins durch Wasser aus dem Abdampfrückstand der Reduktionsflüssigkeit gefällt wird.

Trotz der eigenartigen und widerspenstigen Natur des Stoffes haben wir versucht, durch Zerlegung hinter seine Konfiguration zu kommen. Diese Zerlegung haben wir durch Schmelzen mit festem Kali bewirkt, und wir benutzten hierzu die aus dem Hämatoporphyrin durch Zinkstaub und Salzsäure erhaltene Zinkverbindung der Hämatopyrrolidinsäure. Diese Zerlegung wurde früher¹⁾ schon in einer vorläufigen Mitteilung von dem einen von uns und S. Märzbacher geschildert. Wir haben durch einen Kunstgriff das Verfahren so verbessert, daß nunmehr diese Spaltung eine glatte genannt werden kann. Dieser glatte Verlauf garantiert eine große Wahrscheinlichkeit der daraus auf die Konstitution des dem Blutfarbstoffe zugrunde liegenden Komplexes und auf diejenige des Blutfarbstoffes selbst gezogenen Schlüsse, wenn auch keine völlige Sicherheit. Den Charakter der Sicherheit büßen diese Schlüsse durch die unbestimmten Eigenschaften der Hämatopyrrolidinsäure ein.

Nachdem das mit dem hämatopyrrolidinsäuren Zink durch Adsorption oder Salzbildung locker verbundene Hämatopyrrol bei mäßiger Temperatur entfernt ist, zerfällt bei ziemlich hoher Temperatur unter dem Einfluß schmelzenden Kalis die Hämatopyrrolidinsäure glatt in drei Teile, in Hämatopyrrol, α , β -Dimethylpyrrol und Essigsäure.

¹⁾ Ber. d. d. chem. Ges. 42, 3254 (1909).

Hämopyrrol

Essigsäure

α, β -Dimethylpyrrol

Wie diese drei Bruchstücke der Hämatopyrrolidinsäure untereinander zusammenhängen, ergibt sich aus folgender Betrachtung.

Es wurde früher¹⁾ schon nachgewiesen, daß durch Oxydation der Zinkverbindung die Küstersche Hämatinsäure $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_4$

entsteht.

Da diese Säure nicht aus dem Hämopyrrol entstehen kann, so muß sie sich aus dem Teil der Hämatopyrrolidinsäure bilden, der bei der Kalischmelze als α, β -Dimethylpyrrol abgespalten wird. Es muß also dieser Teil umgekehrt auch einen Propionsäurerest enthalten, der als Essigsäure abgespalten wird. Da nun dieser Propionsäurerest unter Verlust eines Kohlenstoffatoms abgespalten wird, so ist sicher, daß dieses Kohlenstoffatom es ist, welches als Brücke zwischen dem Hämopyrrol und dem Dimethylpyrrol dient. Außerdem gehört es dem Propionsäurerest an, und weil andererseits das Hämopyrrol vollständig erhalten bleibt, so ergibt sich für die Hämatopyrrolidinsäure folgendes Konstitutionsbild.

¹⁾ Diese Annalen 366, 272 (1909).

Die Spaltung mittelst Kali findet also an dem mit * bezeichneten Kohlenstoffatom statt. Es bildet sich zunächst malonsaures Kalium, das fernerhin in kohlen-saures und essigsaures Kalium zerfällt unter Zurück-lassung von α,β -Dimethyl- und Hämopyrrol. Daraus geht hervor, daß im Hämato-pyrrolidinsäurekomplex eine Phonopyrrolcarbonsäure von der oben ausgeführten Kon-stitution

enthalten ist.

Da man nun wie früher¹⁾ ausführlich auseinander-gesetzt wurde, im Hämin, Hämatin und Hämato-porphyrin außer den Pyrrolringen noch andere Ringsysteme an-nehmen muß, so ist es sehr wahrscheinlich, daß in den genannten drei Stoffen die Hämato-pyrrolidinsäure in folgender Form enthalten ist.

R ist, wie später entwickelt wird, gleich Hydroxyl.

Ein solches System wäre dem Anthracen vergleichbar, nur daß hier der Sechsring nicht zwei Benzol-, sondern zwei Pyrrolringe miteinander verbindet, und es ist ohne weiteres erklärlich, daß Derivate dieses Systems Farb-stoffe sein können.

Offenbar geht bei der Reduktion der Sechsring vor-zugsweise an dem mit 1 bezeichneten Methinkohlenstoff-atom auf; jedoch ist es möglich, daß in untergeordnetem Maße die Sprengung auch an dem mit 2 bezeichneten,

¹⁾ Ber. d. d. chem. Ges. 43, 489 (1910).

dem Propionsäurerest zugehörigen Kohlenstoffatom erfolgt, so daß der Hämatopyrrolidinsäure eine Säure von der Konstitution

beigemengt ist. Wahrscheinlich ist diese Beimischung, welche natürlich sehr ähnliche Eigenschaften haben muß wie die Hämatopyrrolidinsäure, die Ursache, weshalb bei der Kalischmelze geringe Mengen von Phonopyrrolcarbonsäure nachweisbar sind. Eine Substanz von der zuletzt gegebenen Konfiguration muß nach Analogie mit der Hämatopyrrolidinsäure in Phonopyrrolcarbonsäure, Ameisensäure und α -Methyl- β -äthylpyrrol zerfallen. Nachdem die Phonopyrrolcarbonsäure, wie oben gezeigt wurde, selbst bei hohen Temperaturen schmelzendem Kali gegenüber sehr widerstandsfähig ist, so ist es kein Wunder, daß diese Substanz selbst in geringen Mengen unter diesen Umständen nachweisbar bleibt, und außerdem findet sich im Ätherextrakt neben der Carbonsäure eine stechend riechende, und sauer reagierende, sehr flüchtige Substanz, welche ammoniakalische Silbernitratlösung reduziert, also wahrscheinlich Ameisensäure ist.

Das Auftreten der gleichen Carbonsäure bei der Kalischmelze der Hämatopyrrolidinsäure und bei der Reduktion des Hämatoporphyrins mit Zinn und Salzsäure kann als ein Beweis dafür angesehen werden, daß die Hämatopyrrolidinsäure aus derselben Phonopyrrolcarbonsäure mit aufgebaut ist, die nebst Hämopyrrol mit dem Hämatopyrrolidinsäurekomplex verbunden Hämatoporphyrin bildet und leicht durch Reduktion aus demselben abgespalten wird.

Es ergibt sich also, daß die Moleküle des Hämins,

Hämatins und Hämatoporphyrins aus 2 Mol. Hämopyrrol und 2 Mol. Phonopyrrolcarbonsäure aufgebaut sind, und ferner, daß die Farbstoffkomponente des Hämoglobins abgesehen vom Eisenatom nichts enthält als vier dreifach substituierte Pyrrolkerne.

Der eine von uns ist in der oben zitierten Mitteilung aus Erwägungen, die von der eben entwickelten Beweisführung ganz unabhängig waren, zu dem Schlusse geführt worden, daß im Hämin usw. ein Derivat des von ihm Hydropyrindol genannten Körpers

enthalten sein könnte.

Die vorliegende Untersuchung bringt eine experimentelle Bestätigung dieser Vermutung. Die Gründe, welche nicht das Hydropyrindol, sondern das Pyrindol

selbst als Muttersubstanz der Hämatopyrrolidinsäure erscheinen lassen, werden später erörtert werden.

Experimentelles.

Reduktion des Hämatoporphyrins mit Zinn und Salzsäure.

50 g Hämatoporphyrin werden in 2,5 Liter konz. rauchender Salzsäure gelöst. Die Auflösung geschieht am besten auf folgende Weise: Man bringt in eine sehr große Reibschale portionenweise je 0,5 Liter Salzsäure, bestreut die Wandung der Schale oberhalb der Flüssigkeit mit fein gepulvertem Hämatoporphyrin und bewirkt die Auflösung, indem man die Säure mittelst eines Pistills in rotierende Bewegung hält. Das Hämatoporphyrin darf nur gespült,

aber nicht durch das Pistill gedrückt werden, andernfalls entstehen harzige Klumpen, die ungeheuer schwer in Lösung gehen. In einem 8 Liter fassenden Kolben, der tief in ein noch kaltes Wasserbad eintaucht, wird die so gewonnene Lösung, der man noch 100 g Zinnchlorür, gelöst in 0,5 Liter konz. Salzsäure, hinzugefügt hat, durch ein mechanisches Rührwerk in starke Rotation versetzt. Innerhalb $2\frac{1}{2}$ Stunden fügt man nun 400 g Zinn in kleinen Portionen hinzu. Es ist besser anfangs jede äußere Erwärmung zu vermeiden, weil dadurch soviel Salzsäure verloren wird, daß das sich zuerst bildende Desoxyhämatoporphyrin nicht in Lösung gehalten wird und sich als Harz abscheidet. Erst wenn nach einer Stunde über ein Drittel der gesamten Zinnmenge verbraucht ist und die Lösung einen rein gelbroten Ton angenommen hat, wird das Wasserbad angeheizt und allmählich zum Sieden gebracht. Auf diese Weise kann jede Abscheidung von Harz vermieden werden. Nach vollendeter Reduktion hat die Flüssigkeit eine bräunlich gelbe Farbe angenommen und ist auch in dicker Schicht durchsichtig geworden. Die Lösung wird jetzt aus einem Wasserbad von $50-60^{\circ}$ im Vakuum bis zur massenhaften Ausscheidung von Zinnchlorür eingedampft, während Wasserstoff in die Siedekapillare eintritt. Den Abdampfrückstand gießt man in 1 Liter Eiswasser und spült den Destillierkolben noch mit höchstens 1 Liter Wasser nach, so daß man im ganzen etwa 2 Liter Flüssigkeit bekommt. Den ausfallenden Niederschlag, der die Zinnverbindung der Hämatopyrrolidinsäure enthält, läßt man kurze Zeit absitzen, nutschts ihn dann schnell ab und wäscht mit wenig Wasser nach.

Bei Anwendung zweier hintereinandergeschalteter Zellen läßt sich die vollständige Abscheidung des Zinns aus der abfiltrierten, höchstens 5 Proz. Salzsäure enthaltenden Lösung mit einem Strom von 8—9 Amp. bei etwa 12 Volt in 11—12 Stunden erreichen.

Den Anodenraum füllt man besser mit verdünnter

Salzsäure als mit Schwefelsäure, weil dann die Elektrodenkohlenstäbe länger halten. Im Übrigen und zur Isolierung des Hämopyrrols und der Phonopyrrolcarbonsäure verfährt man genau so, wie es früher¹⁾ angegeben wurde.

Die Ausbeute haben wir für das Hämopyrrol auf 6 g, d. i. etwas über 58 Proz. der für 1 Mol. berechneten Menge und für die Phonopyrrolcarbonsäure auf 11 g, d. i. nicht ganz 79 Proz. der für 1 Mol. berechneten Menge, steigern können.

Darstellung und Eigenschaften der sogenannten Hämatopyrrolidinsäure.

Der frischgefällte, hellorangerote und zinnhaltige Niederschlag wird abgenutscht und mit kaltem Wasser ausgewaschen. Er riecht schwach nach Hämopyrrol und färbt sich an der Luft ziemlich rasch dunkelrot. Zur Entfernung des Zinns wird die Masse in etwa 300 ccm 4—5 prozentiger Salzsäure aufgeschlämmt und in dieser Suspension der Elektrolyse unterworfen. Die Kathode, eine Bleiplatte, bringt man auf den Boden des Elektrolysiergefäßes, damit der Niederschlag durch den im Überschuß entwickelten Wasserstoff in Bewegung gehalten und dadurch möglichst vollständig umgesetzt wird. Die Anode ist ein Kohlenstab, der in eine mit verdünnter Salzsäure beschickte Tonzelle luftdicht eingesetzt ist. Durch ein Ableitungsrohr wird das gebildete Chlor abgeführt, so daß es mit der Flüssigkeit nicht in Berührung kommt. Nach mehrstündigem Durchleiten eines elektrischen Stromes von etwa 5 Amp. ist der anfangs orange gefärbte Niederschlag in schwarzes, schwammiges Zinn verwandelt, das sich leicht abfiltrieren läßt. Die schwach gelb gefärbte Lösung enthält nur noch geringe Mengen Zinn und ist eine salzsaure Lösung der sogenannten Hämatopyrrolidinsäure.

Um aus dieser Lösung das reine Pikrat zu gewinnen,

¹⁾ Diese Annalen 366, 250 ff. (1909).

wurde sie mit Natriumacetat versetzt, um die freie Salzsäure zu binden und dann portionenweise mit festem Kochsalz versetzt, bis der ausfallende Niederschlag ganz hell geworden war. Setzt man nun zu der klar filtrierten Flüssigkeit eine gesättigte wäßrige Pikrinsäurelösung hinzu, so fällt das Pikrat in hellcitronengelben, sich leicht zusammenballenden Flocken aus. Das filtrierte und gut mit Wasser ausgewaschene Salz wurde auf Ton im Exsiccator getrocknet. Die Substanz ist aschefrei, unlöslich in kaltem und heißem Wasser, ebenso in Äther und sehr schwer löslich in Alkohol. Beim Erhitzen tritt oberhalb 125° ganz allmähliche Zersetzung ein, ohne daß ein Schmelzpunkt erkennbar wäre. Das Verhalten ist also ebenso wie bei dem aus der Zinkverbindung (a. a. O.) erhaltenen Produkt. Und die Analyse ergab auch ganz ähnliche Werte. Das Salz wurde für die Analyse, welche Hr. Dr. Bockmühl auszuführen die Freundlichkeit hatte, bis zur Gewichtskonstanz bei 60° im Vakuum getrocknet.

0,2322 g gaben 0,4256 CO₂ und 0,1176 H₂O.

0,1944 g „ 25,4 ccm Stickgas bei 16° und 717 mm Druck.
Ber. für Gef.

	(C ₁₇ H ₂₃ N ₂ O ₂) ₂ (C ₆ H ₅ N ₃ O ₇) ₃	jetzt	früher
C	49,10	49,99	49,59
H	5,11	5,66	5,18
N	14,32	14,36	14,42

Um die metallfreie „Hämatopyrrolidinsäure“ selbst zu erhalten, wurde die nach der Elektrolyse resultierende salzsaure Lösung noch mit Schwefelwasserstoff behandelt, wodurch noch etwas Zinn und aus dem Stanniol stammendes Blei niedergeschlagen wird, und das klare Filtrat mit Ammoniak schwach alkalisch gemacht. Hierdurch wird eine mäßige Menge eines grau-grünen, flockigen Niederschlages gefällt. Dieser Niederschlag riecht deutlich nach Hämatopyrrol. Das Filtrat wurde nun mit Ammonsulfat ausgesalzen, wodurch die Hämatopyrrolidinsäure als hellbraune, ziemlich harte Klümpchen ausgefällt wird, die auf der Flüssigkeit schwimmen. Nun ist die Substanz fast ganz aschefrei, riecht deutlich nach Hämo-

pyrrol und enthält etwas Ammonsalz. Im reinen Wasser löst sich diese Substanz sehr langsam aber reichlich und kann aus der Lösung durch abermaligen Zusatz von Ammonsulfat oder Kochsalz von neuem ausgesalzen werden in Form fast farbloser Flocken, die sich aber rasch an der Luft bräunen.

Die wäßrige Lösung reagiert nicht oder nur sehr schwach sauer, gibt auf Zusatz von konz. Ammoniak, Bariumhydroxyd, Natronlauge, Zinnchlorür, Chlorzink, farblose, sich rasch an der Luft verändernde amorphe Niederschläge. Die Niederschläge mit Ammoniak, Bariumhydroxyd und Natronlauge lösen sich in reinem Wasser ziemlich leicht wieder auf, derjenige mit Chlorzink nur mit sehr viel Wasser. Auch mit Kupferacetat und Bleiacetat entstehen rasch sich verändernde amorphe Niederschläge.

Alle diese Niederschläge, besonders diejenigen mit Natronlauge und Natriumcarbonat erscheinen wie regellose Adsorptionen des Fällungsmittels an ein Grundkolloid.

Die wäßrige Lösung des aschefreien Produktes schäumt stark beim Schlagen mit einem Glasstab und schmeckt intensiv bitter wie Enzianwurzel.

Am seltsamsten ist der Umstand, daß sich sowohl an dem mit Zinn als an dem mit Zink und Salzsäure erhaltenen Produkt ganz locker gebundenes Hämopyrrol in nicht unbedeutenden Mengen findet, das sich auch nach dem Umsalzen mit Ammonsulfat durch seinen Geruch zu erkennen gibt. Da nun die Analyse des Pikrats jeder Darstellung dasselbe Mengenverhältnis von Kohlenstoff, Wasserstoff und Stickstoff ergibt, so ist es vielleicht angebracht darauf hinzuweisen, daß eine Verbindung von 1 Mol. $C_{17}H_{24}N_2O_2$ und 1 Mol. $C_8H_{13}N$ (Hämopyrrol) und 2 Mol. Pikrinsäure ergeben würde.

	Ber.	Gef.	
		jetzt	früher
C	51,33	49,99	49,59
H	4,49	5,66	5,18
N	14,57	14,36	14,42

Beim Erwärmen der Substanz mit einer verdünnten Natriumcarbonatlösung findet schwache Kohlensäureentwicklung statt, und dann destilliert neben Ammoniak, das wohl nur mechanisch beigemischt ist vom Aussalzen mit Ammonsulfat, leicht ziemlich viel eines Pyrrolderivates über. Das Destillat wurde ausgeäthert, und der Rückstand der Ätherlösung gab mit feuchtätherischer Pikrinsäurelösung das Hämopyrrolpikrat, das nach dem Umkrystallisieren aus Alkohol den richtigen Schmelzpunkt $108,5^{\circ}$ zeigte.

Beim Ansäuern des Destillationsrückstandes fällt eine amorphe Substanz aus der Lösung von ähnlichem Aussehen und Verhalten wie die sogenannte Hämatopyrrolidinsäure selbst. Phonopyrrolcarbonsäure konnte nicht nachgewiesen werden.

Eine so beschaffene Substanz „Säure“ zu nennen ist vielleicht nicht ganz gerechtfertigt, doch wollen wir vorläufig den Namen, den sie nun einmal hat, beibehalten, zumal wir glauben, aus weiter unten mitzuteilenden Gründen, daß in der Substanz wirklich eine Säure vorliegt.

Auch der aus Hämatoporphyrin mit Zink und Salzsäure gewonnenen Zinkverbindung haftet stets der Geruch des Hämopyrrols an.

Löst man die Zinkverbindung der Hämatopyrrolidinsäure in zwei Volumen Eisessig, gibt ein Volumen konz. Salzsäure hinzu und tropft nun eine konz. Lösung von Natriumchlorat zu der Flüssigkeit, so wird sie momentan entfärbt, und beim Eingießen in Wasser fällt eine Verbindung in farblosen, luftbeständigen Flocken aus, die große Ähnlichkeit hat mit einer Verbindung, welche aus Hämatoporphyrin beim gleichen Verfahren entsteht, und welche in der Dissertation P. Eppingers geschildert ist.

Der Komplex der Hämatopyrrolidinsäure liegt dem Blutfarbstoff zugrunde. Es ist freilich mißlich, daß ein Körper von so unbestimmten Eigenschaften zum Ausgangspunkt der Betrachtungen gemacht werden mußte, und wir geben gerne zu, daß die Schlüsse, welche aus

dem Verhalten der Säure gezogen werden, nicht so überzeugend wirken können, wie wenn wir es mit einer krystallisierten Substanz zu tun hätten. Wir glauben aber, daß die Natur der Substanz selbst, welche außerdem an der Luft sehr veränderlich ist, den Ansprüchen, die man an sie stellen darf, eine Grenze setzt, und daß die Schlüsse, soweit wir sie bis jetzt ziehen können, so lange ihre Berechtigung behalten, bis sie durch Ergebnisse in einer günstigeren Reihe ihre Korrektur oder Bestätigung finden werden.

*Aufspaltung der Zinkverbindung¹⁾ der Hämatopyrrolidinsäure
mittels Kali.*

Zur Aufspaltung der Hämatopyrrolidinsäure wurde ihre Zinkverbindung, deren Darstellung früher beschrieben wurde,²⁾ mit überschüssigem Ätzkali geschmolzen. Die Schmelze wurde ausgeführt in einer kupfernen Retorte von 1 Liter Inhalt für die aus 60 g Hämatoporphyrin gewonnene Menge der Zinkverbindung. Diese Retorte besteht aus zwei Teilen, dem eigentlichen Gefäß und einem mit Tubus versehenen Helm mit Ansatzrohr, an die beide ein flacher Eisenring angelötet ist, der es gestattet, Helm und Gefäß unter Zwischenschaltung eines Asbesttringes mittelst Klemmschrauben luftdicht zu verschließen.

In dem offenen Gefäß wurden 400 g Kali und etwa 25 ccm Wasser zusammengeschmolzen und auf 170° ge-

¹⁾ In bezug auf die Kalischmelze dieser Zinkverbindung, die von dem einen von uns und S. Merzbacher (a. a. O.) beschrieben wurde, ist zu berichtigen, daß die Ausbeute an Phonopyrrolcarbonsäure nach unseren neueren Versuchen erheblich geringer ist, als dort angegeben ist. Wir haben geglaubt, die gesamte Menge des beim Ausäthern der angesäuerten Schmelze gewonnenen Ätherrückstandes als Phonopyrrolcarbonsäure ansehen zu dürfen. Das ist aber irrig, er enthält ziemlich viel Verunreinigungen. Aus der aus 60 g Hämatoporphyrin stammenden Zinkverbindung wurden nach der Kalischmelze nur 0,5—0,6 g reines Pikrat isoliert.

²⁾ Diese *Annalen* 366, 268 (1909).

bracht und dann die aus 60 g Hämatoporphyrin gewonnene Menge Zinkverbindung noch feucht unter Umrühren in Portionen eingetragen. Beim jedesmaligen Eintragen schäumt die Masse etwas auf, und mit dem Wasserdampf entweicht das locker gebundene Hämapyrrol. Man steigert die Temperatur auf höchstens 200° und schraubt, wenn nichts mehr entweicht, den Helm der Retorte auf.

Zwischen 200 und 240° geht fast reines Wasser über, dem nur sehr geringe Mengen Öl beigemengt sind. Bei 240—250° beginnen mit dem Wasserdampf reichliche Mengen eines dunkelgefärbten Öles überzugehen. Hat die Temperatur der Schmelze 270° erreicht, so läßt man aus einem Tropftrichter langsam Wasser auf die Schmelze tropfen, so daß die Temperatur während des Hauptteiles des Destillation bei etwa 270° gehalten wird. Zum Schlusse wird die Temperatur bis auf 320° gesteigert, indem man ebenfalls von Zeit zu Zeit Wasser auf die Schmelze fließen läßt. Wenn mit dem heftig entweichenden Wasserdampf kein Öl mehr übergeht, so wird die Operation unterbrochen. Nach etwa 3 Stunden ist dieselbe beendet.

Aufarbeitung des Destillates (Hämapyrrol und α,β -Dimethylpyrrol).

Das Destillat besteht aus einer wäßrigen und einer obenauf schwimmenden Schicht eines dunkelbraun gefärbten, alkalisch reagierenden und sehr übel riechenden Öles. Die wäßrige Lösung wird mit Ammonsulfat gesättigt und das gesamte Öl durch achtmalige Extraktion in Äther gebracht; die ätherische Lösung wird mit Natriumsulfat getrocknet, der Äther zum größten Teil auf dem Dampfbad verjagt und der Rückstand im Vakuum fraktioniert ebenso wie es beim Kapitel Hämapyrrol früher geschildert worden ist.¹⁾

¹⁾ Diese Annalen 366, 252 (1909).

Das Öl, welches nach dem vollständigen Verjagen des Äthers zurückbleibt, besteht zum überwiegend größeren Teil aus einem im Vakuum leicht flüchtigen und zum kleineren Teil aus einem sehr schwer flüchtigen Anteil. Der letztere muß als ein Gemisch von Kondensationsprodukten der hier entstehenden Pyrrole betrachtet werden, wie sie stets auftreten, wenn Pyrrole bei höherer Temperatur gebildet werden. In diesem schwer flüchtigen Rückstande, der nicht genauer untersucht worden ist, befinden sich die Substanzen, welche dem Gesamtöl die alkalische Reaktion und den widerlichen basischen Geruch erteilen.

Aus 180 g Hämatorporphyrin wurden etwa 35 g des leicht flüchtigen Öles erhalten. Dasselbe ist ein Gemisch von Hämopyrrol und Dimethylpyrrol. Unter Zugrundelegung der auf die Ausbeute an Pikrat gegründeten Ausbeutenberechnung für Hämatorpyrrolidinsäure aus Hämatorporphyrin, wie sie früher gegeben wurde (a. a. O.), würden von solchem Gemisch 46,1 g zu erwarten sein. Bei der Kalischmelze entstehen also 76 Proz. der Theorie. Außerdem wurden aus dem Gesamtöl etwa 10 g schwerflüchtiger Rückstand erhalten.

Das leichter flüchtige Öl besteht, abgesehen von geringen Mengen mitgerissenen Rückstandes, aus zwei Substanzen, und scheinbar in ungefähr molekularen Verhältnissen. Die 35 g dieses Gemisches wurden in drei Fraktionen zerlegt. Fraktion I siedet nach dreimaliger Destillation über Bariumoxyd bei 11 mm Druck bei 62—72° und ist das α,β -Dimethylpyrrol und beträgt 7,14 g. Fraktion III siedet bei 12,5 mm Druck bei 82 bis 84°, ist das Hämopyrrol und beträgt 9,6 g. Die zwischen diesen beiden Fraktionen liegende Fraktion II ist ein Gemenge der beiden Pyrrole und beträgt 10,35 g.

Hämopyrrol (Fraktion III).

Wir haben die Fraktionierung des Hämopyrrols nicht so weit getrieben, daß wir dasselbe im festen Zu-

stand erhalten konnten, weil das mit unverhältnismäßig großen Verlusten verbunden gewesen wäre; denn unsere früher¹⁾ mitgeteilten Versuche in dieser Richtung zeigen, wie geringe Mengen einer Beimischung den Schmelzpunkt des Hämopyrrols ganz ungeheuer herabdrücken. Wir haben darauf um so mehr verzichten zu können geglaubt, als die Analysen der Fraktion III recht gut stimmende Zahlen ergaben, und wir durch Darstellung und Analyse des Pikrats und durch die Einwirkung von salpetriger Säure unzweifelhaft haben feststellen können, daß diese Fraktion III in der Tat Hämopyrrol ist. Analyse des Hämopyrrols:

0,1258 g gaben 0,3614 CO₂ und 0,1246 H₂O.

	Ber. für C ₈ H ₁₁ N	Gef.
C	78,05	78,35
H	10,47	11,01

Durch Vermischen einer ätherischen Lösung des Hämopyrrols mit einer feuchtätherischen Pikrinsäurelösung wurde das Pikrat in schief abgeschnittenen rhombischen Prismen erhalten, die nach dem Umkrystallisieren aus Alkohol bei 108,5° schmelzen.

0,1116 g gaben 0,1960 CO₂ und 0,0484 H₂O.

	Ber. für C ₁₄ H ₁₆ N ₄ O ₇	Gef.
C	47,72	47,89
H	4,55	4,81

1 g des Hämopyrrols wurde in verdünnter Schwefelsäure gelöst und die Lösung mit Natriumnitrit versetzt, wie dies früher beschrieben worden ist. Beim Abkühlen fiel das Oxim des Methyläthylmaleinimids aus, das nach dem Umkrystallisieren aus Wasser den richtigen Schmelzpunkt 201° zeigte.

α,β-Dimethylpyrrol (Fraktion I).

Die vom Hämopyrrol abdestillierte niedrige Fraktion des Rohproduktes, welche ursprünglich 21 g betrug, wurde dreimal über Bariumoxyd im Vakuum rektifiziert,

¹⁾ Ber. d. d. chem. Ges. 42, 4696 (1909).

die höher siedenden Anteile in eine mittlere Fraktion gesammelt (Fraktion II) und so endlich 7,14 g eines Öles gewonnen, das bei 11 mm Druck zwischen 62 und 72° destillierte, und dessen Analyse gut mit der Theorie für C_6H_9N übereinstimmende Zahlen lieferte.

0,1356 g gaben 0,3783 CO_2 und 0,1129 H_2O .

0,1119 g „ 14,7 ccm Stickgas bei 18° und 721 mm Druck.

	Ber. für C_6H_9N	Gef.
C	75,79	76,08
H	9,47	9,25
N	14,74	14,58

Ein Pyrrolderivat von der Zusammensetzung C_6H_9N kann entweder ein Äthylpyrrol oder ein Dimethylpyrrol sein. Da nun das vorliegende Pyrrolderivat bei der Oxydation Methylmaleinimid $C_5H_5NO_2$ liefert, so ist ein Äthylpyrrol und das α, α' -Dimethylpyrrol und β, β' -Dimethylpyrrol ausgeschlossen. Es kommen also nur in Betracht α, β' -Dimethyl- und α, β -Dimethylpyrrol. Das erstere liefert ebenso wie das α, α' -Dimethylpyrrol beim Durchschütteln seiner ätherischen Lösung mit der berechneten Menge einer salzsauren $\frac{1}{5}$ n-Diazobenzolchloridlösung, wie Marchlewski¹⁾ und Robel fanden, und wie wir uns persönlich zum Vergleiche überzeugten, eine hochrote Diazoverbindung so leicht, daß die Flüssigkeit nach wenigen Minuten unter Abscheidung sehr voluminöser Nadelchen erstarrt. Das vorliegende Pyrrolderivat liefert weder unter den von Marchlewski und Robel geschilderten Bedingungen, noch in wäßriger, alkoholischer Lösung nach Fischer²⁾ und Hepp einen schwer löslichen Azofarbstoff. Es färbt sich die Lösung nur dunkelrot ohne Abscheidung von Krystallen, also kommt für das vorliegende Pyrrolderivat auch das α, β' -Dimethylpyrrol nicht in Betracht, dasselbe ist also das α, β -Dimethylpyrrol.

¹⁾ Ber. d. d. chem. Ges. 43, 260 (1910).

²⁾ Ber. d. d. chem. Ges. 22, 51 (1889).

Aus der ätherischen Lösung fällt mit feuchtätherischer Pikrinsäurelösung kein Pikrat, aus wässriger Lösung mit wässriger Pikrinsäure ein öliges, nicht zum Krystallisieren zu bringendes Salz aus. Auch mit salpetriger Säure konnten wir ein krystallisiertes Derivat nicht erhalten.

*Oxydation des α, β' -Dimethylpyrrols mit Chromsäure
in schwefelsaurer Lösung.*

Wir folgten bei dieser Oxydation der jüngst von Willstädt¹⁾ und Asahina für die Oxydation von Phylloporphyrin gegebenen Vorschrift. 2,5 g α, β' -Dimethylpyrrol wurden in 75 ccm 30 prozentiger Schwefelsäure aufgelöst und dann innerhalb einer halben Stunde eine Lösung von 10,8 g Chromsäure mit 40 ccm Wasser unter beständigem Rühren und gleichzeitiger Kühlung mit einer Kältemischung, so daß die Flüssigkeit sich nicht über 8° erwärmte, eingetragen. Nachdem alle Chromsäure eingetragen war, wurde noch eine halbe Stunde ohne Kühlung weiter gerührt und dann noch 12 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen. Die Flüssigkeit war dann fast rein grün und wurde dann zehnmal mit Äther ausgezogen. Die Oxydation geht zum großen Teil weiter als bis zum erwarteten Maleinimid-derivat; denn die Ausbeute an Citraconimid

ist recht schlecht, und der Verdampfungsrückstand des Äthers riecht stark nach Essigsäure. Deshalb wurde die ätherische Lösung so lange mit Sodalösung ausgeschüttelt, bis eine erneute Portion der Sodalösung

¹⁾ Diese Annalen 373, 234 (1910).

ihre alkalische Reaktion behielt. In die Sodalösung geht neben Essigsäure etwas freie Citraconsäure. Die klare farblose, ätherische Lösung wurde mit Natriumsulfat getrocknet, und nach dem Verdampfen des Äthers hinterbleibt ein fast farbloser Sirup, der sehr rasch krystallinisch erstarrt, charakteristisch an Jodoform erinnernd riecht, und aus dem beim Stehen im Exsiccator schon bei gewöhnlicher Temperatur die feinen Lamellen des Citronsäureimids sublimieren. Nach dem Umkrystallisieren aus viel Petroläther hatte die Substanz den unscharfen Schmelzpt. 105° (Plancher und Cattadori 109°)¹⁾.

0,0775 g gaben 9,3 cem Stickgas bei 20° und 713 mm Druck.

	Ber. für $C_6H_5NO_2$	Gef.
N	12,61	13,05

*Aufarbeitung des Schmelzrückstandes der Kalischmelze
(Essigsäure).*

Nach dem Abnehmen des Helmes der Kupferretorte sieht man, daß die Hämatopyrrolidinsäure vollständig verschwunden ist unter Zurücklassung einer sehr geringen Menge schwarzer, verkohlter Materie, welche auf den Rändern der eigentlichen fast farblosen Schmelze aufsitzt. Die Schmelze wird in möglichst wenig Wasser aufgelöst (etwa $\frac{1}{2}$ Liter) und dann mit 40 prozentiger Schwefelsäure schwach mineralsauer gemacht und stark abgekühlt. Es krystallisiert dann ein großer Teil des Kaliumsulfats aus, das mit dem geringen kohligen Rückstand abfiltriert wird. Die Lösung ist dann schwach braun und riecht fäkalartig. Diese Lösung wurde sehr stark eingedampft und das sauer reagierende Destillat mit Bariumhydroxyd neutralisiert und ein paarmal ausgeäthert. Der Äther nimmt die sehr geringe Menge der fäkalartig riechenden Substanz auf, die sich an der Luft rasch dunkelrot färbt und nicht weiter untersucht wurde. Die Lösung des Barytsalzes wurde zu-

¹⁾ Gazz. chim. 33, 1, 402 (1903).

nächst auf dem Wasserbad, dann im Exsiccator vollständig zur Trockne gebracht, und da wir mit Bestimmtheit außer Essigsäure nichts nachweisen konnten, als essigsäures Barium gewogen. Die Zinkverbindung aus 120 g Hämatorporphyrin lieferte auf diese Weise 15 g Baryumacetat (mit einem Krystallwasser in die Rechnung eingesetzt). Wenn wir die Ausbeuteberechnung für die Hämatorpyrrolidinsäure von früher¹⁾ der Rechnung zugrunde legen, so würden theoretisch 21,5 g Bariumacetat zu erwarten sein.

Beim Behandeln des Salzes mit Alkohol und 50 prozentiger Schwefelsäure trat stark der Geruch nach Essigäther und beim Erhitzen mit arseniger Säure starker Kakodylgeruch auf.

Endlich wurde die Essigsäure identifiziert durch das Silbersalz. Die wäßrige Lösung des Bariumsalzes wurde mit Silbernitratlösung versetzt, wobei das Silberacetat als weiße, sich bald schwärzende Nadeln ausfiel, die nach einmaligem Umkrystallisieren rein weiß wurden und den richtigen Wert für Silber ergaben.

0,2579 g gaben 0,2204 AgCl.

Ber. für $C_8H_9O_4Ag$

Ag

64,46

Gef.

64,41

2. Abschnitt.

Über Hämatin, Hämin und Hämatorporphyrin.

(Gemeinsam mit *Paul Eppinger*.)

1. Über die Verwandlung von Hämatin in Hämin.

Über unsere Versuche, welche in der eingangs zitierten Dissertation (Eppingers) beschrieben wurden, fällt jüngst Küster²⁾ folgendes Urteil: „Die Angaben in der Dissertation von Eppinger sind nämlich so allgemein gehalten — sie lassen aber auch jede Zahl vermissen — daß der Schlußsatz „die Analyse ergab, daß

¹⁾ Diese Annalen 366, 270 (1909).

²⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 66, 216 (1910).

in der Tat reines Hämin und zwar in nahezu quantitativer Ausbeute entstanden war“ auf jeden, der mit Hämin gearbeitet hat und weiß, auf wie peinliche Innehaltung ganz bestimmter Bedingungen es oft ankommt, nicht nur durch seinen Aufbau einen überraschenden Eindruck macht.“ Um die Leser in Stand zu setzen, zu beurteilen, ob dieses Urteil gerechtfertigt ist oder nicht, lassen wir die Beschreibung unserer Versuche *wörtlich* in der Fassung der Dissertation folgen.

„Dem nach der Schalfejeffschen Methode dargestellten Hämin aus Pferdeblut gaben Nencki und Zaleski¹⁾ den Namen Acethämin und stellen für denselben die empirische Formel $C_{34}H_{33}N_4O_4FeCl$ auf. Der Name Acethämin wurde diesem Präparat beigelegt, weil sich stets geringe Mengen Essigsäure nachweisen ließen. Später aber stellte sich heraus, daß die Essigsäure nur in Form einer geringfügigen Verunreinigung dem Rohprodukt anhaftet, welche durch Umkrystallisieren entfernt werden kann, so daß das Schalfejeffsche Acethämin nichts anderes als Hämin ist. Küster endlich wies nach, daß allen Häminen, auf welche Art und aus welcher Blutart sie auch dargestellt seien, die gleiche empirische Formel $C_{34}H_{33}N_4O_4FeCl$ zukomme. Das von Nencki aus Amylalkohol gewonnene Hämin, dem dieser Forscher die Formel $C_{32}H_{31}N_4O_3FeCl$ geben zu müssen glaubte und das von Mörner β -Hämin genannte, für welches die Formel $C_{35}H_{35}N_4O_4FeCl$ aufgestellt wurde, auch das Cloëttasche von der Formel $C_{30}H_{35}N_3O_3FeCl$ sind demnach keine selbständigen chemischen Individuen, sondern nur mehr oder weniger verunreinigtes Hämin.

Durch erneute Analysen von sorgfältig gereinigtem nach der Schalfejeffschen Methode dargestellten Hämin konnte ich die Formel $C_{34}H_{33}N_4O_4FeCl$ bestätigen.

Neuerdings hat v. Zeyneck²⁾ durch künstliche Verdauung von Oxyhämoglobinlösung mit Pepsinsalzsäure

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. **30**, 385 (1900).

²⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. **30**, 126 (1900).

ein Hämin gewonnen, für welches er die Formel $C_{34}H_{34}N_5O_4FeCl$ aufstellte. Ich habe den von Zeyneckschen Versuch wiederholt. Man erhält dabei zunächst Hämatin, und von Zeyneck verwandelte dasselbe durch Behandlung mit Aceton und Salzsäure in Hämin. Beim Umkrystallisieren dieses Produktes nach der Schafferschen Methode mit Hilfe von chininhaltigem Chloroform und Eintragen in heißen, Kochsalzhaltigen Eisessig stellte sich heraus, daß ein ziemlicher Rückstand blieb, aus dem Lösungsmittel aber ein Hämin auskrystallisierte, das in seinen Eigenschaften und nach dem analytischen Ergebnis völlig identisch ist mit dem Hämin, das auf andere Weise gewonnen wird.

Das v. Zeynecksche Hämin ist demnach ebenfalls kein selbständiges chemisches Individuum. Es krystallisiert in rhombischen Täfelchen von roter Farbe im durchfallenden und stahlblauer Farbe im auffallenden Lichte.

0,1694 g gaben 0,3878 CO_2 und 0,0782 H_2O .

0,1628 g „ 12,9 ccm Stickgas bei 16° und 720 mm Druck.

	Ber. für	Gef.	Ber. für
	$C_{34}H_{34}N_5O_4FeCl$		$C_{34}H_{34}N_5O_4FeCl$ (v. Zeyneck)
C	62,53	62,41	61,12
H	5,06	5,12	5,09
N	8,59	8,72	10,49

Man hat die Verwandlung von Hämatin in Hämin stets aufgefaßt als einen einfachen Ersatz von Hydroxyl durch Chlor, und demnach stimmte mit der Formel des Hämins auch unmittelbar diejenige des Hämatins und zwar als $C_{34}H_{34}N_4O_5Fe$. Das reine aus Oxyhämoglobin gewonnene ist aber nicht mit Sicherheit bekannt, vielmehr wurde das reine Hämatin stets aus Hämin durch Einwirken von Alkali gewonnen. Für alle Schlüsse, welche man in Zukunft von den Eigenschaften des Hämins auf die Natur des Hämatins ziehen wird, ist die Richtigkeit der Annahme der oben erwähnten einfachen Beziehung zwischen diesen beiden Körpern natürlich von prinzipieller Wichtigkeit. Diese Annahme ist aber durch-

aus nicht einwandfrei, da man bisher nicht vermochte,¹⁾ umgekehrt vom Hämatin wieder zum Hämin zurückzukehren. Das Fehlschlagen der in dieser Richtung hin unternommenen Versuche ließ vielmehr die Vermutung gerechtfertigt erscheinen, daß das aus Hämin gewonnene Hämatin nicht identisch sei mit dem primären Abspaltungsprodukt aus Oxyhämoglobin, aus welchem ja das Hämin entstehen muß, sondern einer tiefgreifenden Einwirkung des Alkalis seine Entstehung verdankt. Es ist daher von nicht zu unterschätzender Bedeutung, daß in der Tat auch das aus Hämin gewonnene Hämatin ganz leicht wieder in das erstere zurückverwandelt werden konnte, und zwar auf folgende Weise:

Reines, nach Schälfejeff umkrystallisiertes Hämin wurde in fein geriebenem Zustande in verdünnter, eiskalter Natronlauge gelöst, wovon es leicht und *ohne Rückstand* aufgenommen wurde, hierauf rasch in stark verdünnte Schwefelsäure einfiltriert, wodurch das Hämatin in Flocken ausgefällt wurde. Das so gewonnene, erst mit kaltem, dann mit heißem Wasser ausgewaschene Hämatin wurde nochmals in Natronlauge gelöst, mit Schwefelsäure ausgefällt und bis zum Verschwinden der Schwefelsäurereaktion ausgewaschen. Das bei 105° getrocknete Präparat zeigte durch folgende Analyse seine Reinheit:

0,1791 g gaben 0,4240 CO₂ und 0,0864 H₂O.

0,2594 g „ 21,3 ccm Stickgas bei 16° und 720 mm Druck.

0,4284 g „ 0,0552 Fe₂O₃ und 0,0052 AgCl.

	Ber. für C ₃₄ H ₃₄ N ₄ O ₅ Fe	Gef.
C	64,35	64,56
H	5,36	5,36
N	8,83	9,05
Fe	8,83	9,02
Cl	—	0,29

Der auf obige Weise hergestellte Hämatinschlamm wurde mit chininhaltigem Chloroform ausgeschüttelt,

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 40, 396 (1903/04) und 43, 15 (1904/05).

wobei das Hämatin vollständig in die Chloroformlösung überging. Die im Scheidetrichter vom Wasser getrennte Hämatinlösung wurde in erhitzten, mit Kochsalz gesättigten Eisessig unter Umrühren eingetragen. Beim Erkalten schied sich ein nicht erkennbar krystallinisches Pulver ab, das aber Chlor aufgenommen hatte. Das Pulver wurde nochmals mit chininhaltigem Chloroform aufgelöst, wobei ein ganz geringer Rückstand blieb, und die Chloroformlösung in mit Kochsalz gesättigten Eisessig eingegossen. Nach zwölfstündigem Stehen hatten sich stahlblau glänzende Krystalle vom typischen Aussehen des Hämins ausgeschieden. Die Analyse ergab, daß in der Tat reines Hämin und zwar in nahezu quantitativer Ausbeute entstanden war.

0,1108 g gaben 0,2540 CO₂ und 0,0518 H₂O.

0,1232 g „ 10,0 ccm Stickgas bei 18° und 719 mm Druck.

0,1971 g „ 0,0474 AgCl und 0,0242 Fe₂O₃.

	Ber. für C ₃₄ H ₃₃ N ₄ O ₄ FeCl	Gef.
C	62,53	62,53
H	5,06	5,19
N	8,59	8,59
Fe	8,59	8,83
Cl	5,44	5,94

„Es ist somit jeder Zweifel gehoben, daß zwischen Hämatin und Hämin der einfache Zusammenhang besteht, daß beim Übergang des ersteren in das letztere Hydroxyl durch Chlor ersetzt wird, und daß das Hämatin aus Oxyhämoglobin und aus Hämin ein und dieselbe Substanz ist.“

Diesem wörtlichen Auszug aus der Dissertation (Eppingers) ist noch folgendes hinzuzufügen. Die von Küster erhärtete Formel für das Hämin C₃₄H₃₃N₄O₄FeCl setzt zweiwertiges Eisen voraus, wenn die Wasserstoffzahl als richtig angenommen werden soll. Mit der Entscheidung darüber, ob das Eisen im Hämin in zwei- oder dreiwertiger Form vorliegt, über welche in einem folgenden Abschnitt gehandelt werden soll, hängt es zusammen, ob die Wasserstoffzahl auf 33 fixiert oder auf 32 erniedrigt bzw. auf 34 erhöht werden muß; eine Frage, die sich

bei dem großen Molekül durch die Analyse nicht entscheiden läßt. Aus später zu erörternden Gründen ist die Wasserstoffzahl auf 32 zu erniedrigen und die *richtige Formel für das Hämin ist dann* $C_{34}H_{32}N_4O_4FeCl$.

Man kann durch direkten Vergleich des Hämatins aus Hämin und des Verdauungshämatins nicht entscheiden, ob beide identisch sind, weil das letztere bisher nicht rein zu erhalten war. Für diese Frage, sowie für die Frage der Rückwandlung von Hämatin in Hämin ist der v. Zeynecksche Versuch aber vom größten Interesse. Wenn auch v. Zeyneck selbst nur zu einem unreinen Hämin gelangte, und wir erst später aus dem Verdauungshämatin reines Hämin darstellten, so muß doch der v. Zeynecksche Versuch als der erste gelungene bezeichnet werden, vom Hämatin zum Hämin zu gelangen.

Gleichzeitig mit unseren Versuchen hat Küster eine Arbeit von Siewert,¹⁾ die unabhängig von uns ein Jahr später auf anderem Wege im wesentlichen unsere Versuche bestätigte, einer kritischen Betrachtung unterzogen. Küster gelang es nicht, weder nach unserem noch nach dem Siewertschen Verfahren aus dem Hämatin ein Hämin zu erhalten, für welches er den Begriff „typisches Hämin“ aufstellte. Wir müssen gestehen, daß uns dieser Begriff unklar erscheint. Ein Hämin ist entweder reines Hämin oder verunreinigtes Hämin, oder endlich ist es überhaupt kein Hämin. Für die Frage, ob Hämin überhaupt aus Hämatin zurückgebildet werden kann, ist es unwesentlich, ob das erhaltene Hämin rein oder unrein ist, wenn es nur überhaupt entsteht. Daß Hämin nach der Siewertschen Methode wirklich entsteht, hat Küster ausdrücklich bestätigt, wenn auch bei seinen Versuchen das Hämin nicht rein war, und unser Präparat bezeichnet er als Hämin, wenn auch als ein nicht „typisches“ (a. a. O. Zusammenfassung 1 u. 2,

¹⁾ Arch. f. experim. Pathol. und Pharmak. 58 (1905).

S. 232). Die Hauptsache selbst hat also auch Küster bestätigen müssen.

Wir können nur noch einmal demgegenüber darauf hinweisen, daß wir sowohl aus dem Verdauungshämatin von Zeynecks, als aus Hämatin, das aus Hämin dargestellt war, Hämin erhielten, und zwar in guten Ausbeuten, die in den charakteristischen, rhombischen Täfelchen von brauner Farbe im durchfallenden und stahlblauer Farbe im auffallenden Lichte krystallisierte, und dessen Analysen gut stimmende Werte ergaben. Wir halten unsere Erkenntnis, daß Hämatin in Hämin verwandelt werden kann, in vollem Umfange aufrecht, und zwar ist dieses Resultat von uns auf zweierlei Wegen erzielt und unabhängig von uns auf einem dritten von Siewert bestätigt.

Für den diesen Untersuchungen ferner stehenden Leser sei erwähnt, daß die Schwierigkeit der hier einschlägigen Versuche darin besteht, daß einerseits durch Natronlauge aus dem Hämin schon bei Zimmertemperatur nicht nur Chlor, sondern auch Eisen abgespalten wird, bei niedriger Temperatur aber das Hämin nur schwer alles Chlor hergibt. Unser Hämatinpräparat enthielt z. B. nach der Analyse noch etwa 5 Proz. Hämin.

2. Über die Art der Bindung und die Wertigkeit des Eisens im Hämin und Hämatin und die Bildung von Hämatoporphyrin.

Im Hämatin müssen mindestens drei Hydroxyle angenommen werden, und zwar zwei, welche im gleichen Sinne und deren Wasserstoffatome als Ionen wirksam sind, und eines, welches in von den beiden anderen verschiedenem Sinne, und zwar als Hydroxylion funktioniert. Wie nämlich Nencki und Zaleski¹⁾ beobachteten, lassen sich im Hämin zwei Hydroxylwasserstoffatome durch Alkyl ersetzen unter Bildung von Äthern. Das Hämin ist vor der Alkylierung in fixem Alkali leicht

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. **30**, 385 und 427 (1900).

löslich, nach der Alkylierung unlöslich. Alkylierte Hämatine sind bisher unbekannt.

Es bleiben demnach beim Übergang von Hämatin in Hämin die beiden sauren Hydroxyle erhalten, das dritte Hydroxyl wird dagegen mittelst verdünnter Salzsäure oder Eisessig-Kochsalz durch Chlor ersetzt. Nimmt man aber das Eisen aus dem Hämatin heraus, so verschwindet mit dem Eisen diejenige Hydroxylgruppe, welche durch Chlor ersetzt werden kann. Der entstandene Körper, das Hämatoporphyrin, nimmt zwar Salzsäure auf, aber ohne daß Hydroxyl daraus verschwindet.

Es muß daher angenommen werden, daß im Hämatin ein Hydroxyl enthalten ist, das sich wie dasjenige eines Metallhydroxyds verhält, und welches an Eisen gebunden ist.

Im Hämatin und Hämin sind freie Carboxylgruppen *nicht* nachweisbar; denn das Hämin löst sich in Natriumcarbonat ohne Kohlensäureentwicklung und ist in kalter Natriumbicarbonatlösung völlig unlöslich. Wird dagegen aus dem Hämin Hämatoporphyrin durch Herausnehmen des Eisensatoms gebildet, so sind freie Carboxylgruppen nachweisbar. Das Hämatoporphyrin löst sich auch in Natriumbicarbonat unter Kohlensäureentwicklung, und die Carboxyle konnten von dem einen von uns und E. Quitmann durch Reduktion des Hämatoporphyrins in Form von Phonopyrrolcarbonsäure und Hämatopyrrolidinsäure bzw. durch Kalischmelze der letzteren in Form von Essigsäure nachgewiesen werden. Da also mit der Herausnahme des Eisensatoms zugleich Carboxylgruppen frei werden, so erscheint als nächstliegende und natürlichste Annahme, daß das Eisen im Hämin und Hämatin an diese Carboxylgruppen gebunden ist. Es stehen ihr aber Gründe entgegen, die dazu zwingen, sie fallen zu lassen. Das Hämin hat nur vier Sauerstoffatome; wenn dieselben als zwei Carboxylgruppen an Eisen gebunden wären, so blieben keine Hydroxylgruppen mehr übrig,

die das Hämin befähigten, Äther zu bilden. Solche Äther sind aber wirklich bekannt, wie oben erwähnt wurde.¹⁾ Es läßt sich dagegen beweisen, daß das Eisen im Hämin an die Imidogruppen von Pyrrolringen gebunden ist.

Das Hämin ist eine salzartige Verbindung, welche aber noch sauren Charakter besitzt, was sich durch seine Löslichkeit in Alkalien zu erkennen gibt, das gleiche gilt vom Hämatin. Dagegen sind die beiden Substanzen in verdünnten Säuren nicht oder so gut wie nicht löslich. Sobald aber das Eisen abgespalten und Hämatoporphyrin gebildet worden ist, verändert sich der Charakter des Moleküls sehr bedeutsam. Das Hämatoporphyrin ist nicht nur in Alkalien löslich und bildet zum Teil krystallisierte Salze, sondern es ist auch in verdünnten Mineralsäuren leicht löslich. Es bildet unter Aufnahme von 2 Mol. Salzsäure ein sehr charakteristisches Chlorhydrat. Es ist also unter Beibehaltung seiner sauren Eigenschaften auch basisch geworden. Diese Basizität kann nur den durch die Abspaltung des Eisens frei gewordenen Imidogruppen zugeschrieben werden.

Ferner gelang es Zaleski aus den von ihm entdeckten Äthern des Mesoporphyrins mit Schwermetallen krystallisierte Salze zu bilden. Diese Äther sind in Alkali unlöslich und haben keine an Sauerstoff gebun-

¹⁾ Willstätter hat neulich (diese Annalen 371, 50 [1910]) den Schlußsatz in einer meiner früheren Mitteilungen (Ber. d. d. chem. Ges. 42, 3257 [1909]). „Es ist nach der Entdeckung der Hämpyrrolcarbonsäure nichts natürlicher als anzunehmen, daß das Eisenatom im Hämin und Hämatin eben an diese beiden Carboxylgruppen gebunden ist usw.“ so gedeutet, als ob ich mich zu dieser Annahme bekennte. Dies ist ein Irrtum, was aus der mehrfach und auch schon früher zitierten Dissertation „über den Blutfarbstoff“, aus welcher die obige Argumentation mit herübergenommen ist, hervorgeht. Ich gebe zu, daß die Abfassung dieses Schlußsatzes ohne Kenntnis der Dissertation eine solch irrige Deutung zuläßt. Übrigens hat auch Willstätter (a. a. O.) die Fähigkeit des Hämins, Äther zu bilden, gegen jene irrige Hypothese ins Feld geführt. P.

denen Wasserstoffionen mehr. In ihnen muß also die Salzbildung an den Imidogruppen der Pyrrolringe stattfinden. Zudem zeigt das Eisensalz des Mesoporphyrins große Ähnlichkeit im Aussehen mit dem Hämin.

Das Eisen im Hämatin ist also einerseits an Hydroxyl, andererseits an zwei Pyrrolstickstoffatome gebunden und beim Übergang von Hämatin in Hämin wird dieses Hydroxyl durch Chlor ersetzt. Daß das Eisen an *zwei* Pyrrolringe gebunden ist, geht daraus hervor, daß es im Hämin und Hämatin in dreiwertiger und zwar ausschließlich in dreiwertiger Form enthalten ist.

Wir haben also für das Hämin und Hämatin folgende Schemata:

Durch Nencki und Sieber¹⁾ wurde gezeigt, daß bromwasserstoffhaltiger Eisessig das Hämin in die Farbstoffkomponente und Eisensalz zerlegt. Diese Zerlegung geht um so glatter, je konzentrierter die Bromwasserstofflösung ist, und je mehr man Erwärmung vermeidet. Diese Zerlegung liefert schließlich Hämatoporphyrin, und sie gestattet die Frage nach der Wertigkeit des Eisens im Hämin ganz sicher zu entscheiden. Wenn man die vollständig wasserfreie Lösung vom Bromwasserstoff höchstens bei Zimmertemperatur auf das Hämin einwirken läßt, die Lösung in Eiswasser gießt, und den Bromwasserstoff mit Natriumacetat wegnimmt, so entsteht eine hellrot gefärbte Lösung und ein grauvioletter Niederschlag. Beide enthalten Eisen, und zwar läßt sich durch Ferricyankalium in Lösung und Niederschlag keine Spur Ferrosalz nachweisen; während durch Ferrocyano-

¹⁾ Arch. f. experim. Pathol. 21, 432.

kalium das Eisen sich als Ferriverbindung zu erkennen gibt. Daran wird nichts geändert, auch wenn die Eisessig-Bromwasserstofflösung mehrere Monate bei Zimmertemperatur steht. In der mehrfach zitierten Dissertation hat der eine von uns dies Verhalten auch geschildert. Küster hat neuerdings in einer umfangreichen Versuchsreihe das Verhalten des Eisens bei seiner Abspaltung aus Hämin mit Säuren studiert. Er hat gefunden, daß nach dem Erhitzen der sauren Lösungen stets mehr oder weniger Ferrosalz nachweisbar ist. Es ist dies auch nicht anders zu erwarten, da ja besonders das Ferribromid als Bromüberträger und Oxydationsmittel bekannt ist. Küster glaubt unsere Beobachtung, daß das Eisen lediglich als Ferrisalz abgespalten wird, als mit dem Stempel des Zufälligen behaftet bezeichnen zu müssen (a. a. O. S. 233). Wir halten eine solche Charakterisierung für um so überflüssiger, als auch hier schließlich Küster unsere Beobachtungen bestätigen mußte.

Verwandlung von Hämin in Hämatoporphyrin.

Wir hielten uns im wesentlichen an die Vorschrift von Nencki und Sieber. Nur verwendeten wir ausschließlich unter sorgfältiger Vermeidung von Wasseranziehung mit gasförmigem Bromwasserstoff bei 0° gesättigten Eisessig und vermieden beim Auflösen des Hämins jede Erwärmung über Zimmertemperatur. Je 35 g Hämin wurden unter stetem Umrühren in 750 ccm Bromwasserstoff-Eisessig eingetragen. Wenn das verwendete Hämin rein ist, so vollzieht sich die Auflösung glatt und vollständig innerhalb 2—3 Tagen. Nach etwa sechstägigem Stehen wurde die dunkel kirschrote Lösung in ein Gemisch von 1 kg Eis und 1 Liter Wasser langsam und unter stetem Umrühren eingegossen. Dabei fällt ein dunkelvioletter flockiger Niederschlag aus, der bei häufigem Umrühren bis auf eine sehr geringe Menge harziger Bestandteile wieder verschwindet, sowie das Eis geschmolzen ist. Die dunkelviolette, filtrierte und

auf zwei, 10 Liter fassende, Glasstutzen verteilte Flüssigkeit wurde dann mit Wasser stark verdünnt (etwa 5 Liter pro Stutzen) und mit einer kalt gesättigten Natriumacetatlösung versetzt, bis keine erneute Fällung mehr eintrat und dann die Glasstutzen bis nahe unter den Rand aufgefüllt. Dieser Niederschlag hat eine viel hellere, mehr ins grauviolett spielende Farbe als das Hämatoporphyrin und ist eine Eisenoxydverbindung des letzteren, die, soviel wir wissen, bis jetzt¹⁾ noch niemals untersucht worden ist. Wäscht man diesen Niederschlag durch Dekantation aus, löst ihn in viel, sehr verdünnter Natronlauge, wie es von Nencki und Sieber angegeben ist und fällt die Lösung mit verdünnter Essigsäure, so erhält man das dunkel braunviolett niederfallende Hämatoporphyrin, das sich bei Einhaltung der oben geschilderten Versuchsbedingungen vollständig in stark verdünnter Salzsäure löst. In der ursprünglichen, vom eisenhaltigen Niederschlag filtrierten klaren Lösung läßt sich durch Ferricyankalium keine Spur Eisenoxydulsalz nachweisen, selbst wenn die Lösung des Hämins in Bromwasserstoffs-Eisessig monatelang gestanden hat, dagegen fällt mit Ferrocyankalium massenhaft Berlinerblau. In der Lösung ist also das abgespaltene Eisen vollständig als Ferriionen enthalten. Wäscht man den eisenhaltigen Niederschlag sorgfältig auf dem Filter mit kaltem Wasser aus, bis das Waschwasser keine Bromreaktion mehr gibt, so zeigt er sich vollständig bromfrei. Suspendiert man ihn in viel Wasser, erwärmt auf dem Wasserbade und gibt einige Tropfen Natronlauge hinzu, so entsteht die dunkelbraunviolette Lösung des Hämatoporphyrinnatriums, während Eisenhydroxyd zur Abscheidung gelangt. Filtriert man dasselbe und wäscht es mit Wasser vollständig aus, löst es wiederum in Salzsäure, so kann in dieser Lösung durch

¹⁾ Diese Verbindung hat der eine von uns erst nach Abfassung der Dissertation von P. Eppinger untersucht.

Ferricyankalium ebenfalls keine Spur Ferroionen nachgewiesen werden, während Ferrocyankalium einen dicken Niederschlag von Berlinerblau liefert. Übergießt man das eisenhaltige Hämatoporphyrin mit Wasser und fügt unter Erwärmung einige Tropfen Salzsäure hinzu, so löst es sich vollständig auf, indem die kirschrote Lösung des salzsauren Hämatoporphyrins entsteht; auf Zusatz von Ferrocyankalium in dieser Lösung entsteht abermals ein dicker Niederschlag von Berlinerblau, das Eisen ist also auch im Niederschlag ausschließlich in der Ferri-form vorhanden, und zwar nicht in komplexer, sondern in ionisierbarer Form. Es liegt ein Eisenoxydsalz des Hämatoporphyrins vor. Es wird also unter den angegebenen Bedingungen durch Bromwasserstoff-Eisessig aus dem Hämin das Eisen ausschließlich in der dreiwertigen Form abgeschieden. Für die Analyse wurde die Eisenverbindung erst im Vakuumexsiccator auf Ton bei gewöhnlicher Temperatur und schließlich bei 110° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, sie stellt dann ein braunviolettcs Pulver dar.

0,2833 g gaben 0,7167 CO₂ und 0,1445 H₂O.
 0,1349 g „ 12,10 cem Stickgas bei 18° u. 716,5 mm Druck.
 0,5491 g „ 0,0166 Fe₂O₃.

	Ber. für (C ₃₄ H ₃₅ N ₄ O ₅) ₃ Fe ^{III}	Gef.
C	68,27	68,99
H	5,85	5,70
N	9,31	9,88
Fe	3,12	2,11

Es liegt bisher nur eine Analyse vor, und das Eisen wurde nur durch Veraschen der Substanz bestimmt, so daß wir zugeben, die Formel der Verbindung bedarf noch einer Bestätigung. Aber soviel ist sicher, daß das Eisen dreiwertig salzartig gebunden ist, d. h. mit Wasser nicht ausgewaschen werden kann, und daß die Verbindung bromfrei ist. Der letztere Umstand ist besonders wichtig für die Beleuchtung des

Mechanismus der Hämatoporphyrinbildung.

Wenn aus dem Hämin $C_{34}H_{32}N_4O_4FeCl$ das Eisen durch Bromwasserstoff-Eisessig abgespalten und Hämatoporphyrin $C_{34}H_{38}N_4O_6$ gebildet wird, so erscheinen im Molekül die Elemente zweier chemisch gebundener Wassermoleküle. Wenn man die Reaktion mit Bromwasserstoff-Eisessig allein betrachtet, so liegt der Gedanke sehr nahe, daß die Hämatoporphyrinbildung sich so vollzieht, daß das Eisen von seiner Bindung an Stickstoff gelöst wird, daß sich an doppelte Bindungen Bromwasserstoff addiert, und daß endlich das Brom bei der nachfolgenden Einwirkung von Wasser und Alkali durch Hydroxyl ersetzt wird. Wir haben früher (Dissertation) einer solchen Auffassung auch das Wort geredet. Allein es stehen derselben so ernste Bedenken entgegen, daß sie fallen gelassen werden muß.

1. Es ist uns auf keine Weise gelungen, ein bromhaltiges Zwischenprodukt bei der Hämatoporphyrinbildung zu isolieren. Und es ist äußerst unwahrscheinlich, daß unter den milden Bedingungen, wie wir sie oben geschildert haben, an Kohlenstoff gebundenes Brom quantitativ durch Hydroxyl ersetzt wurde.

2. Auch durch andere konz. Säuren, wie Schwefelsäure oder Salzsäure, bei denen eine solche Additionsreaktion wohl als ausgeschlossen angenommen werden darf, wird aus Hämin Hämatoporphyrin gebildet.

3. Es sind zwar im Hämin Bindungen vorhanden, an welche ohne Sprengung des Moleküls Wasserstoff addiert werden kann; jedoch sind dieselben im Hämatoporphyrin erhalten.

4. Sowohl aus Hämin wie aus Hämatoporphyrin entsteht durch Jodwasserstoff und Jodphosphonium das Mesoporphyrin, das zwei Sauerstoffatome weniger als das Hämatoporphyrin, aber ebensoviel Sauerstoff wie das Hämin enthält.

Es bleibt also nichts anderes übrig als anzunehmen, daß im Hämin zwei phenolartige Hydroxylgruppen ent-

halten sind, an welchen die Ätherifikation vor sich geht, und daß die Carboxylgruppen gewissermaßen latent sind, etwa wie in einem Anhydrid oder Lactam. Mit der Abspaltung des Eisens findet Öffnung der Carboxylgruppen statt, und erst das Hämatoporphyrin ist eine richtige Säure. Für diese Auffassung spricht erstens das Verhalten des Hämins selbst, das in kalter Bicarbonatlösung völlig unlöslich ist, also wohl keine freien Carboxylgruppen enthalten kann, und zweitens, daß die vorhin beschriebene Eisenverbindung des Hämatoporphyrins bei der Analyse Werte ergibt, welche andeuten, daß erst eine Carboxylgruppe sich geöffnet hat, während die andere noch im Anhydridzustand geblieben ist.

Wir können also das vorhin gegebene Schema für Hämin noch erweitern, welches nun auch die Hämatoporphyrinbildung beleuchten wird.

Reduktion des Hämatoporphyrins mit Natriumamalgam.

(Nachweis additionsfähiger Bindungsstellen).

5 g gepulvertes, reines Hämatoporphyrin wurden in eine Stöpselflasche gebracht, die mit einem einfach durchbohrten Gummistöpsel versehen war, durch dessen Bohrung ein Glasrohr mit Hahn so eingeführt wurde, daß das in die Glasflasche führende Ende nicht über den Stopfen hervorragte. Das Hämatoporphyrin wurde mit 100 ccm Wasser übergossen und etwa 70 g 2,5prozentiges Natriumamalgam

hinzugefügt. Nach dem Schließen des Gefäßes wurde nun unter zeitweiligem Einstellen in Eiswasser so lange geschüttelt, bis die Lösung entfärbt war. Das Amalgam wird fast vollständig verbraucht und ebenso der daraus entwickelte Wasserstoff; während der ganzen Operation tritt in dem geschlossenen Gefäß kein nennenswerter Druck auf, es bildet sich kein Ammoniak und ebenso wenig Hämapyrrrol, das Molekül bleibt in seiner Größe erhalten. Aus der verbrauchten Menge Amalgam kann man die fixierte Menge Wasserstoff nicht ganz genau berechnen; doch kann man sagen, daß wahrscheinlich acht, sicher nicht weniger als sechs Wasserstoffatome von 1 Mol. Hämatoporphyrin verbraucht werden. Die Lösung verhält sich so, als ob sie die Leukobase des Hämatoporphyrins enthielte. Sie reduziert Fehlingsche Lösung und ammoniakalische Silberlösung beim Stehen in der Kälte. Verdünnte Säuren fällen aus der frisch reduzierten farblosen Lösung einen anfangs fast weißen, durch Oxydation an der Luft rasch braunrot werdenden Niederschlag aus.

Es gelang aber nicht, das Reduktionsprodukt in irgend eine analysierbare Form zu bringen wegen der außerordentlichen Begierde, Sauerstoff aus der Luft aufzunehmen. Es wurde deshalb das durch Oxydation mit Luftsauerstoff gewonnene Produkt untersucht. Dasselbe ist nicht identisch mit Hämatoporphyrin, sondern enthält ein Hydroxyl weniger als das letztere. Es ist also nur mit dieser Einschränkung richtig, daß die Reduktionsflüssigkeit die Leukobase des Hämatoporphyrins enthält.

Die oben beschriebene farblose, vom Quecksilber befreite Lösung wurde filtriert und längere Zeit Sauerstoff durchgeleitet, hierauf die rotbraune alkalische Lösung mit verdünnter Schwefelsäure schwach sauer gemacht; es fiel ein rotbrauner flockiger Niederschlag von der Farbe des Hämatoporphyrins aus, der nach dem Auswaschen und Trocknen bis zum konstanten Gewicht analysiert wurde. Die Analyse ergab die Formel $C_{34}H_{35}N_4O_5$.

- I. 0,2271 g gaben 0,5781 CO₂ und 0,1399 H₂O.
 0,1690 g „ 15,35 ccm Stickgas bei 15° u. 723 mm Druck.
 II. 0,2130 g „ 0,5411 CO₂ und 0,1328 H₂O.
 0,1956 g „ 18,5 ccm Stickgas bei 24° u. 716 mm Druck.

	Ber. für C ₃₄ H ₃₈ N ₄ O ₅	Gef.	
		I	II
C	70,10	69,42	69,24
H	6,52	6,84	6,90
N	9,62	10,11	9,97

Dieser Körper unterscheidet sich vom Hämatoporphyrin durch ein Minus von einem Sauerstoffatom, und die Zahlen stimmen gut überein mit denjenigen, welche der eine von uns für den früher¹⁾ als *Desoxyhämatoporphyrin* beschriebenen und auf anderem Wege erhaltenen Körper ermittelte. Auch im Aussehen und seinen chemischen Eigenschaften findet völlige Übereinstimmung statt, so daß wir nicht zweifeln, daß identische Substanzen vorliegen. Wir behalten deshalb den Namen *Desoxyhämatoporphyrin* auch für diesen Körper bei. Die alkalische Reduktionsflüssigkeit enthält also, richtiger gesagt, die Leukobase des Desoxyhämatoporphyrins. Chemisch hat es mit dem Hämatoporphyrin die Löslichkeit in Alkalien und Ammoniak gemein; es gelang aber nicht, krystallisierte Salze damit zu erhalten. Die Basizität hat aber im Vergleich zum Hämatoporphyrin abgenommen. In verdünnten Säuren ist die neue Substanz kaum löslich, in konz. Salzsäure tritt Lösung mit himbeerroter Farbe ein, beim Verdünnen mit Wasser fällt aber der größte Teil der Substanz wieder aus.

Wahrscheinlich findet bei der Reduktion des Hämatoporphyrins mit Natriumamalgam und der darauffolgenden Oxydation durch Luftsauerstoff ein Vorgang statt, der sich durch folgende Gleichungen veranschaulichen läßt:

¹⁾ Diese Annalen 366, 265 (1909).

Zum Schlusse sei noch erwähnt, daß auch das Hämin und Hämatin, mit Natriumamalgam reduziert, hier unter Abspaltung des Eisens die gleichen Erscheinungen liefern.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß das Hämatoporphyrin, das Hämin und Hämatin außer den Ringssystemen, deren notwendige Annahme früher schon diskutiert wurde, auch zwei oder wahrscheinlich drei ungesättigte Gruppen enthalten, die Wasserstoff addieren können, sondern auch, daß das Eintreten der Färbung an das Vorhandensein dieser ungesättigten Gruppen gebunden ist.

Darstellung von Hämin im größeren Maßstabe.

Zur Darstellung des Hämins im größeren Maßstabe bedienen wir uns stets der Schalfejeffschen Methode, die wir in einigen Punkten etwas modifizierten, so daß sie in kurzer Zeit ein Präparat lieferte von recht großer Reinheit, das ohne weiteres zur Darstellung von Hämatoporphyrin gut brauchbar ist.

Ein weithalsiger, 10 Liter fassender Glaskolben wird mittelst eines starken Statives in ein geräumiges Wasserbad gedrückt, dessen Siedetemperatur durch Zugabe von etwa 2 kg rohem Kochsalz zu 6 Liter Wasser auf etwa 105° erhöht wird. Durch den weiten Hals des Kolbens ist ein Glasrührer bis beinahe zum Boden eingesenkt, der so konstruiert ist, wie etwa eine dreiflügelige Schiffsschraube mit fest angeschmolzenen Flügeln. In den Hals des Kolbens ragt ein Tropftrichter, dessen oberes Gefäß zylindrisch ist und etwa $\frac{3}{4}$ Liter faßt, und dessen Ansatzrohr 5 cm unter dem Hahn zweimal rechtwinklig gebogen ist, so daß das Rohr nach der zweiten Biegung wieder nach abwärts gerichtet ist; am Ende ist dieses Rohr zu einer weiten Spitze ausgezogen. Der Tropftrichter muß so in den Kolbenhals hineingebracht werden, daß das ausfließende Blut direkt in den Kolbenbauch ohne Berührung des Rührers und der Gefäßwände fließen kann. Der Rührer wird mit Hilfe einer Trans-

missionsanlage an eine von einem Elektromotor oder einer Turbine angetriebenen Zentralwelle angekuppelt, so daß er die Flüssigkeit im Kolben in lebhafte Rotation versetzen kann. In den Kolben werden 4 Liter vorher auf dem Wasserbade angewärmter Eisessig gegeben und ein Reagensglas voll fein gepulvertem reinen Kochsalz hinzugefügt und dann das Rührwerk in Gang gesetzt. Sobald der Eisessig die Temperatur des Wasserbades angenommen und das Kochsalz fast vollständig in Lösung gegangen ist, läßt man aus dem Tropftrichter 1,6 Liter Blut in so dünnem Strahle in den heißen Eisessig fließen, daß in $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ Stunde diese Quantität Blut eingetragen ist und setzt dann das Rühren im kochenden Wasserbad noch $\frac{1}{4}$ Stunde fort.

Das Blut wird im Schlachthaus sofort durch Schlagen mit einem aus feinen Stäbchen gebildeten Besen defibriniert, im Kühlraum einige Stunden stehen gelassen und das überstehende Serum abgegossen. In diesem Zustande wurde es uns in Bleheimern stets angeliefert. Dann wird das Blut in hohe zylindrische Gefäße gegossen, auf dem Schaum eine kleine Quantität Äther gegeben und noch etwa 1—2 Stunden stehen gelassen, das Serum durch einen dünnen Heber abgesogen und das dergestalt abgesessene Blut durch den Tropftrichter in den Eisessig gegeben.

Ist diese Operation beendet, so werden Tropftrichter und Rührer aus dem Kolben herausgenommen derart, daß sie leicht ohne Veränderung ihrer Stellung wieder eingesetzt werden können zur Wiederholung der Prozedur. Der Eisessig hat dann eine dunkelbraune Farbe angenommen, und es schwimmen die glitzernden Krystalle des Hämins darin herum. Er wird in Dekantiertöpfe von passender Größe hineingegossen.

Wir konnten vier solcher Apparate zu gleicher Zeit in Betrieb setzen, und dieselben können leicht von einer Person bedient werden. Wir verwendeten Dekantiertöpfe aus Steinzeug von der Firma March & Söhne in Charlottenburg, die 40 Liter fassen können. Sobald

ein solcher Topf voll ist, muß er sofort durch einen Holzdeckel bedeckt werden, weil sich sonst eine fettige Substanz in wolkigen Schichten abscheidet, welche das Absetzen der feinen Häminkrystalle sehr verzögert oder gar verhindert und sich sonst auf der Oberfläche des stark verdunstenden Eisessigs eine Eiweißhaut bildet. Genügt die Flüssigkeit nicht, einen solchen Topf zu füllen, so muß man einen Holzdeckel vorrätig haben, den man in den Topf bis nahe über die Flüssigkeit einsenken kann. Man läßt nun 3 Tage das sich aus der erkaltenden Lösung abscheidende Hämin absitzen (bei Anwendung von Glasgefäßen unter Schutz vor direkter Bestrahlung durch die Sonne) und läßt die Flüssigkeit dann ab, indem man einen Abflußansatz des Dekantiertopfes nach dem anderen öffnet, bis man in der ablaufenden Flüssigkeit Häminkrystalle wahrzunehmen beginnt, füllt dann mit Brunnenwasser auf, läßt wieder absitzen und dekantiert und wiederholt diese Manipulation so oft, bis das ablaufende Wasser völlig klar und farblos ist. Dann vereinigt man die Quantitäten von 3—4 Dekantiertöpfen in einem 10 Liter fassenden Glasstutzen und dekantiert unter Zuhilfenahme eines Hebers noch 2—3 mal mit destilliertem Wasser, dem man pro 10 Literstutzen $\frac{1}{2}$ Liter Salzsäure zugesetzt hat. Dann wird das dunkelstahlblau aussehende Hämin auf großen Nutschen filtriert und so trocken wie möglich gesaugt.

Diesem Rohhämin ist immer in verschiedenen Mengen eine braune amorphe sehr voluminöse Substanz, die in Alkohol sehr schwer löslich oder unlöslich ist, und eine solche, die von Alkohol gelöst wird, beigemengt. Beide Substanzen stören die Verwendbarkeit des Hämins zur Darstellung von Hämatoporphyrin sehr empfindlich, indem sie die Auflösung des Hämins in Bromwasserstoffsäure ganz außerordentlich verzögern. Zur Entfernung dieser Substanzen wird die gesamte aus 150 Liter Blut stammende Quantität Hämin in einer großen Reibschale mit 96 prozentigem Alkohol angerieben, feinst verteilt und in einem

10 Liter fassenden Glasstutzen gegeben und mit 96 prozentigem Alkohol bis zum Rand aufgefüllt. Nach einem Tag hat sich das reine Hämin als teigige Masse auf dem Boden des Gefäßes abgesetzt, während der braune amorphe Körper vollständig suspendiert bleibt und eine geringe Menge der feinsten Häminkrystalle in Suspension hält. Auf diese wird keine Rücksicht genommen und der Alkohol so vollständig wie möglich von dem abgesessenen Hämin abgehebert. Nach nochmaliger Wiederholung dieser letzten Operation ist das Hämin sehr rein und löst sich in Bromwasserstoffsäure spielend leicht, und unter dem Mikroskop nimmt man keine amorphen Schollen mehr wahr. Nach dem Abnutschen und Auswaschen mit Äther wird das Hämin bei 80° getrocknet, bis die Klumpen staubförmig zerfallen. Bei gleichzeitiger Anwendung von vier der oben beschriebenen Apparate kann man leicht innerhalb 3—4 Tagen 150 Liter Blut (mit dem Serum gerechnet) mit 300 kg Eisessig so weit verarbeiten, daß sich die Eisessiglösung in den Dekantiertöpfen befindet. Nach weiteren 6—8 Tagen ist auch die Reinigungsarbeit beendet.

Aus 150 Liter Blut erhielten wir 1100 g Hämin, d. i. 7,33 g aus einem Liter Blut.

3. Abschnitt. Über die Konstitution des Hämatins, Hämins, Mesoporphyrins und Hämatoporphyrins.

Im ersten Teil dieser Mitteilung wurde auseinander gesetzt, daß Hämin, Hämatin und Hämatoporphyrin aus vier Pyrrolderivaten aufgebaut sind, und, soweit sie nicht eisenhaltig sind, sonst nichts enthalten. Und zwar sind diese vier Bausteine 2 Mol. Hämopyrrol (α, β' -Dimethyl- β -äthylpyrrol) und 2 Mol. Phonopyrrolcarbonsäure (α, β -Dimethyl- β' -propionylpyrrol). 1 Mol. Hämopyrrol und 1 Mol. Phonopyrrolcarbonsäure sind fester miteinander verbunden als das andere Paar dieser Komponenten, so daß das erste Paar bei der Reduktion mit Metall und Salzsäure in Form eines noch zusammenhängenden Komplexes erhalten wird, der sogen. Hämato-

pyrrolidinsäure, während das andere Paar einzeln voneinander losgelöst auftritt. Für die Hämatopyrrolidinsäure wurde mit sehr großer Wahrscheinlichkeit festgestellt, daß ihr die durch folgende Formel auszudrückende Konstitution zukommt.

In dieser Form ist die Hämatopyrrolidinsäure keinesfalls im Hämatoporphyrin enthalten; denn wegen des sehr reichlichen Zuwachses an Wasserstoffatomen bei der Aufspaltung des letzteren muß man annehmen, daß in dieser Verbindung, sowie in ihren Muttersubstanzen Hämatin und Hämin die Komponenten unter Bildung von neuen Ringen zusammengetreten sind.

Für die Hämatopyrrolidinsäure ist eine solche Ringbildung nur möglich, indem die Methylgruppe des Hämapyrrolrestes mit dem α -Wasserstoffatom des Phosphopyrrolrestes reagiert. Außerdem muß man in dem so gebildeten System, wie im zweiten Teil ausgeführt wurde, außer der Carboxylgruppe eine Hydroxylgruppe annehmen. Und ferner sollte das System, wie der Versuch der Reduktion des Hämatoporphyrins mit Natriumamalgam lehrt, ungesättigt sein. So ergibt sich als die wahrscheinlichste Form, in der der Hämatopyrrolidinsäurerest im Hämatoporphyrin enthalten ist, folgendes Formelbild:

Es ergibt sich also ein Derivat des Grundstoffes

für welchen ich in einer früheren Mitteilung¹⁾ den Namen Pyrindol vorgeschlagen habe; dasselbe leitet sich, wenn man den Sechsering für sich betrachtet, von *para*-Phenylendiamin ab.

Über die Art, wie nun das zweite Komponentenpaar mit diesem Grundkomplex zusammenhängt, könnte man die Hypothese aufstellen, daß sie an beiden Seiten des letzteren anhängen, etwa wie die Flügel eines Vogels an dem Körper desselben. Zu dieser Hypothese verlockt gewissermaßen die leichte Abspaltbarkeit der beiden Komponenten und der Umstand, daß sie bei der Abspaltung einzeln auftreten. Ich möchte indes diese Hypothese als unwahrscheinlich vorläufig beiseite lassen und zwar aus folgenden Gründen. Die Kombination der Komponenten mit dem Pyrindolderivat könnte nur auf zweierlei Weise erfolgen, entweder indem eine Seitenkette der Komponente, etwa eine Methylgruppe, in eine Seitenkette des Pyrindolderivates eingriffe, so daß man eine folgendermaßen schematisch dargestellte Kombination erhielte:

¹⁾ Ber. d. d. chem. Ges. **43**, 491 (1910).

oder indem eine Seitenkette des Pyrindolderivates in die ledige α -Stelle der Komponente eingriffe.

In beiden Schemata ist Py = Pyrindolderivat. Im Falle I würde man für das Hämatoporphyrin, und somit auch für das Hämin und Hämatin zu Gebilden gelangen, welche zwei ledige α -Stellungen in zwei Pyrrolkernen enthielten. Nun sind alle diejenigen Pyrrolderivate, wie mich namentlich meine synthetischen Versuche in dieser Reihe gelehrt haben, welche ein oder mehrere unsubstituierte Wasserstoffatome im Kern enthalten, sehr empfindlich gegen die Einwirkung von Luftsauerstoff. Deshalb ist im Hinblick auf die Rolle des Hämoglobins, im Organismus als Sauerstoffüberträger zu dienen, jede Formulierung für Hämatin und Hämin von vornherein äußerst unwahrscheinlich, welche solche ledige Substitutionsstellen enthält.

Im Falle II käme man zu Gebilden, welche um vier Wasserstoffatome zu viel enthalten und außerdem der Farbstoffnatur der in Betracht kommenden Körper wenig gerecht würden. Zudem lassen sich die Formulierungen nach Schema I und II schwer in Einklang bringen mit den Erscheinungen, welche ich¹⁾ und S. Merzbacher bei der Aufspaltung des Hämatoporphyrins mittelst Kali beobachteten; auf diese Erscheinungen werde ich bald näher zurückkommen. Diese Erscheinungen sprechen vielmehr zugunsten einer Auffassung, welche auch das zweite Paar der Komponenten, zwar auf eine etwas andere Art als das erste Paar, aber doch unter sich zusammenhängend, auftreten läßt.

Ich halte also nach dem bisherigen Stande unserer Kenntnis über diese Stoffe für wahrscheinlicher, daß das

¹⁾ Ber. d. d. chem. Ges. **42**, 3258 (1909).

Hämatoporphyrin aus zwei, zwar nicht völlig symmetrischen, aber doch sehr ähnlichen Hälften zusammengesetzt ist, von denen sich die eine von einem Pyrindol von oben angegebener Konstitution ableitet, das sich auf ein *Paraphenylendiamin* beziehen läßt. Für die andere Hälfte dagegen, die sich aus denselben Komponenten aufbaut wie die erste, und die leichter in diese Komponenten zerfällt, ist die wahrscheinlichste Hypothese ein Dihydropyrindol, das sich auf ein *Orthophenylendiamin* beziehen läßt, etwa in folgender Art:

Bei der Spaltung des Hämatoporphyrins mittels Kali wurden von mir und S. Merzbacher zwei Öle erhalten, von denen das niedriger siedende auf die Formel $\text{C}_6\text{H}_9\text{N}$ annähernd stimmende Zahlen ergab, während das andere recht gut auf die Formel $\text{C}_7\text{H}_{11}\text{N}$ stimmende Zahlen lieferte (erheblich besser als auf $\text{C}_8\text{H}_{13}\text{N}$, wie in der zitierten Mitteilung angenommen wurde). Der senkrechte Strich in obiger Formel deutet die Spaltung mittelst reduzierender Agentien in Hämopyrrol und Phonopyrrol-carbonsäure an, der horizontale die Spaltung mittelst Kali in ein Pyrrol $\text{C}_6\text{H}_9\text{N}$ und $\text{C}_7\text{H}_{11}\text{N}$.

Läßt man nun eine Methylgruppe dieses Orthopyrindols mit einer Methylgruppe des Parapyrindols unter Herstellung einer doppelten Bindung zusammentreten, so erhält man für das Hämatoporphyrin ein Formelbild, das alle bisher bekannten Eigenschaften dieses Körpers, soweit ich es übersehen kann, genügend zum Ausdruck bringt, und aus dem sich die Formeln

des Mesoporphyrins, des Hämins und Hämatins mit Klarheit entwickeln lassen.

Hämatoporphyrin $C_{84}H_{88}N_4O_6$

Ein solcher Körper kann sehr wohl ein Farbstoff sein, der bei der Reduktion ein Hydroxyl verliert und außer den hierzu erforderlichen Wasserstoffatomen noch vier oder sechs aufnehmen kann unter Bildung einer Leukobase, die an der Luft wieder 4—6 Wasserstoffatome verliert. Die Carboxylgruppen lassen die Bildung von Salzen und Äthern zu. Sind die Carboxylgruppen ätherifiziert, so bedingen die zwei noch vorhandenen Hydroxylgruppen nicht Löslichkeit in Alkalien. Es ist durchaus plausibel, daß ein solcher Körper bei energischer Reduktion in Hämatopyrrolidinsäure, Phonopyrrolcarbonsäure und Hämopyrrol zerfällt, daß er bei gelinder Reduktion zuerst das eine, dann das andere Hydroxyl einbüßt, ohne daß eine starke Veränderung im Charakter der Verbindung eintritt, ferner, daß das eine Hydroxyl leichter als das andere abgegeben wird. Von den vier Imidogruppen können zwei mit Salzsäure Salzbildung eingehen. Es ist ferner leicht erklärlich, daß bei der Oxydation zwei¹⁾ Moleküle Hämatinsäure gebildet werden, während das

¹⁾ Gegen diese Formulierung des Hämins und seiner Verwandten könnte man einwenden, daß sie keine Erklärung dafür zuläßt, daß W. Küster aus 1 Mol. Hämin 3—4 Mol. Hämatinsäure herausoxydiert hat, während die obige Formulierung nur 2 Mol. dieser Säure erwarten läßt. 100 g Hämin könnten nach meiner Formulierung höchsten 56 g Hämatinsäure ergeben, während Küster angibt, 70—80 g erhalten zu haben. Auf dieser Ausbeute fußt hauptsächlich die von Küster (Zeitschr. f. physiol. Chem. 55, 543 (1908) aus-

Oxydationsprodukt des Hämopyrrols das Äthylmethyleinimid sich aus diesem Komplex nicht bilden kann, und in der Tat auch nicht gefunden wird, weil das in β -Stellung befindliche Methylkohlenstoffatom des Hämopyrrolkomplexes bereits hydroxyliert ist, und deshalb der weiteren Oxydation verfällt. Es ist ferner erklärlich, daß die Carboxylgruppen mit benachbarten Imidogruppen eine lactamartige Verkuppelung eingehen, daß damit der acidifizierende Einfluß der Carboxylgruppen sehr eingeschränkt wird und nun Ätherifizierung an den Hydroxylen möglich ist, und daß beim Latentwerden der Carboxylgruppen die Hydroxylgruppen die Löslichkeit der Stoffe in Alkalien bewirken werden.

Durch Herausnahme der einen Hydroxylgruppe entsteht das Desoxyhämatoporphyrin und durch Herausnahme beider das Mesoporphyrin:

gesprochene, meiner Meinung nach irrige, Anschauung, daß im Hämin ein Komplex enthalten sein müsse, der befähigt wäre, bei der Reduktion Hämopyrrol, bei der Oxydation aber Hämatinsäure zu liefern; eine Anschauung, der die obige Formulierung ebenfalls nicht gerecht würde im Sinne Küsters. Nun muß aber die Ausbeuteberechnung Küsters (Zeitschr. f. physiol. Chem. **44**, 417 [1905]) an sich starke Bedenken hervorrufen. Er erhielt tatsächlich nur 64,5 Proz. des angewandten Hämins an Rohsäure (gewogen als Verdampfungsrückstand des Ätherrückstandes, der erfahrungsgemäß ziemlich viel nicht krystallisierende Beimengungen enthält). Diese Menge ging bei weiterer Reinigung auf 38,5 Proz. zurück (ebenfalls gewogen als Verdampfungsrückstand des Ätherextraktes). Selbst wenn man diesen letzteren Verdampfungsrückstand als reine Hämatinsäure betrachtet, so bleibt die Ausbeute an nachweislich erhaltener reiner Säure soweit hinter der Theorie für 2 Mol. (56 Proz.) zurück, daß nichts zu der Annahme berechtigt, daß bei der Oxydation von Hämin mehr als 2 Mol. Hämatinsäure entstehen oder, daß im Hämin ein Komplex enthalten sein müsse, der bei der Reduktion Hämopyrrol, bei der Oxydation Hämatinsäure liefern könne. Auch Willstätter und Asahina (diese Annalen **373**, 237 [1910]) haben bei der Oxydation von Hämin nur 32 Proz. reiner Hämatinsäure erhalten. Dem kann ich hinzufügen, daß meine Ausbeuten an reiner Hämatinsäure, auch nach dem Küsterschen Verfahren, 35 Proz. niemals überstiegen.

Mesoporphyrin $C_{34}H_{38}N_4O_4$

durch Lactambildung der beiden Carboxyle und gleichzeitigen Ersatz zweier Imidowasserstoffatome durch die zweiwertige Gruppe $FeCl$ das *Hämin*:

Hämin $C_{34}H_{32}N_4O_4FeCl$

bzw. durch Ersatz des Chloratoms durch Hydroxyl das *Hämatin*

Hämatin $C_{34}H_{33}N_4O_5Fe$.

Ob nun im Hämin und Hämatin das Eisenatom außer den drei Hauptvalenzen noch Nebenvalezen betätigt, halte ich für eine nebensächliche und experimentell schwer zu begründende Frage. Mir scheint eine solche Annahme vorläufig überflüssig, und ich lasse sie dahingestellt; sollte wirklich eine solche Annahme nötig werden, so bietet die oben erläuterte Formel an den beiden Lactamstickstoffatomen solchen Nebenvalezen Gelegenheit der Betätigung.

Es wäre aber denkbar, daß solche möglichen Nebenvalezen erst bei der Bindung der Eiweißkomponente, des Globins, an die eisenhaltige Komponente zur Inanspruchnahme gelangen. Das Globin würde die Funktion haben,

gleichsam wie ein Schwamm den Sauerstoff aus der Luft aufzusaugen, teilweise in den Falten des großen Moleküls adsorbiert zu bewahren, teilweise dem Eisenzentrum zuzuführen, wo immer 1 Mol. Sauerstoff festgehalten wird und das Oxyhämoglobin bildet. Daß der Sauerstoff in diesem letzteren Körper molekular gebunden ist, scheint mir mit Sicherheit daraus hervorzugehen, daß er durch 1 Mol. Kohlenoxyd verdrängt und ersetzt werden kann, und diesem das gleiche Schicksal durch 1 Mol. Stickoxyd bereitet wird.

(Geschlossen den 26. November 1910.)