

Untersuchungen über den Blutfarbstoff.

(Erste vorläufige Mitteilung).

Von

J. Hetper und **L. Marchlewski.**

(Vorgelegt der Akademie der Wissenschaften zu Krakau in der Dezembersitzung 1903.)
(Der Redaktion zugegangen am 3. Januar 1904.)

In der vorliegenden vorläufigen Mitteilung beabsichtigen wir die Resultate mitzuteilen, welche wir beim Studium der Frage nach dem gegenseitigen Verhältnis des sogenannten Mörnerschen β -Hämins und des Acethämins von Nencki und Zaleski erhalten haben. Dem letzteren wird bekanntlich die Formel $C_{34}H_{33}O_4N_4FeCl$ zugeschrieben, während das Mörnersche Hämmin nach Nencki und Zaleski als ein Äthyläther des Acethämins aufzufassen ist. Letzterer Annahme widerspricht W. Küster und scheint im β -Hämmin ein Hämmin sui generis zu erblicken. Unter solchen Umständen war es zweckmäßig, den wahren Tatsachenbestand womöglich aufzuklären, besonders da den letzten Publikationen von Zaleski gemäß die Bezeichnung Acethämmin eigentlich gegenstandslos ist und das unter diesem Namen bekannte Produkt als das erste gefärbte Spaltungsprodukt des Hämoglobins aufzufassen ist, welches glatt in Hämatoporphyrin übergeht.

Unseren Erfahrungen gemäß ist die Zusammensetzung des nach Mörners Grundidee darstellbaren Hämmins in hohem Grade von physikalischen Umständen abhängig, und es gelang uns niemals, ein Produkt zu erhalten, welches ganz frei von Äthoxyl gewesen wäre. Andererseits glauben wir, daß die Behauptung: Mörners Hämmin wäre der Monoäthyläther des Acethämins, ohne weiteres nicht Geltung haben kann, denn auch unter den günstigsten Bedingungen ist es uns nicht immer gelungen, ein Präparat zu erhalten, dessen Zusammensetzung auf die eines

Athyläthers des Acethämins paßt. Wir glauben vielmehr, daß Hämine, welche nach der Grundidee der Mörnerschen Methode dargestellt worden sind, eine Mischung von verschiedenen Atherifikationsstufen des Acethämins mit letzterem selbst sind, denn es gelang uns in einigen Fällen, aus denselben Acethämin zu isolieren.

Acethämin. 1 l Eisessig wurde mit Kochsalz gesättigt, auf 95° erwärmt und mit 200 ccm Blut (defibriniert) versetzt. Die Mischung wurde von neuem auf 95° erwärmt und der Kristallisation überlassen. Die erhaltenen, gut entwickelten Kristalle entsprachen ganz der Beschreibung des Acethämins von Nencki und Zaleski. Die Kristalle wurden nach Schalfejews Methode unkristallisiert und ergaben bei der Analyse: 62,35%, 62,65%, 62,34% C (nach Messinger), 8,20%, 8,76%, 8,57% N, 8,80% Fe und Spuren OC_2H_5 .

Hämine nach Mörners Grundidee dargestellt.

1. Versuch. $1\frac{1}{2}$ l Wasser wurden auf 95° erwärmt, durch Zusatz von 50 ccm 1%iger Schwefelsäurelösung angesäuert und mit 500 ccm defibriniertem Blut versetzt. Die gebildete Fällung wurde in einer Filterpresse abfiltriert, mit 250 ccm Alkohol verrieben und wiederum abgepreßt. Der Preßkuchen wurde in 800 ccm Alkohol verteilt, welcher mit 8 ccm konzentrierter Schwefelsäure versetzt war, eine Stunde lang kräftig gerührt und filtriert. Das Filtrat wurde zum Sieden erhitzt mit 4 ccm 25%iger Salzsäure versetzt und der Kristallisation überlassen. Die erhaltenen Kristalle waren nicht einheitlich und nicht gut entwickelt. Nadeln waren vorherrschend. Analysen ergaben: 63,34%, 63,10%, 63,79% C (nach Messinger), 8,54%, 8,19% N und 1,72 bzw. 1,81% OC_2H_5 .

2. Versuch. Diesmal wurde analog verfahren wie beim ersten Versuch, aber der Salzsäurezusatz geschah bei 24° und die Lösung verblieb bei dieser verhältnismäßig niedrigen Temperatur 24 Stunden lang. Jetzt wurden nahezu rechtwinklige Platten erhalten, deren Analyse ergab: 63,21%, 63,28% C (nach Messinger), 8,7% N und 1,06% bzw. 1,13% OC_2H_5 .

3. Versuch. Die Behandlung mit Salzsäure geschah diesmal bei noch niedrigerer Temperatur, nämlich bei 14° , und die Flüssigkeit wurde bei dieser Temperatur während 24 Stunden stehen gelassen. Erhalten wurde ein amorphes Produkt, das weder aus Alkohol noch aus Eisessig kristallisiert werden konnte.

4. Versuch. Der Vorgang war dem des 2. Versuches analog, aber der Zusatz von Salzsäure geschah bei Kochtemperatur, welche noch $1\frac{1}{2}$ Stunden angehalten wurde. Resultat — amorphes Produkt von der Zusammensetzung: $64,76\%$ C, $7,54\%$ N, $3,61\%$ OC_2H_5 .

5. Versuch. Jetzt wurde wie bei Versuch 2 verfahren, aber der Zusatz von Salzsäure geschah bei 50° , und die Lösung langsam abgekühlt. Erhalten schön ausgebildete Kristalle ähnlich denen, die beim 2. Versuch erhalten wurden. Dieselben wurden nach einer Methode umkristallisiert, welche der von Schalfejew nachgebildet war, aber anstatt Chinin wurde Ammoniak und anstatt Chloroform — Wasser benutzt. Auf 4 g Hämin kamen 5 ccm konz. Ammoniaklösung und 200 ccm Wasser. Die erhaltene Masse, die etwas Ungelöstes enthielt, wurde schnell filtriert und in mit NaCl gesättigten Eisessig eingegossen. Die erhaltenen prächtig ausgebildeten Kristalle erinnerten in allen Stücken an Acethämin und ergaben bei der Analyse: $62,94\%$ C, $8,12\%$ N und $0,3\%$ OC_2H_5 .

Die Umwandlung resp. Isolierung des Acethämins gelingt noch leichter bei Anwendung der entsprechenden Bromverbindung.

6. Versuch. $2\frac{1}{2}$ l einer alkoholischen Häminlösung, nach Versuch 1 bereitet, wurde mit einer 10% igen Lösung von Bromwasserstoffsäure in folgender Art behandelt.

a) $\frac{1}{2}$ l der Häminlösung wurde sofort mit 15 ccm der obigen Bromwasserstoffsäurelösung versetzt und der Kristallisation überlassen. Die erhaltenen Kristalle waren nicht einheitlich, vorwiegend lagen flache Prismen vor, welche $2,25\%$ OC_2H_5 enthielten.

b) 2 l der Häminlösung wurden auf 50° erwärmt und mit 50 ccm der Bromwasserstoffsäure versetzt. Jetzt wurden würfelförmige Kristalle erhalten, die $6,0\%$ OC_2H_5 aufwiesen.

c) Die Mutterlauge von b enthielt noch eine anscheinliche

Quantität von Farbstoff: sie wurde mit Salzsäure behandelt. Nach längerem Stehen schieden sich Kristalle als Nadeln und Würfel ab, die in Alkohol gelöst wurden, und die Lösung wurde nach Zusatz von Salzsäure längere Zeit gekocht. Nach dem Abkühlen wurden Würfel erhalten, die 8,9% OC_2H_5 enthielten.

7. Versuch. 2 g des Präparats 6b wurden unter Zusatz von 2 g Chinin in 100 ccm Chloroform gelöst und die Lösung in eine siedende eisessigsäure Lösung (500 ccm) von KBr eingetragen. Nach dem Abkühlen erhielten wir gut entwickelte Kristalle, die in allen Stücken an die des Acethämins erinnerten, aber auch nicht ganz einheitlich waren, was daraus zu schließen ist, daß sie 59,66% C und 0,89% OC_2H_5 enthielten. Es kann aber keinem Zweifel unterliegen, daß hier ein Analog des Acethämins vorlag, in welchem das Chlor durch Brom, wenn auch nicht vollständig, ersetzt war. Eine zweite Kristallisation, zu der das Material leider nicht ausreichte, hätte wohl ein vollkommen einheitliches Produkt ergeben.

Wie vorhin schon erwähnt, ist Acethämin höchst wahrscheinlich das erste gefärbte Spaltungsprodukt des Hämoglobins und sollte kurzweg Hämin genannt werden. Wie wahrscheinlich diese Annahme auch sein mag, der exakte Beweis derselben ist schwieriger zu erbringen. Wir haben versucht, dieselbe auf einem indirekten Wege zu beweisen, nämlich durch den Nachweis, daß die Natur der verwendeten organischen Säure von keinem Einfluß auf die Zusammensetzung des entstehenden Hämins ist, und benutzten hierzu anstatt Essigsäure Propionsäure. Der Versuch ist insofern günstig ausgefallen, als das erhaltene Hämin ganz wie das nach der gewöhnlichen Methode dargestellte Acethämin aussieht, aber eine Durchanalyse mehrerer Präparate wird uns erst die Identität beider Substanzen erbringen. Über die erhaltenen Resultate, wie auch die spektroskopischen Studien der verschiedenen Hämine soll später berichtet werden.

Krakau, im Dezember 1903.