

Zur Kenntnis des Blutfarbstoffs. Über die Formel des Hämins.

(Zweite vorläufige Mitteilung.)

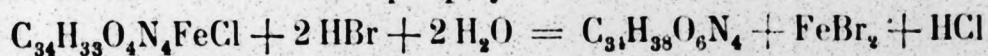
Von

J. Hetper und L. Marchlewski.

(Vorgelegt der Akademie der Wissenschaften zu Krakau in der Sitzung vom 9. Mai 1904.)

(Der Redaktion zugegangen am 16. Mai 1904.)

In unserer vorigen Mitteilung¹⁾ über den Blutfarbstoff haben wir gezeigt, daß Mörners Hämin ein Produkt ist, welches in sehr naher Beziehung zum sog. Acethämin steht, daß seine Zusammensetzung sehr von den physikalischen Bedingungen abhängt, unter welchen dasselbe dargestellt wird, und daß es in den meisten Fällen nur sehr wenig OC_2H_5 -Gruppen enthält, obwohl es niemals frei von Äthoxyl ist. Außerdem gelang es uns, zu zeigen, daß es möglich ist, Mörners Hämin in Acethämin umzuwandeln, und dann blieb nur noch die Frage offen, ob Acethämin das erste gefärbte Spaltungsprodukt des Hämoglobins ist, oder ob, wie der Name anzeigt, das Essigsäureradikal ein integrierender Bestandteil desselben bildet. Angesichts der Unmöglichkeit, die Anwesenheit einer am Kohlenstoff oder Stickstoff haftenden Acetylgruppe durch Verseifungsversuche nachzuweisen, waren Nencki und Zaleski²⁾ geneigt, anzunehmen, daß in Wirklichkeit die genannte Gruppe abwesend ist, obwohl die Möglichkeit, daß der $\text{CH}_3 \cdot \text{CO}$ -Rest am Kohlenstoff befestigt ist, nicht abzuweisen war. Mehr beweisende Gründe bewogen später Zaleski,³⁾ dieselbe Annahme zu machen. Dieser Forscher kam zur Überzeugung, daß die Spaltung des «Acethämins» in Hämatoporphyrin nach der Gleichung:



¹⁾ Bull. intern. de l'Acad. des Sciences de Cracovie, Dezember 1903.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXX, 408 (1900).

³⁾ Bull. intern. de l'Acad. des Sciences de Cracovie, 1902, S. 512.

vor sich geht, und da das aus «Acethämin» dargestellte Hämatoporphyrin in allen Stücken dem Hämatoporphyrin ähnelte, welches aus Häminen dargestellt wurde, die ohne Zuhilfenahme von Essigsäure bereitet waren, so schloß Zaleski, daß Essigsäure bei der Darstellung des Acethämins keine, im wahren Sinne des Wortes chemische Rolle spielt. Diese Untersuchung von Zaleski kann jedoch trotz ihrer Gründlichkeit und der großen experimentellen Fertigkeit des Verfassers unserer Ansicht nach noch nicht ausreichen, um die uns interessierende Frage zu erledigen. Der Beweis gründet sich hauptsächlich auf der Analyse des Hämatoporphyrins und des Mesoporphyrins, also von Körpern, welchen frühere Untersuchungen wesentlich abweichende Formeln zugeschrieben haben. Ebenso können die neuesten Küsterschen interessanten Untersuchungen als wenig beweisend gelten, denn in allen Fällen werden die Hämine, welche ursprünglich nach verschiedenen Methoden dargestellt waren, schließlich durch Kristallisation aus Eisessig gereinigt, wobei also die Einführung des Acetylrestes möglich war. Trotz der Bemühungen verschiedener Forscher konnte also die Frage nach der Zusammensetzung des einfachsten Hämins nicht als erledigt betrachtet werden. Unsere eigenen Untersuchungen, zu deren Beschreibung wir jetzt übergehen, deren Beweiskraft wie wir glauben, bindend ist, führen uns zum Schlusse, daß die Zusammensetzung des einfachsten Hämins tatsächlich, wie Zaleski annahm, durch die Formel $C_{34}H_{33}O_4N_4FeCl$ wiedergegeben wird. Unser Beweis ist folgender: Im Falle die Essigsäure bei der Darstellung des Acethämins die Rolle eines synthetischen Agens spielt, dann sollte jede andere Säure von ähnlichen Eigenschaften sich ähnlich dem Oxyhämoglobin gegenüber verhalten, d. h. es müßte, allgemein gesprochen, ein Acylhämin entstehen, welches von dem Acethämin verschieden sein sollte. Propionsäure sollte in diesem Falle ein Propiohämin bilden. Tatsächlich sind aber die mit Essigsäure und Propionsäure dargestellten Hämine vollständig identisch.

Zur Darstellung von Hämin unter Zuhilfenahme von Propionsäure verfahren wir wie folgt: 1 l Propionsäure wurde mit Kochsalz gesättigt und nach dem Erwärmen auf 95° mit

200 ccm Blut versetzt. Die Mischung wurde wiederum auf die Temperatur von 95° gebracht und nach dem Filtrieren der Kristallisation überlassen. Nach zweitägigem Stehen wurden die Kristalle abfiltriert und die Mutterlauge behufs Regenerierung der Propionsäure mit Calciumchlorid übersättigt, die obere Schicht abgehoben und durch Destillation rektifiziert. Es wurden ca. 800 ccm Propionsäure wieder gewonnen, diese mit 200 ccm frischer Propionsäure auf 1 l gebracht und wiederum mit 200 ccm Blut wie vorher behandelt. Diese Operation wurde dann noch einmal wiederholt. Im ganzen wurde erhalten:

1. Darstellung: 0,515 g Hämin
2. » : 0,535 » »
3. » : 0,750 » »

Das erhaltene Hämin war vollständig rein. Unter dem Mikroskop untersucht, erwiesen sich alle drei Präparate vollständig einheitlich, amorphe Beimengungen wurden nicht bemerkt. Die Kristalle waren etwas größer als die des sog. Acet-hämins, aber sonst vollkommen mit letzteren identisch, wie aus den unserer Abhandlung im Bull. de l'Acad. des Sciences de Cracovie Mai 1904 beigefügten photographischen Aufnahmen ersichtlich ist. Fig. 1 und 2 repräsentieren Hämin, welches mit Hilfe von Propionsäure dargestellt war, 3 «Acethämin» und 4 «Acethämin» aus Mörners Hämin bereitet. (Das zur letzten Aufnahme dienende Präparat war leider alt und die Kristalle teilweise zerbrochen.)

Die Zusammensetzung entspricht genau der Formel $C_{34}H_{33}O_4ClFe$, wie aus folgender Zusammenstellung ersichtlich ist:

1. 0,1291 g gaben 0,2960 g CO_2 (nach Messinger)
2. 0,1430 » » 0,3262 » » » » » »
3. 0,1254 » » 0,4912 » » und 0,1071 g H_2O und 0,0261 g Fe_2O_3
4. 0,2110 » » 16,3 ccm N ($t = 16,5^\circ$, $p = 744$ mm).

1. C = 62,53%	2. = 62,21%	3. = 62,65%	$C_{34}H_{33}O_4ClFe$	$C_{35}H_{35}O_4ClFe$
Mittel: C = 62,46%			62,48%	63,03%
2. H = 5,52%			5,06%	5,25%
3. Fe = 8,49%			8,59%	8,40%
4. N = 8,64%			8,60%	8,40%

Die physikalischen Eigenschaften beider Hämine, ob mit Hilfe von Propionsäure oder Essigsäure dargestellt, sind voll-

ständig identisch. Die Spektren sind nicht voneinander zu unterscheiden. In verdünnten Chloroformlösungen, welche in der Weise hergestellt wurden, daß zur Lösung von den Häminen in Chloroform + Chinin einige Tropfen Essigsäure zugesetzt wurden, wurden 3 Bänder beobachtet, deren Lage durch die folgenden Wellenlängen charakterisiert sind:

Band I: λ —655—630

• II: λ —555—534

• III: λ —524—497.

In konzentrierteren Lösungen, in denen Bänder II und III zusammenfließen, erscheint noch ein sehr schwaches Band auf der Na-Linie. Der Dimethyläther des Hämins, welchen wir nach den Angaben von Nencki und Zaleski darstellten, zeigt übrigens ein kaum von dem obigen abweichendes Spektrum. Die genannten Autoren fanden für Alkohol-Chloroform-Lösungen folgende Zahlen:

Band I: λ —647—630

• II: λ —561—538

• III: λ —518—500.

Die Lösung des Hämins in Chloroform bei Anwesenheit von Chinin, Cinchonin oder Ammoniak zeigt ein wesentlich abweichendes Spektrum, auch die Farbe der Lösungen erhält einen rötlichen Ton. Die hinreichend verdünnte Lösung zeigt zwei Bänder:

Band I: λ —615—582

• II: λ —506—475.

Das zweite Band ist schlecht definiert. Ganz ähnlich verhalten sich auch die Lösungen von Dimethylhämin. Zusatz von Essigsäure verursacht, wie bereits erwähnt, eine Zurückbildung des dreibandigen Spektrums.

Die alkoholischen Lösungen von Hämin, sowie auch dessen Dimethyläther zeigen ein ganz abweichendes Spektrum von dem der alkoholischen. Das erste Band ist nach Violet hin verschoben, so daß das weniger gebrochene Band des ersten Bandes in dieselbe Lage zu liegen kommt, wie das mehr gebrochene Band des ersten Bandes der Chloroformlösung. Im Grün und Blau sind keine zwei Bänder zu beobachten, sondern nur eines,

welches weiter nach dem Violet hin verschoben ist, als das dritte Band der Chloroformlösung.

Im Ultraviolett werden sehr charakteristische Absorptionen beobachtet. Die Eisessig- und Chloroformlösung von Hämin oder dessen Dimethyläther erzeugt, in äußerst verdünnten Lösungen angewandt, ein Band auf der Tl-Linie. Ein Zusatz von Chinin zur letzteren verursacht die Verschiebung desselben auf die K_{β} -Linie.¹⁾

Nachdem die empirische Formel des Hämins in dieser Weise als aufgeklärt zu betrachten ist, werden wir versuchen, das Molekulargewicht desselben wenigstens auf indirektem Wege zu bestimmen.

Zum Schluß müssen wir noch auf ein Mißverständnis zurückkommen, welches in unserer ersten Mitteilung enthalten ist. Wir schrieben Küster die Angabe zu, daß Mörners Hämin eine Substanz sui generis sei: diese unsere Annahme erweist sich, wie wir aus der letzten Abhandlung Küsters²⁾ ersehen, als irrtümlich. Unsere unrichtige Interpretation der Küsterschen Ansicht findet ihre Ursache in der nicht genügend präzisen Äußerung dieses Verfassers, bezüglich des Mörnerschen Hämins in seiner vorläufigen Mitteilung.³⁾ Tatsächlich sind unsere Resultate mit denen von Küster im großen und ganzen übereinstimmend, denn wir kommen beiderseits zu der Ansicht, daß man aus Mörners Hämin «Acethämin» erhalten kann. Der Unterschied in unseren Resultaten besteht darin, daß wir im Mörnerschen Hämin immer OC_2H_5 -Gruppen fanden, obwohl die Menge derselben in einigen Fällen sehr gering war, während Küster dieselbe für frei von OC_2H_5 -Gruppe erklärt. Unsere diesbezüglichen Resultate halten wir übrigens durchaus aufrecht.

Krakau, den 11. Mai.

¹⁾ Vgl. Bull. intern. de l'Acad. des Sciences de Cracovie, Mai 1904, Tafel V. Siehe auch Gamgee. Z. f. Biologie 1896, S. 505.

²⁾ Diese Zeitschrift, 40, 391 (1903/4).

³⁾ Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., 35, 2948 (1902).