

Über Darstellung von Hämatoporphyrin aus Kohlenoxydblut.

Von
Vinzenz Arnold.

(Aus der Abteilung für Infektionskrankheiten des allgemeinen Krankenhauses in Lemberg.)

(Der Redaktion zugegangen am 6. Oktober 1912.)

Das nach Mulder und Hoppe-Seyler durch Einwirkung von Schwefelsäure auf Blut oder Blutfarbstoff erhaltene Hämatoporphyrin ist regelmäßig durch braungefärbte Produkte verunreinigt. Ein farbenreines und für spektroskopische Beobachtungen sehr geeignetes Hämatoporphyrin läßt sich aber erhalten, wenn vorher der Sauerstoff des Blutes vollständig verdrängt wird. Es kann dies am leichtesten und vorteilhaftesten durch vollständige Sättigung von defibriertem menschlichen Blut mit Kohlenoxydgas erreicht werden; es ist dabei gleichgültig, ob dazu reines aus Oxalsäure entwickeltes CO oder Leuchtgas verwendet wurde; mit Leuchtgas behandeltes Blut schien sogar gegen Fäulnis widerstandsfähiger zu sein, als mit reinem CO gesättigtes Blut. Das nach einigem Stehen sich abscheidende Serum wird abgossen, da es vorteilhafter ist, ein mehr konzentriertes Blut zu verwenden. Man trägt das Blut portionenweise in konzentrierte Schwefelsäure ein und verreibt es sogleich bis zur vollständigen Lösung mit der Säure. Man erhält eine klare kirschrote oder himbeerrote Hämatoporphyrinlösung; eine verdünnte Probe ist rosaviolett und zeigt das saure Hämatoporphyrinspektrum mit großer Schärfe. Man trägt das Blut so lange ein, bis eine Probe in Wasser gegossen das Hämatoporphyrin in ziemlich derben, roten Flocken ausfallen läßt. Vor dem Eingießen der Lösung in Wasser hat man sich noch durch spektroskopische Untersuchung einer Probe von der Abwesenheit von Hämatin zu überzeugen; Hämatin könnte sich bei ungenügender Einwirkung der Schwefel-

säure bilden, die himbeerrote Färbung der Lösung läßt aber schon auf Abwesenheit von Hämatin schließen. Um das Hämatoporphyrin auszufällen, wird jetzt destilliertes Wasser in die Lösung gegossen; es fällt dabei zugleich mit dem in der Schwefelsäure gelösten Bluteiweiß fast alles Hämatoporphyrin in Gestalt von rosavioletten Flöckchen aus, die die Neigung zeigen, sich zu derberen, dunkelroten Flocken zusammenzuballen. Man bringt diese auf ein Filter und wäscht sie hier mit oft erneuertem Wasser, welches rasch abgegossen wird, da die ausgeschiedenen Flocken die Neigung haben, sich in der sauren Flüssigkeit wieder teilweise aufzulösen. Da das ausgeschiedene Hämatoporphyrin dem Filter ziemlich fest anhaftet, so ist dies unschwer durchzuführen. So lange den Flocken noch etwas Säure anhaftet, lösen sie sich unschwer in Wasser oder verdünntem Alkohol. Eine solche Lösung ist von rosavioletter Färbung, in stärkerer Konzentration kirschfarben. Auf vorsichtigen Zusatz von Bromwasser geht die rosenrote Färbung einer solchen Lösung in Violett über, während gleichzeitig bei spektroskopischer Untersuchung derselben ein dunkles Absorptionsband nahe bei C auftritt; auf weiteren Bromzusatz wird die violette Farbe unrein und geht schließlich in Grün über.

Auch die alkalische Lösung des Farbstoffes ist von rein roter Färbung, ohne jedoch den lebhaften Farbenton einer sauren Lösung zu erreichen. Eine verdünnte alkalische Lösung ist rosarot. Es verhält sich also in dieser Hinsicht dieses aus Kohlenoxydblut gewonnene Hämatoporphyrin wie jedes andere reine Hämatoporphyrinpräparat, sei dasselbe aus Harn nach dem Garrodschen Verfahren, oder aus Hämin nach der Vorschrift von Nencki und Sieber dargestellt.

Ein mit Kohlenoxyd gesättigtes Blut läßt sich durch ziemlich lange Zeit, besonders in der Kälte, aufbewahren, doch ist ein bereits in Fäulnis geratenes Blut zur Darstellung von Hämatoporphyrin nicht mehr geeignet, weil dann das Hämatoporphyrin durch Eingießen in Wasser nur ungenügend ausgefällt wird.

Verreibt man frisches Blut mit konzentrierter Schwefelsäure, so erhält man eine fast braun gefärbte Lösung. Die sich

auf Zusatz von Wasser ausscheidenden Hämatoporphyrinflocken sind mißfarbig braun, die alkalische Lösung eines Flöckchens ist braun oder gelbbraun. Eine etwas reinere Lösung erlangt man durch Auflösung von kristallisiertem Hämin in Schwefelsäure; die durch Eingießen in Wasser erhaltenen Hämatoporphyrinflocken sind jedoch von brauner Farbe.

Daß das eben beschriebene Verhalten des Kohlenoxydblutes auf Verdrängung des Sauerstoffes beruht und nicht etwa eine spezifische Reaktion des Kohlenoxydblutes darstellt, konnte dadurch bewiesen werden, daß der Sauerstoff des Blutes nicht durch CO, sondern auf andere Weise verdrängt wurde. Durch frisches, defibriertes Blut wurde solange ein Strom von Wasserstoffgas geleitet, bis alles Oxyhämoglobin in reduziertes Hämoglobin umgewandelt war; die aus diesem Blut dargestellte Hämatoporphyrinlösung war ebenfalls von reiner kirschroter Farbe. In gleicher Weise verhielt sich durch Fäulnis verändertes Blut, sobald alles Oxyhämoglobin zu reduziertem Hämoglobin umgewandelt war. Das aus Kohlenoxydblut erhaltene Hämatoporphyrin war jedoch farbenreiner, was wahrscheinlich darauf zurückzuführen ist, daß nicht alles Oxyhämoglobin in reduziertes Hämoglobin verwandelt worden war, oder daß das reduzierte Hämoglobin sich wieder teilweise in Oxyhämoglobin zurück verwandeln konnte. Es ist daher jedenfalls Kohlenoxydblut zur Darstellung von Hämatoporphyrin nach Hoppe-Seyler vorzuziehen, da die Möglichkeit einer Rückverwandlung in Oxyhämoglobin hier kaum in Betracht zu ziehen ist. Wurde das reduzierte Hämoglobin durch wiederholtes Übergießen des Blutes in Oxyhämoglobin zurückverwandelt, so wurde wieder mit konzentrierter Schwefelsäure eine mißfarbige braune Lösung erhalten.
