

Zur Kenntnis des Bilirubins.

Von

Hans Fischer.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität München.)

(Der Redaktion zugegangen am 18. Juli 1915.)

Gelegentlich der Gewinnung des Urinporphyrins machte ich die Beobachtung, daß mindestens ein Teil dieses Körpers gepaart an Eiweiß im Urin vorkommt, und es lag der Gedanke nahe, daß auch das Bilirubin in dieser Form im Urin und in der Galle vorhanden sei. Dies scheint tatsächlich zum Teil der Fall zu sein, jedoch müssen zu näherer Feststellung erst größere Harnmengen Gelbsüchtiger¹⁾ untersucht werden, was ich beabsichtige. Ebenso soll Galle daraufhin untersucht werden, in welcher Form das Bilirubin in ihr enthalten ist.

Fragen wir uns nun, ob nicht vielleicht bereits die Zusammensetzung der Rindergallensteine hierüber Auskunft geben kann, so finden wir schon bei W. Küster²⁾ die Angabe, daß er aus Rindergallensteinen mit Hilfe von Eisessig «Choleprasin», das er als ein Eiweißderivat ansah, isoliert habe. Ich fand dann, daß bei der Behandlung der Rindergallensteine mit verdünnter Salzsäure Eiweiß³⁾ in Lösung geht, während ein Teil zurückbleibt, und machte diesen Eiweißgehalt der Gallensteine für die schrittweise Zersetzung der Bilirubinsalze verantwortlich. Viel näher liegt es nun, eine direkte Verbindung von Eiweiß mit Bilirubin anzunehmen, die die nur allmähliche Aufschmelzung der Rindergallensteine völlig erklärt. Aber noch eine zweite Frage würde so ihre Beantwortung finden. Die

¹⁾ Handbuch der biochem. Arbeitsmethoden, Bd. II, S. 639.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 73, S. 217.

³⁾ Die Angaben der Lehrbücher, daß sich aus dem ikterischen Harn bei essigsaurer Reaktion Bilirubin durch Chloroform mit goldgelber Farbe ausschütteln lasse, gilt nur für den geringsten Teil des Farbstoffes. Weit- aus die Hauptmenge bleibt zurück.

Analysen aller Forscher, die sich bis jetzt mit dem Bilirubin beschäftigt haben, stimmen gut mit der von Städeler aufgestellten Formel $C_{32}H_{36}O_6N_4$, bez. $(C_{16}H_{18}O_3N_2)_2$ überein, während ich für Mesobilirubin die Zusammensetzung $C_{33}H_{40}N_4O_6$ und für Mesobilirubinogen = Hemibilirubin die Zusammensetzung $C_{33}H_{44}H_4O_6$, also eine Differenz von einem Kohlenstoffatom fand. Für die Aufstellung der Bilirubinformel sind diese Derivate geeigneter, weil sie sich leicht umkrystallisieren lassen, während dies für das Bilirubin bis jetzt (vgl. unten) nicht der Fall war. In der 6. Mitteilung über Gallenfarbstoffe¹⁾ vertrat ich daher die Meinung, das Bilirubin möchte ein Gemisch zweier verschiedener Körper sein.

In viel einfacherer Weise aber würde diese Differenz sich aufklären, wenn Bilirubin noch Eiweiß oder einen eiweißähnlichen Körper als Verunreinigung enthielte. Beobachtungen, die in diesem Sinne sprachen, haben wir schon früher gemacht. Bei den Reduktionen mit Jodwasserstoffsäure war stets Geruch nach Schwefelwasserstoff bemerkbar, und die Ausbeute an Mesobilirubinogen = Hemibilirubin war desto besser, je höher der Kohlenstoffgehalt des angewandten Bilirubins war.

Ich habe nun viele Bilirubinpräparate auf Schwefel geprüft und sie sämtlich schwefelhaltig gefunden, während Mesobilirubinogen und Mesobilirubin schwefelfrei sind. Hierdurch erklärt sich der zu niedrig gefundene Kohlenstoffgehalt der Bilirubinpräparate in zwangloser Weise. Als Beispiel sei die Analyse eines der am schönsten krystallisierten Präparate angeführt. 0,4205 g Substanz gaben 0,0029 g Baryumsulfat. Dies entspricht 0,094% Schwefel. Ich versuchte nun den Schwefel zu entfernen, in der stillschweigenden Voraussetzung, daß er durch Eiweißgehalt bedingt sei. Dementsprechend wurden 5 g des eben erwähnten Präparates 2 Stunden lang mit 100 ccm Eisessig ausgekocht und das erhaltene Präparat mit Ammoniak und Eisessig umgefällt. Die Analyse ergab hiernach: 0,1399 g Substanz gaben 0,3443 g Kohlensäure und 0,0863 g Wasser.

¹⁾ Zeitschrift für Biologie, Bd. 65, S. 163. (Nicht referiert im chemischen Zentralblatt.)

$C_{33}H_{36}O_4N_6$ Mgw 584,33. Ber.: C 67,77 H 6,21 N 9,59
 Gef.: 67,12 6,91 —

Die Formel mit 32 Kohlenstoffatomen verlangt C 67,09, H 6,34, und es ist bemerkenswert, daß der Kohlenstoffwert bereits die verlangte Zahl überschritten hat, während man in der Regel zu wenig Kohlenstoff findet. Das Präparat erwies sich bei der qualitativen Schwefelprobe (mit Nitroprussidnatrium) noch als schwefelhaltig und wurde deshalb abermals der gleichen Behandlung unterzogen. Die Analyse ergab hiernach:

0,1394 g Substanz gaben 0,3434 g Kohlensäure und 0,0844 g Wasser. 0,1416 g Substanz gaben 12,7 ccm N bei 22° und 713 mm Hg. 0,2298 g Substanz hinterließen keine wägbare Menge Asche. 0,3255 g Substanz gaben 0,0018 g Baryumsulfat.

Gef.: C 67,18 H 6,77 N 9,57 S 0,08.

Es war also nicht gelungen den Schwefelgehalt gänzlich zu entfernen und es kann keinem Zweifel unterliegen, daß der wahre Kohlenstoffgehalt des Bilirubins höher liegt und die Zusammensetzung des Bilirubins, entsprechend den Formeln und dem Molekulargewicht des Mesobilirubins und Mesobilirubinogens, $C_{33}H_{36}N_4O_6$ ist.

Übrigens möchte ich nicht unerwähnt lassen, daß die von W. Küster, Diese Zeitschrift, Bd. 94, S. 153, angeführten Analysen des Bilirubinammoniums¹⁾ viel besser auf die Formel mit 33 Kohlenstoffatomen stimmen und ebenso die Bd. 91, S. 72 angeführten des Bilirubins aus bilirubinsaurem Ammoniak. Die dort angeführten Analysen zeigen einen zu hohen Stickstoffgehalt, weil offenbar das Ammoniak bei 110°, wie übrigens auch die dort angeführte Ammoniakbestimmung beweist, nicht völlig entweicht, während trotzdem der Kohlenstoff (für C_{32}) zu hoch befunden wurde.

¹⁾ Neuerdings hat Küster (l. c.) gefunden, daß sich das Bilirubin in Form dieses Salzes leicht umkrystallisieren läßt.