

Über die Konstitution des Hämins und des Bilirubins.

Eine Entgegnung an O. Piloty.

Von

William Küster.

(Der Redaktion zugegangen am 7. September 1915.)

In den Annalen der Chemie veröffentlicht O. Piloty seit einigen Jahren umfangreiche Arbeiten über die Konstitution des Blut- und des Gallenfarbstoffs, in denen außer für die experimentellen Untersuchungen auch für theoretische Erörterungen über die zugrunde liegenden Ring-systeme ein breiter Raum gewährt wird. Muß nun auch zugestanden werden, daß letztere für den Autor als Arbeitshypothesen von Wert sind, und entbehren gerade die Ansichten Pilotys im Hinblick auf die Wandlungen seiner Vorstellungen nicht eines gewissen Reizes, so muß doch auch einmal gesagt sein, daß solchen Erörterungen nur dann für weitere Kreise ein innerer Wert zugesprochen werden kann, wenn sie den von anderen Fachleuten erübrigten Resultaten gerecht werden. In dieser Hinsicht verstößt aber Piloty gegen jede bisher übliche Regel, indem er den Einwendungen, die gegen seine Ansichten von anderer Seite erhoben worden sind, kein Gehör schenkt oder indem er Tatsachen mißachtet, was noch schlimmer ist, denn ich kann nicht glauben, daß Piloty die Abhandlungen anderer über das gleiche Thema überhaupt nicht liest. Seitdem nun aber durch die Arbeiten von H. Fischer, R. Willstätter und von mir, man darf wohl sagen, einwandfrei nachgewiesen worden ist, daß Pilotys Idee, im Hämin sei ein «Pyrranthracenring» vorhanden, dem experimentell erübrigten Beobachtungsmaterial in keiner Weise entspricht, sind die spaltenlangen theoretischen Erörterungen Pilotys auch als Arbeitshypothese in bezug auf den eigentlichen Zweck, nämlich die Erforschung der Konstitution des Hämins und Bilirubins ohne jeden Wert und nur geeignet, Verwirrung anzurichten.

Zwar hat Piloty seine ursprüngliche Ansicht, wonach im Hämin zwei Pyrranthracensysteme vorhanden sind, in seiner letzten Arbeit¹⁾ dahin abgeändert, daß er diesen Ring nur noch einmal für das Hämin beansprucht, und somit den Erfahrungen bei der Oxydation und Reduktion des Hämins und den aus der Konstitution der hierbei erhaltenen Spaltprodukte gezogenen Folgerungen für die Hälfte des Häminmoleküls Rechnung trägt, denn seine beiden Pyrranthracene konnten beim besten Willen

¹⁾ Annalen der Chemie, Bd. 406, S. 348 (1914).

nicht Körper von der Konstitution der Hämopyrrole oder der Hämatinsäure geben. Um aber wenigstens die Hälfte seiner Ansichten zu retten, muß Piloty zu Mitteln greifen, die zu schwersten Bedenken Veranlassung geben müssen.

Was zunächst den Ersatz des einen Pyrranthracenrings durch Pyrrolkomplexe betrifft, die bei der Oxydation Hämatinsäure und wenn sie vorher reduziert worden sind — Methyläthylmaleinimid geben können, so bezeichnet Piloty dabei meine Ansichten¹⁾ über den Zusammenhang dieser Komplexe zu einem Farbstoff als seine Ideen, ohne meinen Namen zu erwähnen. Auf eine eingehende Richtigstellung kann ich verzichten, da ja H. Fischer bereits in den Berichten²⁾ zur Steuer der Wahrheit das Wort genommen hat, und hoffe, daß sich auch hier³⁾ der objektive Tatbestand nicht verrücken lassen wird.

Was den zweiten Pyrranthracenring betrifft, der nach Piloty im Molekül des Hämins noch vorhanden sein soll, so ignoriert Piloty mit dieser Annahme nicht nur meinen Befund, daß Salpetersäure bereits bei 130° eine vollständige Zerstörung des Hämins bewirkt,⁴⁾ sondern auch die Ausführungen R. Willstätters,⁵⁾ daß von einem Sechsring im Hämin keine Rede sein darf und daß ein solches System bei der Oxydation keine Hämatinsäure geben kann, und er versteigt sich schließlich zu dem Ausspruch, daß man bei der Oxydation «Quantitäten von Hämatinsäure erhielt, welche weit hinter der aus der Hälfte des Häminmolsküls berechneten Menge zurückbleiben». Dieser Ausspruch steht aber mit den Tatsachen und mit früheren Angaben Pilotys selbst im Widerspruch. Hätte Piloty schreiben können, daß er selbst oder seine Schüler niemals bessere Ausbeuten erhalten hätten, so wäre das ein subjektiver Ausspruch geblieben. Das «man» aber schließt das Objekt ein. Und da das Objekt nicht reden kann, muß ich mich seiner annehmen, denn Piloty hat mit keinem Wort die Resultate erwähnt, welche mir das Objekt vergönnt hat. Danach reichen bei der Oxydation des Hämatoporphyrins⁶⁾ die Ausbeuten

¹⁾ Ich habe den Hinweis auf die Möglichkeit, den Aufbau des Hämatins mit dem der Indolfarbstoffe von E. Fischer, Freund und Lebach zu vergleichen, zuerst zusammen mit Herrn F. Lacour in dessen Dissertation gebracht (1907). Seitdem ist in mehreren Arbeiten erneut darauf Bezug genommen worden. Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 45, S. 1943 (1912).

²⁾ Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 47, S. 3266 (1914).

³⁾ Ich verweise auf meine erste Erwiderung gegenüber Entstellungen, die Piloty in seiner ersten Arbeit über den Blutfarbstoff unterliefen. Annal., Bd. 366, S. 237 und Diese Zeitschrift, Bd. 61, S. 164 (1909).

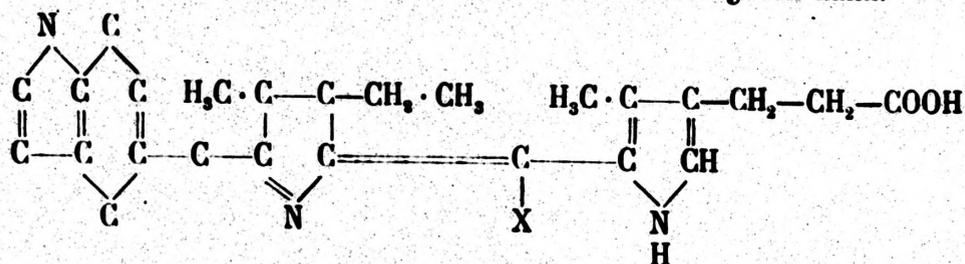
⁴⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 44, S. 408 (1905) und in Abderhaldens Bioch. Arbeitsmethoden, Bd. 2, S. 134.

⁵⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 87, S. 429 (1913).

⁶⁾ Diese Zeitschr., Bd. 61, S. 175 (1909).

an reiner Hämaminsäure fast an zwei Moleküle heran (ber. 61,2%, gef. 58%) und auch bei der Oxydation des Hämamins¹⁾ wurde viel mehr Hämaminsäure erhalten, als sich ergeben könnte, wenn der in Hämaminsäure übergehende Komplex nur einmal im Molekül des Hämamins vorhanden wäre. Sogar dann, wenn man die Art der Ausbeuteberechnung zugrunde legt, wie sie einstens Piloty²⁾ bei der Kontrollierung meiner Angaben geübt hat. Hierbei wird meine Angabe, daß 38,5% fast ganz reine Hämaminsäure $G_6H_8O_4N$ erhalten wurden, herausgegriffen, aber vollkommen übersehen, daß sich diese Ausbeute nach der Reinigung von 57,5% schon gereinigter Rohsäure ergab, bei welcher ein Gemisch von Bernsteinsäure und Hämaminsäure in Form von Kalksalzen abgetrennt worden war.³⁾

Was aber die Hauptsache ist, Piloty sagt hier selbst, daß seine Ausbeuten an reiner Hämaminsäure, auch nach dem Küsterschen Verfahren, 35% niemals übersteigen, wonach Piloty selbst mehr als ein Molekül Hämaminsäure erhalten hat (ber. 28%), was ganz anders klingt als der vorhin angeführte Ausspruch, weil es nur dahin gedeutet werden kann, daß das Hämamin zweimal einen Komplex enthält, der Hämaminsäure liefern kann. Die von Piloty jetzt gewählte Fassung: «die Quantitäten an Hämaminsäure blieben weit hinter der aus der Hälfte des Häminmoleküls berechneten Menge zurück», läßt aber auch die Deutung zu, daß nur ein Molekül Hämaminsäure entsteht und hat somit in ihrer Zweideutigkeit offensichtlich den Zweck, zugunsten der neuen Formulierung des Häminmoleküls durch Piloty zu wirken, dessen Schema J nach Piloty⁴⁾ selbst nur ein Molekül Hämaminsäure geben kann.



Häminschema J nach Piloty.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 44, S. 417 (1905).

²⁾ Annal. der Chemie, Bd. 377, S. 366/7 Anm. (1910).

³⁾ Es sei hier bemerkt, daß ich früher für zulässig hielt, bei der Schätzung der Ausbeute die Bernsteinsäure einzubeziehen, weil sie durch weitere Oxydation aus Hämaminsäure entsteht. Seitdem aber an die Möglichkeit gedacht werden muß, daß sich Bernsteinsäure auch unabhängig von Hämaminsäure aus Hämamin bilden kann, habe ich den im Text vertretenen Standpunkt eingenommen, daß zwei Komplexe des Hämamins in Hämaminsäure übergehen können. Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 45, S. 1937 (1912).

⁴⁾ Annalen der Chemie, Bd. 406, S. 353 (1914).

Wenigstens ist an dieser Stelle der Abhandlung die Ausdrucksweise kaum anders aufzufassen. Wir werden sehen, daß Piloty doch noch mit der Hoffnung rechnet, aus einem entsprechend substituierten Pyrranthracensystem durch Oxydation Hämatinsäure zu bekommen. Und so bin ich sehr gespannt darauf, welche Folgerungen Piloty ziehen wird, wenn sich die Hinfälligkeit seiner Hoffnung ergeben hat. Leisten doch auch die Pilotyschen Formelbilder im Auge ihres Bildners alles oder nichts, wie es der Augenblick erfordert. So soll das Schema J für das Hämin dem Umstand Rechnung tragen, daß bei der Oxydation kein Methyläthylmaleinimid entsteht, während jeder unbefangene urteilende Chemiker aus diesem Bilde gerade das Gegenteil ablesen wird.

Welche Beweise kann nun Piloty anführen, um seine Spekulationen über das Vorhandensein eines Pyrranthracens zu rechtfertigen?

1. Nach Piloty müssen Hämatoporphyrin,¹⁾ Hämin und mithin auch das Oxyhämoglobin²⁾ das doppelte Molekulargewicht von dem bisher angenommenen besitzen, womit im Zusammenhang steht, daß der Zerfall der genannten Stoffe ein viel komplizierterer sein müsse, als bisher angenommen.

a) Was das Oxyhämoglobin betrifft, so setzt sich Piloty mit dieser Annahme in Widerspruch mit den von G. Hüfner und E. Gansser³⁾ mit Hilfe des osmotischen Druckes erhaltenen Zahlen für das Molekulargewicht des Oxyhämoglobins aus Pferde- und Rinderblut, deren Werte mit den aus dem Gasbindungsvermögen und dem Eisengehalt ermittelten übereinstimmen, wenn eine Molekel Oxyhämoglobin ein Atom Eisen enthält. Die Arbeit von Hüfner wird von Piloty nicht erwähnt.

b) Was das Hämin betrifft, so fußen Pilotys Schlüsse auf den mangelhaften Ausbeuten an Mesoporphyrin, was bedenklich erscheint und als ganz verfehlt bezeichnet werden muß, da, wie Piloty selbst angibt, ein Teil des Hämins und zwar ein nicht bestimmbarer, weiter bis zu den Hämopyrrolen reduziert wird.⁴⁾

Einen weiteren Beweis dafür, daß das Molekulargewicht des Hämins doppelt so hoch sein muß, als bisher angenommen, erblickt Piloty in dem Auftreten eines «Phonoporphyrin» genannten Spaltstücks, das bei der Reduktion mit Hilfe von Jodwasserstoff neben Mesoporphyrin und etwa in gleicher Ausbeute wie letzteres entsteht. Das Phonoporphyrin besitzt aber nach Piloty nicht weniger als 7 Atome Sauerstoff, das Mesoporphyrin hat deren 4, macht zusammen 11. Und diese beiden Stoffe entstehen

¹⁾ Piloty-Dorrmann, Annal. d. Chem., Bd. 388, S. 319 (1912).

²⁾ Piloty-Fink, Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 45, S. 2495 (1912); Bd. 46, S. 2020 (1913).

³⁾ Archiv f. (Anat. und) Physiol., 1907, S. 209.

⁴⁾ H. Fischer und A. Hahn haben dann auch Bestimmungen ausgeführt, aus denen auf die einfache Molekulargröße des Hämins geschlossen werden muß. Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 46, S. 2308 (1913).

durch Reduktion eines Hämins mit 8 Sauerstoffatomen! Es ist also ganz klar, daß ein chemisches Individuum von der Zusammensetzung des Phonoporphyrins nicht existiert.

c) Was das Hämatoporphyrin betrifft, so hat Willstätter¹⁾ den Nachweis erbracht, daß die für eine Verdoppelung des bisher angenommenen Molekulargewichts sprechenden Bestimmungen von Piloty und Schlenk entweder auf die Verwendung eines beim Trocknen polymerisierten Hämatoporphyrinpräparates oder darauf zurückzuführen sind, daß Hämatoporphyrin das Sieden in Pyridin nicht verträgt.

2. Nach Piloty muß das Hämin aus zwei verschiedenen Teilen bestehen und zwar aus einem durch reduktive und oxydative Eingriffe leicht aufspaltbaren und einem schwer aufspaltbaren Teil.

a) Was die Aufspaltung durch Oxydation betrifft, so ist Pilotys Auffassung eine durchaus subjektive und trägt meinen Beobachtungen keine Rechnung. Ich wiederhole daher aus früheren Arbeiten,²⁾ daß eine bestimmte Menge Hämatin bei zweckmäßiger Versuchsanordnung so gut wie vollständig in einer einzigen Operation aboxydiert werden kann. Läßt man unzureichende Mengen des Oxydationsmittels einwirken, so bleibt ein Rest des Hämatins in verändertem Zustande übrig, aus dem aber von neuem durch einen oxydativen Eingriff Hämatinsäure erhalten werden kann. Der Befund zeigt also, daß, selbst wenn ein durch Oxydation schwer aufspaltbarer Teil vorhanden sein sollte, von einem Pyrranthracensystem in ihm nicht die Rede sein kann, weil dies System keine Hämatinsäure liefern kann.

b) Was die Aufspaltung durch Reduktion betrifft, so erweist sich Jodwasserstoff-Eisessig als bestes Reduktionsmittel. Auch Piloty hat dasselbe bei seiner letzten Arbeit verwendet und dabei eine Ausbeute von 51,5% des verwendeten Hämins an faßbaren Spaltprodukten (Hämopyrrolen und Hämopyrrolcarbonsäuren) erhalten. Zieht man in Betracht, daß es sich um luftempfindliche, leicht verharzende Stoffe handelt und daß die Trennung ihres Gemisches sehr mühsam ist, so ist diese Ausbeute eine sehr gute und zeugt davon, daß von einer Schweraufspaltbarkeit eines Teils des Hämins durch Jodwasserstoff-Eisessig nicht die Rede sein kann.

Wenn Piloty endlich beobachtet hat, daß sich unter den Hämopyrrolen auch hochmolekulare Pyrrole befinden und diese Beobachtung dahin gedeutet hat, daß im Hämin außer Pyrrolkomplexen auch noch höher molekulare — also Pyrranthracen-Ringe — vorkommen müßten, so ist durch die Feststellung H. Fischers³⁾ nunmehr erwiesen, daß es sich um polymerisierte Hämopyrrole, also um Kunstprodukte handelt, die also nicht dem Objekt entstammen, dem zu nahen Piloty unternommen hatte.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 87, S. 472 (1913).

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 44, S. 391 (1905).

³⁾ Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 48, S. 401 (1915).

Übrigens hat Piloty selbst bei der Reduktion eines wirklichen, d. h. von ihm synthetisch dargestellten Pyrranthracenderivats durch langdauernde Einwirkung von Jodwasserstoffsäure keine Pyrrole erhalten¹⁾ und bei der Oxydation²⁾ erreichte er entweder gänzlichen Zerfall oder er beobachtete lediglich das Auftreten eines Geruches, der an den Geruch von substituierten Maleinimiden erinnerte. Piloty muß daher seine Leser trösten, daß es ihm an günstigeren Versuchsobjekten und namentlich an Reduktionsprodukten seiner Pyrranthrachinone gelingen werde, greifbarere Resultate zu erhalten. In diesem Gedanken ist also die Hoffnung zwar nicht offen ausgesprochen, aber enthalten, daß ein entsprechend substituiertes Pyrranthracenderivat bei der Oxydation Hämatinsäure geben wird, denn auf dieses Resultat kommt es allein an, andere bisubstituierte, namentlich riechende Imide der Maleinsäure bilden sich ja bei der Oxydation des Hämins nicht. Wir erfahren dann auch an anderer Stelle, wie das substituierte Pyrranthracenderivat etwa aussehen wird. Es ist nämlich Piloty gelungen, durch Verwendung von Zinkstaub und Salzsäure das Hämin nur zur Hälfte aufzuspalten, ein Befund, der trotz der gegenteiligen Erfahrung mit Jodwasserstoff-Eisessig als Beweis dafür betrachtet wird, daß das Hämin aus einem bei reduktiven Eingriffen leicht und einem schwer aufspaltbaren Teil besteht. Der letztere wird nun hier in Form der Hämatopyrrolidincarbonensäure erhalten und diese muß also ein Pyrranthracenderivat sein.

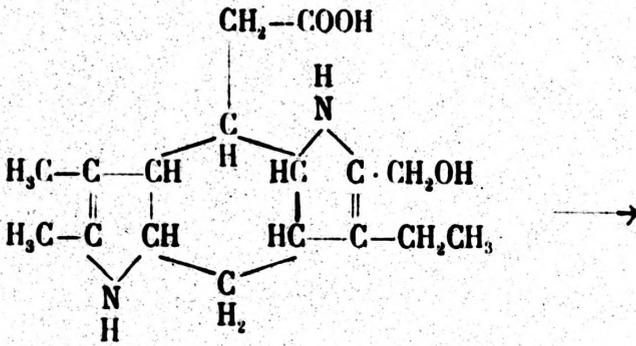
Diese Hämatopyrrolidincarbonensäure vergleicht nun Piloty, obgleich er sie selbst als ein Gemisch bezeichnet,³⁾ mit der aus Bilirubin von ihm durch Eisessig-Jodwasserstoffeinwirkung erhaltenen Bili[rubi]nsäure⁴⁾ $C_{17}H_{26}O_5N_2$. Tatsächlich zeigt sich die Ähnlichkeit beider Produkte nur darin, daß aus beiden bei der Oxydation Hämatinsäure und das Methyläthylmaleinimid entstehen, und Piloty kommt das Verdienst zu, gezeigt zu haben, daß bei der Oxydation der Bili[rubi]nsäure ein gelb gefärbter Körper, die Dehydrobilinsäure $C_{17}H_{22}O_5N_2$ als Zwischenprodukt entsteht. Die Existenz desselben beweist nun für jeden Chemiker untrüglich, daß die Pyrranthracenhypothese ein Unding ist, denn aus Pilotys Bildern für Bili[rubi]nsäure und Dehydrobilinsäure ist klar ersichtlich, daß sich bei weiterer Oxydation Hämatinsäure niemals bilden können.

¹⁾ Annalen der Chemie, Bd. 407, S. 22 (1914).

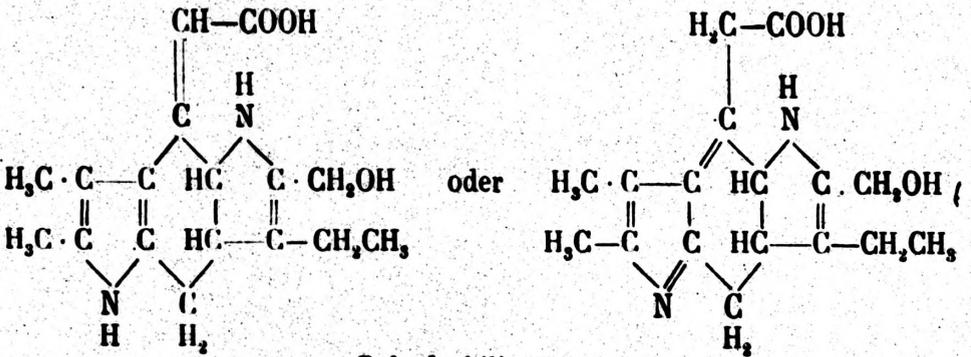
²⁾ Annalen der Chemie, Bd. 407, S. 27/28 (1914).

³⁾ Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 45, 2595 (1912).

⁴⁾ H. Fischer hat die Säure zuerst beschrieben, den Namen «Bilirubinsäure» gewählt und die Formel $C_{17}H_{24}O_5N_2$ aufgestellt. Ber. 45, 1579 (1912). Später erhielt er dieselbe Säure aus einem Spaltstück des Bilirubins, das er Xanthobilirubinsäure genannt hat und dem die Formel $C_{17}H_{22}O_5N_2$ zukommt, durch Reduktion. Höchst wahrscheinlich sind Xanthobilirubinsäure und Dehydrobilinsäure identisch.

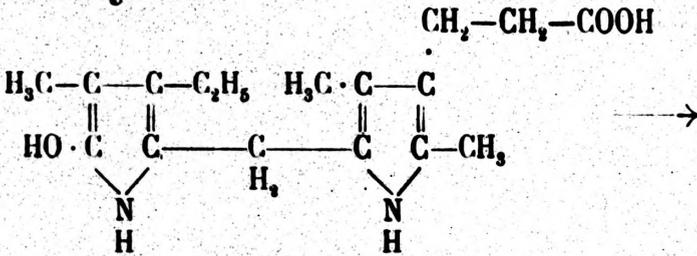


Nach Piloty: Bilinsäure.

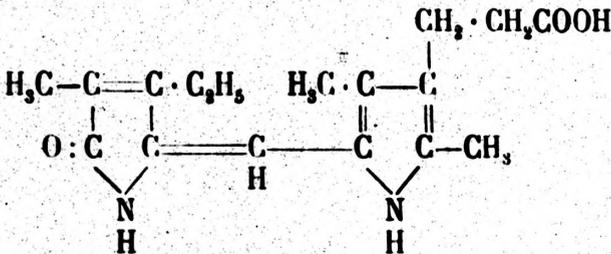


Dehydrobilinsäure.

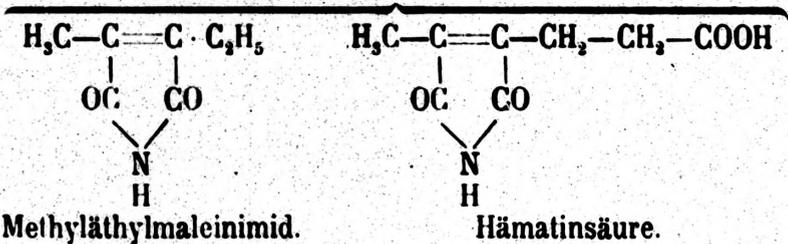
Die Formulierung des Vorgangs durch H. Fischer¹⁾ wird dagegen allen Ansprüchen gerecht:



Bilirubinsäure.



Xanthobilirubinsäure.



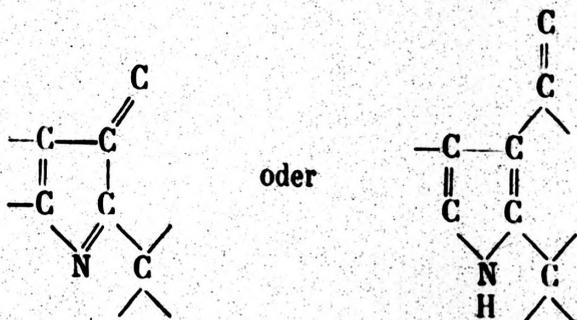
Methyläthylmaleinimid.

Hämatisäure.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 89, S. 256 (1914).

Wie verwirrend die Pyrranthracenhypothese auf den Autor derselben gewirkt hat, möge aus seinen eigenen Worten hervorgehen.

In den Berichten (Bd. 45, S. 2393) wird gesagt: solche Systeme



kann man sich aus der oben gegebenen Formel der Bilinsäure leicht konstruieren und so einen Versuch der Erklärung des Übergangs der farblosen in die farbige Säure machen. In den Annalen aber (Bd. 406, S. 350): dabei erschien es zunächst unwesentlich, ob dieses System von Doppelbindungen einen geschlossenen Ring oder eine offene Kette enthielte. Das letztere erschien möglich, ja sogar wahrscheinlich. Piloty übersieht also vollkommen, daß, wenn er den geschlossenen Ring aufgibt, auch seine Formulierung der Bilinsäure und damit seine Pyrranthracenhypothese hinfällig wird und damit nach seinen eigenen Gedankengängen auch der zweite Pyrranthracenring im Hämin.

Anstatt aber diese Möglichkeit, die Piloty für «sogar wahrscheinlich» hält, was doch wohl so viel heißen soll, daß er sie für wahrscheinlicher hält als seine Pyrranthracenhypothese, ernstlich ins Auge zu fassen, d. h. einzugestehen, daß seine Annahme durch die tatsächlichen Verhältnisse wiederlegt ist, begründet Piloty seine Pyrranthracenhypothese damit, daß die Ähnlichkeit seiner gelb gefärbten Dehydro-Bilinsäure mit einem Reduktionsprodukt des Pyrranthrachinons, das als ein Dihydropyrranthrahydrochinon aufgefaßt wird, in der gelben Farbe, die alle Salze des letzteren aufweisen, zum Ausdruck kommt.

Hieraus erhellt bereits der hohe Grad von Verwirrung, den eine unrichtige Vorstellung anrichten kann, wenn der Versuch gemacht wird, sie gegen schlagende Beweise des Experiments aufrecht zu erhalten. Wer aber noch nicht überzeugt ist, der lese die Ausführungen Pilotys auf zwei hintereinander folgenden Seiten über das Biliburin. Seite 351: «Das Bilirubin bestätigt unsere Annahme (daß das Hämin aus einem durch reduktive und oxydative Eingriffe leicht aufspaltbaren und einem schwer aufspaltbaren Teil besteht), insofern als dasselbe als ein Verwandlungsprodukt desjenigen Teils des Blutfarbstoffs erscheint, welchen aufzuspalten auch dem Organismus ¹⁾ nicht gelingt, weil nämlich aus Bilirubin

¹⁾ Um die Verwandlungsfähigkeit Pilotyscher Anschauungen zu demonstrieren, ist dieser Satz ein treffliches Muster. Es ist nämlich noch nicht lange her, daß Piloty sich das Bilirubin durch einen synthetischen Prozeß aus Bruchstücken des Hämins hervorgegangen vorstellte. Annalen, Bd. 390, S. 192 (1912).

(durch Eisessig-Jodwasserstoff) die Bilirubinsäure entsteht und diese der Hämatopyrrolidinsäure ähnlich ist, die bei der Reduktion des Hämins mit Zinkstaub und Salzsäure als großes Bruchstück entsteht.

Danach durfte man erwarten, daß Piloty das Bilirubin als nur aus Pyrranthracenkomplexen bestehend ansieht.

Auf Seite 352 wird aber von den Dipyrrylmethenfarbstoffen gesagt: «sie sind aufspaltbar wie der leicht aufspaltbare Teil des Hämins, und was das Wichtigste ist, ihre Spektra zeigen mit denjenigen von Derivaten des Hämins, nämlich dem Bilirubin, außerordentlich große Ähnlichkeit». Was doch wohl heißen soll, daß Piloty ihr Vorhandensein im Bilirubin sich als gegeben vorstellt.

Und nun ein Wort noch zu dem von Piloty konstruierten Bild für das Bilirubin, dem die empirische Formel $C_{32}N_8O_6$ zukommt. Das Pilotysche Bild auf Seite 356 enthält 5 Stickstoffatome.

Jede Bemerkung wäre überflüssig.

Stuttgart, im September 1915.