

III. Ueber einige biologische Eigenschaften des Phenylhydrazins und einen grünen Blutfarbstoff.¹⁾

Von L. Lewin.

I. Beobachtungen an Menschen.

Das Phenylhydrazin bildet den Ausgangspunkt für praktisch wichtige chemische Körper. Dadurch ist die Möglichkeit gegeben, dass die damit Arbeitenden örtlich oder resorptiv vergiftet werden.

Thatsächlich haben sich Vergiftungen von Menschen mit Phenylhydrazin bisher schon ereignet, und wohl häufiger, als sie berichtet wurden. Ich selbst litt in den Jahren 1894—1896 und dann noch zweimal 1898 und im Wintersemester 1900—1901 geraume Zeiten hindurch an den Giftwirkungen dieses Stoffes in nachhaltiger, eigenthümlicher und das Allgemeinbefinden schädigender Weise, die mir nicht gestattete, die Versuche, die der Natur der zu lösenden Probleme nach zahlreich sein mussten, ohne monatelange Unterbrechungen fortzusetzen. Die Finger, die mit der Base in Berührung kamen, färbten sich gelblich braun. Weder mechanische Mittel, wie Bimstein oder Sand, noch chemische wie Aether, Chloroform, concentrirte Schwefelsäure, vermochten diese Färbung zu beseitigen. Gewöhnlich nach 16—20 Stunden war an den Berührungsstellen eine geringe Röthung entstanden, die besonders in der Bettwärme hervortrat. Nach 2—3 Tagen nahm ich an der vergifteten, stark juckenden Partie ein eigenthümliches Gefühl wahr, als wenn auf derselben ein Polster läge. Es resultirt dies von der Schwellung. Darauf

¹⁾ Die folgende kurze Mittheilung ist einer umfangreicheren, aus der Zeitschrift für Biologie, Oktober 1901 (Jubelband für C. v. Voit) entnommen. Dort finden sich Belege und Spektraltafel. Cfr. auch: Compt. rend. de l'Académie des Sciences, Oktober 1901.

erschienen auch an Fingertheilen, die direkt von dem Stoffe unberührt geblieben waren, ja auch an benachbarten Fingern, meistens an deren Innenflächen, kleine harte, wesentlich in der Haut liegende und nur wenig über derselben mit einer winzigen, weisslichen, besonders bei Druck erkennbaren Kuppe hervorragende Knötchen.

Der Ausbruch derselben, sowie ihr Bestehen, waren von einem gesteigerten unangenehmen Jucken begleitet, die Haut der Umgebung war kaum merkbar geschwollen. Nur wenn sehr viel Phenylhydrazin, z. B. auf einen Fingernagel und dessen Falz gelangte, traten energische Entzündung und Schwellung ein.

Sie stellten ein Eczema papulosum dar, das sich über die ersten Stadien hinaus nicht entwickelte. Eine deutliche Bläschenbildung oder ein Verschwinden unter Abschuppung habe ich nicht an mir beobachten können.

Nachschübe folgten noch nach sechs und acht Tagen. Nie aber sprang der Ausschlag auf den Unterarm über, sondern blieb stets auf die Finger lokalisiert. Nur einmal, zu Beginn dieses Jahres, erschienen Röthung und Schwellung am Handgelenk, nachdem drei Finger mit Phenylhydrazin vergiftet worden waren.

Die Meinung, dass das Auftreten der Knötchen auf einer besonderen Empfindlichkeit beruhe, ist irrig. Ihr Nichterscheinen beruht auf einer individuellen Eigenthümlichkeit, ihr Kommen ist die Regel.

Im Verlaufe der Beschäftigung mit dem Phenylhydrazin und nach dem Ausbruch des Ausschlages stellten sich bei mir, ohne dass ich den Grund anfangs ahnte, für mehrere Monate ein allgemeines Schwäche- und Krankheitsgefühl mit Blässe des Gesichtes, dauernder Müdigkeit, die mir das Stehen in den Vorlesungen schwer machten, Appetitstörungen, sehr häufigem Stuhl- und diarrhöischen Stühlen ein. Erst nachdem ich die Ursache erkannt hatte und das Experimentieren mit dem Stoffe unterbrach, erfolgte, aber erst ganz allmählich, Wiederherstellung. Nach jedesmaliger Wiederbeschäftigung mit demselben traten, trotz Vorsicht, leichte Symptome ein.

In viel umfänglicherer Weise als ich musste leider der Entdecker des Phenylhydrazins, Emil Fischer, Beobachtungen über dessen Wirkungen an sich und anderen machen.

Ich verdanke eine dahingehende briefliche Mittheilung seiner Freundlichkeit. Da sie nicht nur wegen des Urhebers, sondern auch der Sache wegen interessant und wichtig ist, lasse ich sie hier wörtlich folgen:

„Meine Beobachtungen über die Giftigkeit des Phenylhydrazins erstrecken sich über eine lange Reihe von Jahren und ziemlich viel Personen. . . Sie beschränken sich auf Wirkungen, welche auf der Haut oder beim Einathmen der Dämpfe entstehen.

„Am häufigsten tritt die Bildung von Ekzemen ein, aber bei verschiedenen Personen in sehr verschiedener Zeit.

„Ein Diener in Würzburg, der erst zwei Monate im Laboratorium war, bekam vom einmaligen Reinigen der Gefässe eine so starke Entzündung der Hände und Arme, dass er mehrere Tage arbeitsunfähig war und die Stelle aufgab.

„Ein Assistent hielt auf ähnliche Art eine starke Schwellung des Armes und Entzündung der Lymphgefässe.

„Die meisten Personen vertragen aber das Arbeiten mit der Base wochen- und monatelang.

„Ich selbst habe mehrere Jahre keinen merklichen Schaden davongetragen. Dann aber stellte sich ein chronisches Ekzem an den Händen ein; besonders betroffen waren die Fingerspitzen und die innere Fläche der rechten Hand. Zeitweise wurde die Haut rissig und blutete. Ich habe fünf Jahre darunter gelitten und bin es trotz einer zweimonatlichen strengen Kur erst ganz losgeworden, nachdem ich alle Arbeiten mit Phenylhydrazin aufgegeben hatte. Seitdem sind die Hände wieder ganz normal.

„Viel schlimmer war bei mir die Wirkung auf Magen und Darm, wobei ich allerdings bemerken muss, dass diese Organe bei mir locus minoris resistentiae sind. Auch hier stellte sich die Empfindlichkeit erst ein, als ich im Laufe der Arbeiten über Zucker $1\frac{1}{2}$ —2 Jahre fast täglich mit der Base zu thun hatte. Sie steigerte sich dann aber auch so sehr, dass schliesslich ein halbstündiger Aufenthalt in einem Raume, wo überhaupt mit Phenylhydrazin gearbeitet wurde, schon ein Gefühl der Uebelkeit und hinterher Durchfall erzeugte.

„Thatsächlich war ich fünf Jahre halbkranke und bin den Zustand erst losgeworden, seit ich das Phenylhydrazin ganz aus meinem Privatlaboratorium verbannt hatte.

„Heute, nach vierjähriger Pause, kann ich es wieder leidlich vertragen.“

Aus allen diesen Beobachtungen ist zu schliessen:

1. dass das chronische Eindringen kleiner Mengen von Phenylhydrazin in den Menschen kumulative Wirkungen erzeugt,

2. dass nicht nur nicht Gewöhnung an dasselbe, sondern sogar eine im Laufe der Zeit sich steigernde Empfindlichkeit Platz greift, und

3. dass auch bei weiterer Vermeidung des Giftes die einmal bestehenden Störungen sich nur ganz allmählich zurückbilden.

Die Versuche, die ich in den vielen Jahren mit Phenylhydrazin an Thieren anstellte, ergaben, dass die Aufnahme des Dampfes durch die Luftwege keine Blutvergiftung erzeugt, dass aber die Resorption durch die Haut eine besonders mächtige ist und allein das Zustandekommen der Vergiftung zu erklären vermag.

II. Versuche an Thieren.

Unter den mannigfachen Giften, die eingreifende chemische Beziehungen zu thierischen festen oder fleischigen Körperbestandtheilen haben, ist das Phenylhydrazin nicht etwa das relativ am schnellsten tödtende, sondern das das Blut am schnellsten und eigenartigsten angreifende. Kalt- und Warmblüter unterliegen demselben. Zwei bis drei Tropfen des Giftes rufen, z. B. an Hähnen, bereits nach wenigen Minuten schwere Vergiftungssymptome und Verfärbung des Kammes hervor. Die Stärke der Verfärbung giebt durchaus den Maassstab für den zeitlichen Stand der Vergiftung ab. Das Blut sieht in dicker Schicht braunroth, in dünner grün aus, ebenso wie die dicke Brustmuskulatur der Tauben braun, die dünne Schicht der Pektormuskeln bei Kaninchen aber grün schimmert. Seit langer Zeit habe ich mich bemüht, diesen grünen Farbstoff näher kennen zu lernen. Vielleicht liefern die folgenden Auseinandersetzungen einen Beitrag zu seiner weiteren Erforschung.

Sobald auch nur kleine Mengen von Phenylhydrazin den Blutfarbstoff von kalt- oder warmblütigen Thieren angegriffen und intensiv verändert haben, entsteht — bei Fröschen z. B. etwa 30 Minuten nach der Vergiftung — nach Zusatz von Salpetersäure schon in der Kälte, besser noch beim Erhitzen bis zum Kochpunkt, eine von Sekunde zu Sekunde zunehmende Grünfärbung der coagulirten Masse, die so chlorophyllähnlich aussieht, dass man dieselbe z. B. von gekochtem und durchgeseibtem Spinat durch den blossen Anblick nicht zu unterscheiden vermag. Die Grünfärbung ist um so stärker, je länger die Zeit ist, die zwischen Giftzufuhr und Tod lag. In noch weit erhöhtem Maasse wie das Blut von solchen Thieren Leinwand oder Baumwolle färbt, thut dies der grüne Farbstoff, der kein Reaktionsprodukt von Phenylhydrazin oder eines seiner bekannten Zersetzungs- oder Additionsprodukte mit Mineralsäure darstellt, sondern ein Blutfarbstoffderivat ist. Ich belege ihn deswegen vorläufig mit dem Namen Hämoverdin.

Er ist nicht identisch mit dem im Thierkörper bei der Vergiftung durch Phenylhydrazin sich bildenden grünen Blutfarbstoff, steht ihm aber sehr nahe.

Von besonderer Wichtigkeit muss natürlich die Beantwortung der Frage sein, ob er nicht ein Reaktionsprodukt aus Phenylhydrazin, Säure und irgend einem im Blute durch Phenylhydrazin gebildeten Stoffe darstelle.

Ich verdanke Emil Fischer auch den Hinweis auf ein von ihm dargestelltes, schwach basisches Reaktionsprodukt des Phenylhydrazins, das grün ist.¹⁾ Erwärmt man ein Gemisch von Phenylhydrazin und Aldehyd direkt mit concentrirter Salzsäure, so färbt sich die Lösung dunkelgrün. Man hätte daran denken können, dass Phenylhydrazin in der Blutbahn, und speziell in den rothen Blutkörperchen, Aldehyd und beim nachherigen Erwärmen mit Säure die gleiche grüne Substanz bilde. Um so näher läge eine solche Möglichkeit, als ich eine bisher unbekannte Einwirkung des Phenylhydrazins auf Eiweiss fand, die auf den ersten Blick alle Zweifel zu heben scheint. Rührt man Eiereiweiss mit Phenylhydrazin zusammen, so bilden sich eigenthümlicher Weise dicke, klumpige Zusammenballungen. Kocht man diese, im Mörser vorher fein verriebene Masse mit concentrirter Salzsäure — Salpetersäure erzeugt nur eine rosenrothe Färbung —, so entsteht schliesslich nach mannigfachem Farbenwechsel eine schmutzig-

¹⁾ E. Fischer, Annalen der Chemie 1878, Bd. CXC, S. 137.

gelblich grüne Lösung. Welcher Art diese Reaktion ist und ob sie eine Beziehung zu dem Fischer'schen Reaktionsprodukt hat, vermag ich nicht zu sagen.

So bedeutungsvoll es auch biologisch wäre, anzunehmen, dass hier, wie im Blute, die Grünfärbung durch Einwirkung der Säure auf den durch Phenylhydrazin aus Eiweiss freigemachten Aldehyd zu Stande käme, so muss, vorläufig wenigstens, eine solche Annahme als unzutreffend angesehen werden; denn abgesehen von vielen anderen Gründen, würden so grosse Mengen freien Aldehyds, wie sie zum Entstehen der Fischer'schen Base erforderlich sind, sich leicht bemerkbar machen und nachweisbar sein, falls sie sich im Eiweiss des Blutserums oder in Hämoglobinlösungen gebildet hätten. Dies ist aber meinen Versuchen nach auszuschliessen.

Die synthetische grüne Substanz ist nicht mit der von mir aus dem Blute hergestellten identisch, und ich freue mich sagen zu können, dass Fischer selbst die Verschiedenheit beider Stoffe feststellen konnte.

Todtes Blut, das, mit Phenylhydrazin gemischt, eine Zeit lang gestanden hat, liefert beim Kochen mit Mineralsäuren nur sehr wenig Hämo-verdin neben reichlichen anderweitigen Blutzer-setzungsprodukten. Das so erhaltene grüne Produkt kommt deswegen an Reinheit der Farbe und der spektralen Erscheinungen nicht derjenigen gleich, die man unter denselben Bedingungen aus dem Blute von Phenylhydrazin-Thieren erhält. Mischt man aber selbst einen grossen Ueberschuss von Phenylhydrazin zu todttem Blut hinzu, so gelingt es doch nicht sofort oder in der Zeit, in der es aus dem lebenden Blute erhalten werden kann, Hämo-verdin durch Coaguliren mit Salpetersäure und auch nicht durch Extraktion mit Alkohol sichtbar werden zu lassen.

Weder durch Anilin, noch durch Paramidophenol, Hydrazinsulfat, Acetylphenylhydrazin, Hydrazinhydrat, Diazobenzol lässt sich das grüne Produkt erzeugen.

Da das Hämo-verdin an dem durch Salpetersäure zur Gerinnung gebrachten Bluteiweiss zu hängen schien, so musste es von diesem getrennt werden. Dies gelingt durch Extraktion mit absolutem Alkohol oder viel besser noch durch Schütteln mit Paraldehyd. Zu diesem Zwecke wird die grüne geronnene Masse, nachdem sie mit Wasser bis zum Verluste der sauren Reaktion gewaschen wurde, an der Luft getrocknet oder auf Thonplatten gestrichen. Man erhält so eine, mit Alkohol dunkelgrüne, mit Paraldehyd hellgrüne Lösung mit den gleichen spektralen Absorptionen. Prächtig grüne Lösungen erhielt ich auch, wenn ich das alkoholische Extrakt der grünen Masse eintrocknete und den Rückstand mit Paraldehyd auszog oder den eingeeengten alkoholischen, grünen Auszug mit Paraldehyd schüttelte, 24 Stunden stehen liess und den grünen Paraldehyd von dem braunen Bodensatz abgoss.

Auch Aceton löst Hämo-verdin auf. Die Extraktion des Rohmaterials liefert eine grüne, dichroitische Lösung, die beim Abdampfen auf dem Wasserbade gelblichbraun wird.

Chloroform löst das Hämo-verdin nicht, Aether in Spuren.

Das Hämo-verdin ist eine dichroitische Substanz. In dünner Schicht ist es rein grün, etwa wie das Frühlingsgrün junger Blätter, in dicker rothbraun. Es spiegelt dies in Rein wieder, was man in Unrein an mit Phenylhydrazin vergifteten Thieren beobachtet, wo dicke Muskelschichten braunroth, dünne grünlich erscheinen.

In geeigneter Schicht erkennt man spektroskopisch in der Lösung des Hämo-verdins in Alkohol, Aceton, oder am besten in Paraldehyd folgende Absorptionen, wenn die Frauenhofer'sche Linie C auf 10, D auf 25, E auf 45 und F auf 62 der Skala liegen:

1. Eine Absorptionslinie von 14—15.
2. Eine Absorptionslinie auf 20. Von hier spannt sich ein Schatten bis 25.
3. Ein breites, tief dunkles Absorptionsband von 25—30.
4. Eine Absorptionslinie von 34—35. Diese ist durch einen feinen Schatten mit der vorigen verbunden.

Die Absorption 20—25 ist der constanteste Antheil in den spektralen Blutveränderungen, und es ist sehr bemerkenswerth, dass sie sich sowohl in alkalischem Blute als auch in der sauren coagulirten Blutmasse findet.

Hier ist auch der Ort, auf die Uebereinstimmung gerade dieser Absorption mit der gleichen, bei dem sauren Hämatoporphyrin und dem Chlorophyll vorkommenden hinzuweisen,

um so mehr, als in den letzten Jahren die Verwandtschaft des Hämatoporphyrins mit Umwandlungsprodukten des Chlorophylls wahrscheinlich gemacht worden ist.

Noch mehr aber erregt das Interesse eine Vergleichung des Spektrums frischer Ochsen-galle mit demjenigen des Hämo-verdins.

Auch diese lässt eine Absorption bei 20 der Millimeterskala erkennen.

Zu diesen spektralen Beziehungen, die vielleicht zwischen dem Hämo-verdin, dem Chlorophyll und dem grünen Gallenfarbstoff bestehen, kommt die grüne Farbe des Hämo-verdins, die sie mit den genannten Farbstoffen theilt. Es wird selbstverständlich weiterer Untersuchungen bedürfen, um alle hierbei in Frage kommenden Verhältnisse aufzuklären.