

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. HAHN F., *Science*, 1943, **98**, 19.
2. KAULLA VON K. und PULVER R., *Schweiz. Med. Wons*, 1948, **78**, 806.
3. BASU D. und STEWART C.: *Edinburgh Med. Jour.*, 1951, **57**, 596.
4. REINIS Z., HRABANE J., VANECEK R. and MANGAKIS N., *International Conference on Thrombosis and Embolism*, Βασιλεία 20-24 'Ιουλίου 1954.

ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ.—Über die Natur des grünen Schuppenfarbstoffes der Belonen (vorläufige Mitteilung)*, von Anast. Christomanos.** Ἀνεκοινώθη ὑπο τοῦ κ. Γεωργ. Ἰωσκαίμογλου.

Die Schuppen der Belone Belone, der Gattung der Physostomen besitzen einen grünen Farbstoff der an Calcium und wahrscheinlich auch an Eiweiss gebunden, sich durch organische Lösungsmittel nicht ausziehen lässt.

Nach Caglar¹, der den grünen Knochenfarbstoff der gleichen Fische untersuchte, handelt es sich in beiden Fällen um Biliverdin.

Die vorliegende Arbeit befasst sich ausschliesslich mit der Natur des Schuppenfarbstoffes und seiner Eigenschaften.

EXPERIMENTELLE ERGEBNISSE

Die Schuppen der eben gefangenen Fische, werden mittels eines scharfen Messers abgeschabt und auf einen feinen Sieb mit fliessendem Wasser wiederholt ausgewaschen, um sie von einen melaninartigen Stoff zu befreien. Dannach wird die Schuppenmasse im Vacuumexicator getrocknet, und wiederholt mit Petroläther extrahiert, um das bei der Isolierung des Farbstoffes hindernde Fett zu entfernen.

Nach der Petrolätherextraction werden die Schuppen durch einstündiges erhitzen bei 40° von den Spuren des Lösungsmittels befreit, und mit der fünffacher Menge 2-3% HCl haltigen Methylalkohol, während 24 Stunden bei Zimmertemperatur, extrahiert. Die Extraction wird 2mal wiederholt, die Extracte vereinigt, und die intensiv grüne Lösung filtriert.

(* Aus dem Forschungslaboratorium für Biochemie der Meerestiere St. Georg, Limni, Euböa).

** ANΑΣΤ. ΧΡΗΣΤΟΜΑΝΟΣ, Περὶ τῆς φύσεως τῆς χρωστικῆς τῶν λεπίων τῶν Βελονῶν (Ζαργα-νῶν). (Πρόδρομος ἀνακοίνωσης).

¹ CAGLAR, Über das grüne Skelettpigment von Belone Belone. *Com. Fac. Sci. Unïvers. Ankara*, **3**, 265 - 280. Siehe auch D. L. FOX, *Animal Biochromes and Structural Colours. Cambr. Unïvers. Press*, 1953.

Der Methylalkohol wird auf dem Wasserbade bei 40° verjagt, und der Rückstand getrocknet, in Chloroform gelöst, filtriert und der Chloroform bei Zimmertemperatur verflüchtigt. Nach erneuerter Lösung in Chloroform und Filtration zeigt die Farbstofflösung, in konzentriertem Zustande eine dunkelgrüne, und in verdünntem, eine bläulichgrüne Farbe.

Ausser Chloroform, in dem sich der Farbstoff ausserordentlich gut löst, löst sich der Belonenfarbstoff in Benzol, Methyl- und Äthylalkohol, Äthyläther, CS₂, Dioxan, in Pyridin mit späteren Änderung der Farbe zu bräunlichgrün, und in Essigester. In Petroläther löst sich der Farbstoff nur spärlich, gar nicht in Säuren. In normalen Alkalien löst der Farbstoff unter Farbveränderung zu gelbgrün, und unter gleichzeitigen Ausfallen eines Niederschlages.

Die Chloroformlösung des Farbstoffes zeigt keine Spectrale Absorptionsbänder im Sichtbarem, dagegen eine starke Beschattung an beiden Enden des Spectrums, die bei konzentrierten dunkelgrünen Lösungen vom äussersten rot bis ca. 6320 Å, und vom äussersten violet bis ca. 5245 Å reicht.

Durch Zufügen einer alkoholischen Lösung von Zinkacetat und einer Spur $\frac{1}{10}$ norm. Jodlösung, zu der Chloroformlösung des grünen Farbstoffes, erscheint eine intensive blutrote Fluorescenz, indem gleichzeitig die Flüssigkeit bei Durchsicht eine hellblaue Farbe annimmt. Spectroskopisch lässt die Flüssigkeit zwei Absorptionsbänder erkennen. Das erste sehr dunckle Band, beginnt bei 7310 Å und endet bei 6790 Å, mit einen max. bei 7045 Å. Das zweite Band, welches viel schwächer ist, beginnt bei 6690 Å und endet bei 6205 Å mit einem max. bei 6355 Å.

Wird die Chloroformlösung des Farbstoffes durch eine 50 cm³ lange CaCO₃ Säule fließen gelassen, so erscheinen auf dem diffus und schwach blaugrünlich gefärbtem Säuleninhalt, drei Bänder, von denen das mittlere eine dunkelgrüne, und die beiden seitlichen gelbgrüne Farbe aufweisen.

Das mittlere Band zeigt die gleichen spectroskopische- und Löslichkeitsverhältnisse wie die Ursprüngliche Lösung, während die beiden anderen nach Lösung in Methylalkohol, eine deutliche braunrote Fluorescenz aufweisen.

Wird die Methylalkoholische Lösung der beiden fluorescierenden Substanzen auf dem kochenden Wasserbade bis auf ca. 5 cm³ eingengt, so verändert sich die Farbe zu schmutzig gräugrün, unter gleichzeitigem Ausfallen eines Niederschlages. Nach Filtration zeigt die Flüssigkeit eine

graubräunliche Farbe und fluoresciert intensiv violettbraun. Spectroskopisch wurde ein Absorptionsband bei ca. 7000 \AA festgestellt.

Bemerkenswert ist das Verhalten des grünen Belonenfarbstoffes gegenüber der Oxydation mit HNO_3 .

Wird nitrihaltige HNO_3 (65%) vorsichtig einer Chloroformlösung des Farbstoffes zugesetzt, so verändert sich die Farbe binnen 1-2 Minuten zum Kobaltblau, um nach weiteren 2-3 Minuten, dunkelviolette Farbe anzunehmen. Diese Farbe behält die Lösung während einiger Stunden, wenn Sorge getragen wird die Salpetersäure zu entfernen. Weitere Oxydation führt zu einer orangegelben Lösung.

Die bei der Oxydation eintretenden Spectrale Veränderungen verhalten sich wie folgt. Beim erscheinen der blauen Farbe erscheint gleichzeitig ein dunkles Absorptionsband im rot, welches sich fortwährend verbreitet, um beim Umschlag der Lösungsfarbe zum violett, sich zu verdoppeln. Die Lage der Absorptionsbänder ist folgende:

In konzentr. Lösungen:	Erstes Band	$7000 - 6190 \text{ \AA}$
	intensiv	Max. nicht deutlich
	Zweites Band	$5375 - 5110 \text{ \AA}$
	schwach	Max. 5245 \AA
In verd. Lösungen:	Erstes Band	$6765 - 6495 \text{ \AA}$
	deutlich	Max. 6555 \AA
	Zweites Band	undeutlich
	schwach	Max. ca. 5230 \AA

Durch H_2O_2 wird der grüne Farbstoff zu einen gelblichen Körper oxydiert.

Der Farbstoff konnte aus seinen Lösungen nur als amorpher Körper gewohnen werden, er ist bis jetzt trotz weitgehender Reinigung nicht im krystallinischen Zustande erhalten worden.

BESPRECHUNG DER RESULTATE

Da vorliegende Arbeit erst im Spätherbst 1954 unternommen worden ist, einem Zeitpunkte an dem die Belonen des Mittelmeeres verschwinden, so war die vorliegende Menge an Material nicht genügend um eine gründlichere Untersuchung des grünen Schuppenfarbstoffes zu gestatten. Dessen ungeachtet, erlauben die bis jetzt vorliegende Ergebnisse, eine Identität zwischen Biliverdin und den Belonenfarbstoff, entschieden zu verneinen.

Biliverdin ist in wässrigen Säuren löslich, dagegen ist es unlöslich in Chloroform. Genau umgekehrt verhält sich der von uns untersuchte grüne Farbstoff, indem er sich in Chloroform ausserordentlich gut löst, dagegen nicht in Säuren.

Eine noch grössere Bedeutung gebührt den spectroscopischen Unterschieden, indem sowohl das Zinkkomplexsalz, sowie Oxydationstufen des Belonenfarbstoffes, im Vergleich zu Biliverdin, gänzlich verschiedene Absorptionsbänder aufweisen.

Durch Verdunsten lassen seiner Chloroform bzw. Dioxanlösungen konnte der Belonenfarbstoff nicht bis jetzt, trotz weitgehender Reinigung, krystallinisch erhalten werden.

Die beobachtete rote Fluorescenz zweier Fractionen nach CaCO_3 Adsorptionschromatographie, könnte auf das Vorhandensein kleinster Porphyrinmengen beruhen¹.

Wir behalten uns vor die nähere Natur des Belonenfarbstoffes festzulegen, möchten aber in Anbetracht seiner positiven Gmelin'scher Reaction, ihn als einen den Gallenfarbstoffen nahe stehenden Bilinkörper erkennen. Ein ähnlicher Farbstoff, doch mit verschiedenen Eigenschaften, wurde in der Molluske *Halotis Californiensis* gefunden².

ZUSAMMENFASSUNG

An Hand Spectroscopischer- und Löslichkeitsunterschiede ist der grüne Schuppenfarbstoff der Belonen zwar als einer den Gallenfarbstoffen verwandter, aber von Biliverdin verschiedener Körper anzusehen.

ΠΕΡΙΛΗΨΙΣ

Οι ιχθύς τοῦ εἶδους *Belone Belone*, Ζαργάνες, τοῦ γένους τῶν φυσοστόμων, φέρουν λέπια εἰς τὰ ὁποῖα περικλείεται πρασίνη χρωστική ἐν ἐνώσει πρὸς ἀνόργανα ἰόντα, πιθανῶς καὶ λεύκωμα, μὴ διαλυομένη ἕνεκα τούτου εἰς ὀργανικά διαλυτικά μέσα, παρὰ μόνον εἰς διὰ HCl ὀξεισθεῖσαν μεθυλικὴν ἀλκοόλην. Ἀπαξ ὅμως ἀπαλλασθεῖσα αὕτη τῶν πρὸς ἄλλα ἰόντα δεσμῶν, διαλύεται εὐκόλως εἰς ὅλα σχεδὸν τὰ ὀργανικά διαλυτικά μέσα καὶ ἰδιαίτατα εἰς τὸ χλωροφόρμιον.

Ἡ χρωστικὴ δὲν δεικνύει χαρακτηριστικὰς ταινίας φάσματος ἀπορροφῆσεως, ἀλλ' ἔντονον ἀπορρόφησιν εἰς τὸ ἄκρον ἐρυθρὸν μέχρι 6320 \AA καὶ εἰς τὸ ἄκρον ἰώδες μέχρις 5245 \AA .

Διὰ προσθήκης εἰς τὸ διὰ χλωροφορμίου διάλυμα τῆς χρωστικῆς, ἀλκοολικοῦ διαλύματος ὀξεικοῦ ψευδαργύρου καὶ ἐλαχίστης ποσότητος $1/10$ καν. διαλύματος ἰω-

¹ A. CHRISTOMANOS, *Nature*, **175**, pag. 1955.

² v. FÜRTH, Vergleichende Physiologie der niederen Tiere. Jena 1903, S. 528.

δίου, εμφανίζεται έντονος φθορισμός βαθέος έρυθρού χρώματος, συγχρόνως δέ τó χρώμα τού διαλύματος καθίσταται διά τó διερχόμενον φώς κυανοϋν.

Διά χρωματογραφικής προσροφήσεως μέσω στήλης CaCO_3 ή πρασίνη χρωστική δύναται νά χωρισθῆ εἰς τήν καθ' έαυτò πρασίνην χρωστικήν, δεικνύουσαν τά αὐτά πρòς τήν αὐτόχθονα χρωστικήν φασματοσκοπικά γνωρίσματα, καί εἰς δύο έτέρας, έχούσας πρασινοκίτρινον χρώμα, καί αἴτινες διαλυόμεναι έντòς μεθυλικῆς ἀλκοόλης φθορίζουν ἀσθενῶς έρυθροκαστανῶς.

Δι' ὀξειδώσεως τῆς πρασίνης χρωστικῆς διὰ 65% καπνίζοντος HNO_3 καί παρακολουθήσεως τῆς ἀντιδράσεως φασματοσκοπικῶς παρατηρεῖται μετατροπή τῆς πρασίνης χρωστικῆς πρòς κυανῆν καί ταύτης έν συνεχείᾳ πρòς πορφυράν· συγχρόνως εμφανίζεται έντονος ταινία ἀπορροφήσεως εἰς τó έρυθρόν με μέγιστον περι τὰ 6555 Å καί εἶτα δευτέρα με μέγιστον εἰς τὰ 5230 Å.

Ἡ ἀντιδρασις αὕτη τού Gmelin, τυπική διά τὰς χολοχρωστικάς καί τά συγγενῆ πρòς αὐτάς σώματα, καί ἡ εἰς τήν περίπτωσιν τῆς πρασίνης χρωστικῆς τῶν ζαργανῶν εμφάνισις αὐτῆς, δικαιολογεῖ τήν ἄποψιν ὅτι ἡ χρωστική αὕτη εἶναι συγγενῆς πρòς τὰς χολοχρωστικάς. Οὐχ ἤττον ὅμως δέν ταυτίζεται ἡ πρασίνη χρωστική τῶν ζαργανῶν πρòς τήν χολοπρασίνην, ὡς ὑπετέθη ὑπό τού Caglar, ἀλλ' ἀντιθέτως, ὡς ἀπεδείξαμεν, διά τῶν φασματοσκοπικῶν ἰδιοτήτων τού διὰ Zn συμπλόκου αὐτῆς ἄλατος, ὡς καί διὰ τῆς διαλυτότητος ταύτης εἰς τó χλωροφόρμιον καί τού μὴ διαλυτοῦ εἰς ὄξέα, διαφέρει αὕτη παντελῶς τῆς χολοπρασίνης. Σχετική χρωστική ἔχει ἀνευρεθῆ παλαιότερον εἰς τὰ μαλάκια *Haliotis Californiensis* πρασίνης ἐπίσης τó χρώμα, ἀλλά διαφερούσης φασματοσκοπικῶς.

Ἡ ἔλλειψις ἀρκετῆς ποσότητος χρωστικῆς ἡμπόδισεν ἡμᾶς ἀπό τού νά προβῶμεν εἰς πληρεστέραν ἀνάλυσιν ταύτης, ἀλλά περι ἧς θὰ προβῶμεν έν εὐθέτῳ χρόνῳ.

ΑΣΤΡΟΜΕΤΕΩΡΟΛΟΓΙΑ.— Αἱ κατά τὰ τελευταῖα 150 ἔτη μεταβολαὶ τῶν ἐποχιακῶν θερμοκρασιῶν τού ἀέρος εἰς 6 τόπους τῆς κεντρικῆς καί βορειοδυτικῆς Εὐρώπης, ὑπό 'Ιωάνν. Ν. Ξανθᾶκη*. Ἀνεκινώθη ὑπό τού κ. Βασ. Αἰγινήτου**.

Ι. Εἰς προηγούμενην ἐργασίαν ἡμῶν [3] ἐδείξαμεν ὅτι αἱ μέσαι μηνιαῖαι θερμοκρασίαι τού ἀέρος T_i καί T_{13-i} , $i=1, 2, \dots, 6$, κατά τούς διαδοχικούς κύκλους τῶν ἡλιακῶν κηλίδων παρίστανται λίαν ἰσανοποιητικῶς ὑπό τῶν ἀναπτυγμάτων:

$$(1) T_i = \frac{2P}{P+1} [A + C \sin(L_i - V)] \cdot \left\{ \frac{1}{P} - \frac{e}{P+1} \cos(L_i - W) - \frac{e^2}{(P+1)^2} \cos^2(L_i - W) \right\}$$

$$(2) T_{13-i} = \frac{2P}{P+1} [A + C \sin(L_i - V)] \cdot \left\{ 1 + \frac{e}{P+1} \cos(L_i - W) + \frac{e^2}{(P+1)^2} \cos^2(L_i - W) \right\}$$

* JEAN XANTHAKIS, Sur les variations des températures saisonnières de l'air à six stations de l'Europe Centrale et du Nord-Ouest pendant les 150 dernières années.

** Ἀνεκινώθη κατά τήν Συνεδρίαν τῆς 3ης Φεβρουαρίου.