

Ueber krystallinisches Methämoglobin.

Von

G. Hüfner und J. Otto.

(Der Redaktion zugegangen am 25. September 1882).

Zu wiederholten Malen hatte der Eine von uns im vergangenen Winter die Beobachtung gemacht, dass sich, wenn Lösungen von erstmals auskrystallisirtem Schweine-Oxyhämoglobin¹⁾ zum Zwecke des Umkrystallisirens in der gewöhnlichen Weise mit dem vierten Theile absoluten Alkohols versetzt und dann in eine Kältemischung gestellt worden waren, nach einer Reihe von Tagen nicht die gewünschten hellrothen Krystalle des Oxyhämoglobins, sondern vielmehr eine schmutzig braune, aber homogene Masse gebildet hatte, die als dicklicher Brei den ganzen Cylinder erfüllte. Besagte Masse war um ihres missfarbigen Aussehens willen das erste Mal schon in Gefahr gewesen, als verdorbenes Material ganz fortgeworfen zu werden, als man bei abermaliger Betrachtung des Cylinders an einigen Stellen noch rechtzeitig einen eigenthümlichen Atlasglanz seines Inhaltes gewahrt und darauf eine Spur desselben unter das Mikroskop gebracht hatte. Da hatte sich in der That gezeigt, dass der ganze Brei aus lauter feinen, braunen Krystallnadelchen bestand, die sich in der wässerig alkoholischen Flüssigkeit bei deren allmäliger Erwärmung im Zimmer nur langsam wieder lösten. In reinem Wasser aber lösten sich die Krystalle bald mit brauner, in alkalischen Flüssigkeiten sogleich mit prächtig rother Farbe; und so wurde es durch diese, namentlich aber durch die an den Lösungen beobachteten Spectralerscheinungen höchst wahrscheinlich, dass man es hier zum ersten Male mit Krystallen

¹⁾ Siehe über dessen Darstellung die vorhergehende Mittheilung.

des bisher nur in gelöstem, höchstens amorphem, Zustande¹⁾ bekannten Methämoglobins zu thun habe.

Diese Wahrscheinlichkeit wurde aber zur Gewissheit erhoben, als es gelang, das erste Präparat auch umzukrystallisiren, zu trocknen und zu analysiren. Zu diesem Zwecke wurde der feine Krystallbrei zunächst auf ein glattes Filter gebracht, das Ganze in den Eisschrank gestellt und der auf dem Filter gebliebene, schon nach einer Nacht von der Mutterlauge getrennte Rückstand mehrere Male mit einer kalt gehaltenen Mischung aus 1 Theil Alkohol und 3 Theilen Wasser gewaschen; alsdann wurde die feuchte Krystallmasse bei einer Temperatur von etwa 40° wiederum in möglichst wenig Wasser gelöst, die auf 0° erkaltete Lösung von Neuem mit dem 4. Theile kalten absoluten Alkohols versetzt und ein oder zwei Tage hindurch im Eisschranke stehen gelassen. Nach dieser Zeit hatten sich abermals reichliche Mengen einer graubraunen, etwa rehfarbenen Krystallmasse ausgeschieden, deren einzelne Krystallindividuen nunmehr entschieden grösser waren als bei der ersten Krystallisation. Dieselben liessen sich deshalb auch rasch und bequem unter Anwendung der Bunsen'schen Wasserpumpe auf einem Papierfilter sammeln und mit der oben genannten Waschflüssigkeit ohne erheblichen Verlust auswaschen. Die über Schwefelsäure bei Zimmertemperatur getrocknete, hernach pulverisirte Masse war ihrem Aeusseren nach von gewöhnlichem trockenen Blutfarbstoffe durchaus nicht zu unterscheiden, gab aber bei einigen Versuchen, bis auf 115° im Wasserstoffstrome erwärmt, noch gegen 12% Wasser ab und lieferte dann, in so scharf getrocknetem Zustande, bei der Elementaranalyse folgende Resultate:

I. Erstes Präparat, bei 115° getrocknet:

- 1) 0,6698 gr. Substanz gaben
- 1,3266 gr. Kohlensäure und
- 0,4272 gr. Wasser.

¹⁾ Siehe Hoppe-Seyler, Physiologische Chemie, Berlin 1881. S. 391.

2. 0,2426 gr. Substanz gaben
0,0484 « Ammoniak.
3. 1,8888 gr. Substanz gaben
0,0899 « schwefelsauren Baryt.
4. 2,8348 gr. Substanz gaben
a) 0,01267
b) 0,01278, also im Mittel =
0,01272 gr. Eisen.

II. Zweites Präparat, gleichfalls bei 115° getrocknet:

1. 0,8018 gr. Substanz gaben
1,5833 « Kohlensäure, und
0,5201 « Wasser.
2. 0,1866 gr. Substanz gaben
0,0367 « Ammoniak.
3. 1,5233 gr. Substanz gaben
0,0718 « schwefelsauren Baryt.

Eine nach Kopfer's Methode ausgeführte Verbrennung endlich lieferte für das zweite Präparat 54,10% Kohlenstoff und 7,09% Wasserstoff.

Hiernach sind die sämtlichen gefundenen procentischen Werthe:

	I.	II.		Mittel.
		a.	b.	
Kohlenstoff.	54,02 %	53,85 %	54,10 %	53,99 %
Wasserstoff	7,09 «	7,21 «	7,09 «	7,13 «
Stickstoff	16,21 «	16,18 «	—	16,19 «
Schwefel	0,66 «	0,66 «	—	0,66 «
Eisen	0,449 «	—	—	0,449 «
Sauerstoff	—	—	—	21,58 «
				100,009 %

Zu vorstehenden analytischen Resultaten haben wir noch Folgendes zu bemerken:

1. Die Stickstoffbestimmungen geschahen nach Will-Varrentrapp, und zwar durch titrimetrische Bestimmung des gebildeten Ammoniaks.

2. Zum Zwecke der Feststellung des Eisengehaltes wurde eine bekannte grössere Substanzmenge in einem Wiessnegg'schen Muffelofen verascht, der Rückstand in Salzsäure gelöst, die Lösung mit Zink reducirt und nach passender Verdünnung (auf 100 ccm.) in zwei getrennten Portionen mit Chamäleon titirt.
3. Bei der Schwefelbestimmung wurde das längere Ausziehen des abfiltrirten und mit heissem Wasser gewaschenen Niederschlags von schwefelsaurem Baryt mit verdünnter Salpetersäure absichtlich unterlassen, da sich dieser Niederschlag in einem sehr grossen Volumen stark verdünnter Salzlösung selber nur langsam gebildet hatte und höchstens unwägbare Spuren fremder Salze mit niedergerissen haben konnte.

Die Löslichkeit des Methämoglobins vom Schwein ist allem Anscheine nach nicht so gross wie diejenige des zugehörigen Oxyhämoglobins: 100 ccm. Wasser lösten in einem Falle bei 0° 5,851 gr. davon auf.

Auch seine Färbekraft ist in neutralen Lösungen nicht so bedeutend, wie diejenige des normalen Farbstoffs. Die photometrischen Constanten, A_m und A'_m , von in blossen Wasser gelöstem Methämoglobin haben für die gleichen Spectralregionen¹⁾, wo diejenigen des Oxyhämoglobins, A_o und A'_o , 0,01345 und 0,001014 betragen, die Werthe 0,002602 und 0,001990.

Vielleicht, dass letztere Werthe auch einmal für die praktische Medicin einiges Interesse gewinnen, insofern sie zur Bestimmung der Hämoglobinmengen dienen können, welche in pathologischen Fällen im Harn oder in anderen Körperflüssigkeiten vorhanden sind.

¹⁾ D 32 E — D 53 E, und D 63 E — D 84 E. — Die Constanten wurden nach dem nämlichen Verfahren und mit den gleichen Apparaten bestimmt, die von Noorden auf den Vorschlag des Einen von uns schon früher benutzt hatte. Siehe diese Zeitschrift, Bd. IV, S. 18.

Nach unseren Erfahrungen besitzt gerade das Schweineblut eine ausserordentliche Neigung, krystallinisches Methämoglobin statt Oxyhämoglobin zu geben: Um aber doch solche Krystalle in allen Fällen sicher und rasch zu gewinnen, empfiehlt es sich, eine concentrirte Lösung des frisch bereiteten Oxyhämoglobins, wie es Jäderholm vorschlägt, mit einer kleinen Menge rothen Blutlaugensalzes — für ein halbes Liter einer möglichst concentrirten, warm bereiteten Lösung genügen ein oder zwei Kryställchen von der Grösse eines Gerstenkornes — zu versetzen und dann kurze Zeit zu schütteln. Die hellrothe Farbe der Lösung geht dabei binnen wenigen Minuten in ein dunkles Braun über, und aus dieser Lösung kann man dann, wie oben angegeben, durch Zusatz von Alkohol und durch Anwendung von Kälte innerhalb eines oder mehrerer Tage eine reichliche Menge der gewünschten Krystalle ausscheiden.

Mit der Lösung der Frage, ob das Methämoglobin ein Peroxyd oder ein Suboxyd des Hämoglobins sei, haben wir uns ernstlich noch nicht beschäftigt. Ob überhaupt diese ganze Frage, so interessant sie an sich auch sein mag, irgend welches bedeutendere biologische Interesse besitzt, ist uns zweifelhaft geworden, seitdem wir uns wie alle Forscher, die sich näher mit dem Gegenstande befasst, überzeugt haben, dass der Sauerstoff im Methämoglobin durchaus nicht so locker wie im Oxyhämoglobin gebunden ist. Auspumpungsversuche blieben wirkungslos, und auch ein Versuch, den Sauerstoff daraus durch Kohlenoxyd zu verdrängen, hat ein negatives Resultat ergeben. Bemerkenswerth aber ist, dass reines Stickoxyd, mit der braunen Lösung zusammengebracht, dieselbe sofort prächtig roth färbte und dass das Spectrum der so erhaltenen Lösung mit demjenigen alkalischer Lösungen unseres Körpers vollkommen übereinstimmte.

Dass gelöstes Methämoglobin durch Fäulniss in Hämoglobin umgewandelt wird, haben auch wir beobachtet.

Durch vorstehende Mittheilungen ist jedenfalls der beste thatsächliche Beweis dafür geliefert, dass das sogenannte Methämoglobin (wenigstens dasjenige des Schweines) kein blosses Gemenge, sondern dass es ein wirkliches, gut krystallisirendes Individuum ist; ein Körper, der — namentlich auch den ausgeführten Analysen zu Folge — dem Oxyhämoglobin äusserst nahe verwandt und vielleicht nur durch eine festere Bindungsweise des ihm anhängenden Sauerstoffs von jenem verschieden ist.

Wir werden die letztere Frage am Methämoglobin des Schweines noch weiter verfolgen.

Tübingen, im September 1882.