

# Ueber das Oxyhämoglobin des Pferdes.

Von

G. Hüfner.

(Der Redaktion zugegangen am 22. April 1884.)

In einer Abhandlung, betitelt: «Ueber den Einfluss der Säuren auf den Sauerstoff des Hämoglobins»<sup>1)</sup> hatte G. Strassburg unter anderen einige mit der Quecksilberpumpe ausgeführte Versuche mitgetheilt, aus welchen sich für das Oxyhämoglobin des Pferdes ein beträchtlich geringerer Sauerstoffgehalt zu ergeben schien, als nach den am Hundebloodfarbstoffe gewonnenen Erfahrungen zu erwarten war. Herr Strassburg selber war zwar geneigt, diese Differenz, ebenso wie die bedeutenden Schwankungen im Werthe der Einzelergebnisse, wesentlich als Folgen einer vor und während der Entgasung stattgehabten energischen inneren Sauerstoffzehrung zu betrachten; allein merkwürdigerweise kam später Herr Setchenow<sup>2)</sup> nach dem gerade entgegengesetzten, nämlich dem absorptiometrischen, Verfahren zu einem ähnlichen Resultate; nach ihm sollte die von der Gewichtseinheit Pferdebloodfarbstoffs lose fixirte Sauerstoffmenge etwa nur die Hälfte von derjenigen betragen, welche von der Gewichtseinheit Hundehämoglobins gebunden wird.

Ein solches Verhalten müsste nun, wenn es ein tatsächliches wäre, begreiflicher Weise höchst auffallend erscheinen; denn es würde ja gegen die Richtigkeit der Annahme sprechen, wonach die von der Gewichtseinheit irgend eines Blutfarb-

<sup>1)</sup> Pflüger's Archiv für die gesammte Physiologie, Bd. 4, S. 454.

<sup>2)</sup> Ebendas., Bd. 22, S. 252.

stoffs lose gebundene Sauerstoffmenge um so grösser sein soll, je mehr Eisen dieselbe enthält: nach der einzigen, bis dahin vorliegenden Analyse des Pferdeblutfarbstoffs von Kossel<sup>1)</sup> beträgt aber der Procentgehalt desselben an Eisen 0,47, ist also erheblich grösser als derjenige des Hundehämoglobins.

Ich habe, um einmal wirklichen Aufschluss über die Sachlage zu erhalten, einen meiner Schüler, Herrn Max Bücheler aus Stuttgart, veranlasst, die ganze Frage einer erneuten experimentellen Prüfung zu unterziehen.

Herrn Bücheler's Resultate sind ausführlich in einer Inaugural-Dissertation<sup>2)</sup> zusammengestellt, die im Herbste 1883 erschienen und aus welcher im Folgenden ein kurzer Auszug gegeben ist. Ausser der Mittheilung derjenigen Versuchsergebnisse, auf welche es hier hauptsächlich ankommt, enthält die genannte Arbeit auch noch analytische Daten über die elementare Zusammensetzung, sowie einige Angaben über Krystallwassergehalt und Löslichkeit des Pferdeblutfarbstoffs. Dieselben können theils als Ergänzung, theils als Bestätigung der Beobachtungen dienen, welche vor einigen Jahren Herr Hoppe-Seyler<sup>3)</sup> und vor Kurzem Hr. Otto in Christiania<sup>4)</sup> über den gleichen Farbstoff veröffentlicht haben.

1. Krystallform und Krystallwassergehalt. Bei der Darstellung des Farbstoffs, die nach der üblichen Methode aus den isolirten Körperchen und zwar durch dreimaliges Umkrystallisiren, unter Benutzung eines Eisschranks, geschah, wurde in der Regel nur das Auftreten von einerlei Krystallform beobachtet. Es waren meist grosse makroskopische Nadeln von 2-3 mm. Länge und etwa  $\frac{1}{2}$  mm. Dicke; Krystalle, die sich bequem auf einem Saugfilter von der Flüssigkeit trennen und mit wässrigem Alkohol (1 Vol. Alkohol auf 3 Vol. Wasser) ohne Schaden auswaschen lassen;

1) Diese Zeitschrift, Bd. 2, S. 150.

2) Max Bücheler: Beiträge zur Kenntniss des Pferdeblutfarbstoffs. Inaugural-Dissertation, Tübingen 1883.

3) Diese Zeitschrift, Bd. 2, S. 149.

4) Pflüger's Archiv für die gesammte Physiologie, Bd. 31, S. 210.

die dagegen, vollständig von der alkoholischen Flüssigkeit getrennt, sehr schnell in eine Menge kleinerer Bruchstücke zerfielen. Nur 1 mal gelang es, den Körper, freilich in ungenügender Menge, in wohlausgebildeten hexagonalen Tafeln zu erhalten. Auch diese änderten, auf dem Objectträger mit Luft in Berührung, alsbald ihre Form, indem sie ihre scharfen Ecken und Kanten verloren und zunächst rosettenartige Gebilde vorstellten, zuletzt aber gleichfalls in lauter kleinere Bruchstücke auseinander fielen.

Nur mit den prismatischen Krystallen konnte der Versuch einer Art von Krystallwasserbestimmung mehrmals wiederholt werden; und auch da nur, nachdem der Krystallbrei über Schwefelsäure oder Phosphorsäureanhydrid bei 0° getrocknet, der so erhaltene harte Kuchen fein pulverisirt und das Pulver dann nochmals mehrere Stunden im Exsiccator gehalten worden war. Der Versuch zeigte, dass die so gewonnene Masse, einige Zeit hindurch im Wasserstoffstrom auf 115° erwärmt, noch ungefähr 3,94 % Wasser abgab. Diese Zahl ist das Mittel aus folgenden vier Versuchen:

1.	5,0865 gr.	Substanz verloren	0,1976 gr.	=	3,885%	Wasser;
2.	5,5590	«	«	0,2167	«	= 3,898 «
3.	6,1566	«	«	«	0,2416	« = 3,93 «
4.	5,088	«	«	«	0,2060	« = 4,05 «

Wie sich aus dem Späteren ergeben wird, lässt sich dieser Befund zur Noth so deuten, dass 1 Molekül ( $m = 12042$ ) der Schwefelsäure trockenen Masse noch immer etwa 28 Moleküle Krystallwasser festhält.

2. Zur Bestimmung der Löslichkeit wurden feuchte prismatische Krystalle verwandt, und als Temperaturen eine solche von 1° und von 20°. Die Menge des gelösten Farbstoffs wurde durch photometrische Messung der Concentration der entstandenen Lösung bestimmt.

1. 100 ccm. Wasser von 1° lösen 2,614 gr.
2. 100 ccm. Wasser von 20° lösen 14,375 gr.

In welcher Krystallform der Körper leichter löslich ist, ob in der prismatischen, oder in derjenigen der hexagonalen

Tafeln, schien uns zunächst weniger wichtig zu wissen, als wie viel überhaupt die Volumeinheit Wasser bei einer bestimmten Temperatur von dem Farbstoffe — derselbe bei 115° getrocknet gedacht — in irgend einer Form gelöst zu halten vermag.

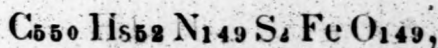
3. Elementaranalysen. — Zu den Analysen diente 3mal umkrystallisirtes, erst über Phosphorsäure, zuletzt etwa noch  $\frac{1}{2}$  Stunde lang bei 115° im Wasserstoffstrome getrocknetes Material. Die erhaltenen Daten sind in der Tabelle auf Seite 361 zusammengestellt.

Die Stickstoffbestimmungen geschahen nach Dumas, die Eisenbestimmungen durch Titiren der in Schwefelsäure gelösten und durch Zink reducirten Asche mit Kaliumpermanganat.

Legt man den von den drei Analytikern, Kossel, Otto, Bücheler, gefundenen Mittelwerthen gleiches Gewicht bei und nimmt aus ihnen abermals das Mittel, so erhält man:

	Kossel.	Otto.	Bücheler.	Mittel:
Kohlenstoff . .	54,87	54,76	54,40	54,68 <sup>0</sup> o
Wasserstoff . .	6,97	7,03	7,20	7,07
Stickstoff . . .	17,31	17,28	17,61	17,40
Schwefel . . . .	0,65	0,67	0,65	0,66
Eisen . . . . .	0,47	0,45	0,47	0,46
Sauerstoff . . .	19,73	19,81	19,67	19,74
Summa . . . . .	100,00	100,00	100,00	100,01%

Unter der Annahme, dass nur 1 Atom Eisen im Moleküle enthalten sei, berechnet sich für den bei 115° getrockneten Farbstoff aus den in Column 5 gegebenen Mittelwerthen die ungefähre empirische Formel:



also das Molekulargewicht  $m = 12042$ .

Wenn ferner  $x$  das fragliche Gewicht des mit 1 gr. Hämoglobin verbundenen Kohlenoxyds, die Zahl 28 das Molekulargewicht des letzteren bedeutet, so erhält man  $x$  aus der Proportion:

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	Mittel:
Kohlen- stoff	54.76	53.80	54.75	54.29	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	54.40 <sup>0/10</sup>
Wasser- stoff	7.04	7.57	6.99	7.20	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	7.20 <sup>s</sup>
Stickstoff	—	—	—	—	17.75	17.62	17.72	17.55	17.39	—	—	—	—	—	17.61
Schwefel	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.653	0.644	—	—	—	0.65 <sup>s</sup>
Eisen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.464	0.472	0.467	0.47 <sup>s</sup>
Sauer- stoff	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	19.67 <sup>s</sup>
															100.000 <sup>0</sup>

$$1 : x = 12042 : 28$$

$$x = \frac{28}{12042} = 0.0023252$$

1.86 ccm. (bei 0° und 760 mm. Druck)

1.41 ccm. (bei 0° und 1 m. Druck).

4. Zur Feststellung des wirklichen Gehaltes des arteriellen Farbstoffs an losem Sauerstoffe wurde die von mir und meinen Schülern bisher schon oftmals gebrauchte Verdrängungsmethode benutzt, desgleichen der nämliche Apparat, der schon zu den früheren Versuchen gedient hatte: auch geschah die quantitative Bestimmung des angewandten Hämoglobins mit dem bekannten Spectrophotometer.

Es wurden zu dem Zwecke zwei Versuchsreihen ausgeführt. In der einen wurde der Sauerstoff des Oxyhämoglobins durch Kohlenoxyd verdrängt, in der zweiten das letztere Gas aus der Kohlenoxydverbindung durch Stickoxyd ausgetrieben.

Wie die nachfolgenden beiden Tabellen zeigen, ist der für  $\frac{V}{Hb}$  zu erwartende Werth in der zweiten Versuchsreihe genauer und grösser gefunden, als in der ersten.

Wie gewöhnlich, bedeutet V auch hier das gefundene Gasvolumen in Cubiccentimetern, reducirt auf 0° und 1 m. Druck, während Hb die angewandte Farbstoffmenge in Grammen.

#### 1. Oxyhämoglobin und Kohlenoxyd.

Versuchsnummer.	V Hb
1.	1,10
2.	1,29
3.	1,22
4.	1,68
5.	1,25
Mittel:	1,31

## II. Kohlenoxydhämoglobin und Stickoxyd.

Versuchs- nummer.	V Hb
1.	1,37
2.	1,37
3.	1,34
4.	1,30
5.	1,34
6.	1,36
7.	1,27
8.	1,35
9.	1,80
10.	1,66
11.	1,34
12.	1,33
13.	1,32
14.	1,33
Mittel:	1,39

Da man keine Berechtigung besitzt, Zahlenwerthe aus einer längeren Reihe hinwegzulassen, auch wenn dieselben etwas stärker von dem Mittelwerthe abweichen, so lange man nicht angeben kann, dass und welche Fehler während der betreffenden Versuche begangen worden, so haben wir auch die Versuchsergebnisse von Nr. 9 und 10 nicht unterdrücken mögen, und so als Endresultat der 14 Versuche die Zahl 1,39 cbem. erhalten. Ohne jene beiden Werthe wäre derselbe = 1,34 cbem.

Insofern es in der Natur und in der Wirkungsweise der chemischen Verwandtschaftskräfte begründet liegt, dass die Menge des in jedem einzelnen Verdrängungsversuche aus der Verbindung ausgetriebenen Gases jederzeit, wenn auch nur äusserst wenig, hinter der geforderten Menge zurückbleiben muss, braucht man sich von vornherein nicht zu wundern, dass auch die von Herrn Bücheler gefundenen Werthe an die auf Grund der Elementaranalyse berechnete Zahl nur näherungsweise hinanreichen.

Je nach dem Ausfalle der Elementaranalyse, besonders aber der Eisenbestimmung, ist indessen auch der geforderte

Werth nicht unbeträchtlichen Schwankungen unterworfen. Nimmt man z. B. Herrn Otto's analytische Ergebnisse als die richtigen an, so berechnet sich das Molekulargewicht des Farbstoffs  $m = 12475$  und die lose fixirte Sauerstoffmenge zu 1,36 cbem. statt zu 1,41 cbem.

Jedenfalls ist durch Herrn Bücheler's Untersuchung der vollgültige Beweis dafür erbracht, dass das Pferdehämoglobin in Bezug auf die Abhängigkeit der lose fixirten Sauerstoffmenge vom Eisengehalte des Moleküls keine Ausnahme von der Regel macht.