

Ueber das Methämoglobin.

Von

F. Hoppe-Seyler.

In Bd. II. S. 150 dieser Zeitschrift habe ich einige Versuche beschrieben, durch welche wie ich glaube unzweifelhaft erwiesen ist, dass das von mir Methämoglobin genannte Zersetzungsprodukt der Blutfarbstoffe als eine Verbindung von Eiweissstoff mit Hämatin angesehen werden muss und dass die von mehreren Beobachtern ausgesprochene Vermuthung, das Methämoglobin sei eine höhere Oxydationsstufe des arteriellen Blutfarbstoffs, auf einem Irrthum beruht.

Die von mir beschriebenen, leicht ausführbaren Versuche sind meines Wissens von keiner Seite her angegriffen, wohl aber ist von Herrn A. Jäderholm¹⁾ der Versuch gemacht, denselben eine ganz andere Deutung zu geben, um die von ihm verfochtene Ansicht, dass nämlich das Methämoglobin ein Peroxyd sei, zu retten. In seiner über 20 Seiten langen Abhandlung erkennt man auf jeder Seite, welche Mühe er hierauf verwendet, ohne doch eigentlich zum Ziele zu gelangen. Ueber meinen ersten Versuch erklärt er rundweg, er könne nicht verstehen, was dieser Versuch beweisen solle. Ich hatte eine Lösung, welche sowohl Methämoglobin als auch Oxyhämoglobin enthielt, gleichzeitig aber getrennt davon Aetzkalilauge in einem Kugelapparat mit einem anhaltenden Strome Wasserstoffgas behandelt, dann nach Zuschmelzen des Apparates an beiden Enden die beiden Flüssigkeiten durch Umwenden des Apparats gemischt und alsbald spectroscopisch mich überzeugt, dass sowohl Hämatin als auch

¹⁾ Zeitschrift für Biologie, Bd. XVI, S. 1.

Hämochromogen entstanden war. Es entspricht dies Resultat meiner Angabe, dass das Methämoglobin eine Verbindung von Eiweissstoff mit Hämatin, das Hämoglobin (welches im Wasserstoffstrome aus dem Oxyhämoglobin gebildet wird) eine Verbindung von Eiweissstoff mit Hämochromogen sei. Wäre die Ansicht von Hrn. Jäderholm, nach welcher das Methämoglobin ein höheres Oxyd sein soll, richtig, so würde bei der Spaltung des Methämoglobin entweder ein höheres Oxyd des Hämatin entstanden oder eine Oxydation des zugleich gebildeten Hämochromogens erfolgt sein. Einwendungen gegen die Beweiskraft des Versuches könnten jedoch gemacht werden, insofern eine Oxydation der abgespaltenen Eiweisstoffe stattgefunden haben konnte, oder es konnten, da eine Mischung von Eiweissstoffen mit Aetzkali allmähig reducirend wirkt, das gebildete Schwefelkalium und andere Zersetzungsprodukte den überschüssigen Sauerstoff aufgenommen haben. So unwahrscheinlich diese Vorgänge waren, da die Kalilauge schnell eine Spaltung bewirkte, so glaube ich doch auf diesen Versuch nicht das ganze Gewicht legen zu dürfen.

Der zweite von mir angeführte Versuch ist allen Denen nur zu wohl bekannt, welche sich bemüht haben, aus reinen Oxyhämoglobinlösungen mit der Quecksilberpumpe den sog. locker gebundenen Sauerstoff zu evacuiren. Es bildet sich bei Stubentemperatur in kurzer Zeit, noch schneller bei höherer Temperatur Methämoglobin, so dass offenbar aus diesem Grunde nicht der ganze locker gebundene Sauerstoff des ursprünglich in den Recipienten gebrachten Oxyhämoglobins evacuirt werden kann. Ich habe nun erklärt, dass die Bildung eines Peroxyds vom Oxyhämoglobin doch wohl nicht unter solchen Umständen stattfinden könne, wo der grösste Theil des disponiblen Sauerstoffs vom Oxyhämoglobin bereits entfernt ist. Herr Jäderholm sagt: es könne hier Fäulniss eingetreten sein; er kennt also diese Verhältnisse nicht. Das Methämoglobin bildet sich schon in der ersten Stunde. Wichtig ist für die hier sich bietende Entscheidung nicht die Methämoglobinbildung an sich, sondern der unzweifelhafte

Mangel an Sauerstoff, der die hypothetische Peroxydbildung unmöglich macht.

Als dritten besonders entscheidenden Versuch habe ich die Bildung von Methämoglobin durch Palladiumwasserstoff in einer von der Atmosphäre abgeschlossenen Portion Oxyhämoglobinlösung angeführt. Das Oxyhämoglobin geht hierbei vollständig in Methämoglobin über, ehe auch nur eine Spur Hämoglobin gebildet wird. Dieser Versuch ist, wie ich sagte, deshalb streng beweisend dafür, dass das Methämoglobin weniger Sauerstoff enthält als das Oxyhämoglobin, weil abgesehen von der verschwindend geringen Menge in der Flüssigkeit absorbirt enthaltenen Sauerstoffs (den man sogar grösstentheils auf bekannte Weise entfernen kann, ohne das Oxyhämoglobin zu zersetzen) gar kein Sauerstoff zur Peroxydbildung vorhanden ist, und der aus der Palladiumverbindung entweichende Wasserstoff mindestens noch ebenso viel Sauerstoff zur Wasserbildung verbraucht als er activ macht. Man kann sonach sogar sagen, dass das Methämoglobin bei seiner Bildung aus Oxyhämoglobin höchstens die Hälfte des locker in letzterem gebundenen Sauerstoffs verbraucht.

Hr. Jäderholm wiederholt diesen Versuch und sagt:¹⁾
 «Das Resultat war deutlich und klar: Methämoglobin kann
 «auf die von Hoppe-Seyler angegebene Weise mittelst
 «Palladiumwasserstoffs aus Oxyhämoglobin dargestellt werden,
 «aber das gebildete Methämoglobin verhält sich zu Reduc-
 «tionsmitteln, wie es auch wohl nicht anders zu erwarten
 «war, ganz auf dieselbe Art wie anderes Methämoglobin, es
 «giebt bei Reduction in erster Linie Oxyhämoglobin».

Wenn Herr Jäderholm dies recht gut untersuchen wollte, so brauchte er nur den Versuch länger fortzusetzen; Palladiumwasserstoff ist ja selbst ein sehr energisches Reducionsmittel, wie schon Graham nachgewiesen hat. Sauerstoff konnte in der abgeschlossenen Lösung bald nicht mehr vorhanden sein, und dann musste die Reduction des Methämoglobins beginnen. Sie tritt auch recht kräftig ein, es bildet

¹⁾ A. a. O., S. 11.

sich aber kein Oxyhämoglobin sondern Hämoglobin. Wenn man statt dessen eine Methämoglobinlösung in ein Glasrohr eingeschmolzen einige Zeit stehen lässt, so tritt Fäulniss ein, es wird der freie Sauerstoff verbraucht, dann erfolgt die Reduction des Methämoglobins aber nicht zu Oxyhämoglobin, sondern zu Hämoglobin. Wie ist nun Herr Jäderholm zu jener so irrigen Vorstellung gelangt. Der ganze Irrthum beruht darauf, dass er bei seinen Reductionsversuchen den atmosphärischen Sauerstoff nicht ausschloss, das durch Reduction des Methämoglobins entstehende Hämoglobin also sogleich Sauerstoff fand, mit dem es Oxyhämoglobin bildete.

Es erscheint allerdings schwer erklärlich, dass Herr Jäderholm bei der mehrfachen Wiederholung meines Versuchs mit Palladiumwasserstoff die Ursache seines Irrthums nicht erkannt und die Wirkung des Palladiumwasserstoffs überhaupt nicht durchschaut hat. Ich habe geglaubt, er werde nachträglich seinen Fehler entdecken, aber in den nun seitdem vergangenen zwei Jahren ist meines Wissens keine Berichtigung erschienen.

Bei Gelegenheit ganz anderer Versuche habe ich zwei Methoden geprüft, durch welche bestimmt nachgewiesen wird, dass auch bei der Einwirkung von verdünntem Schwefelammonium, dessen sich Herr Jäderholm hauptsächlich zur Reduction bedient hat, nur Hämoglobin, nicht Oxyhämoglobin gebildet wird.

- 1) Eine dreihalsige Flasche wird zur Hälfte mit passend verdünnter Lösung von Methämoglobin gefüllt, die drei Tubuli sind mit Kautschukstopfen geschlossen, durch deren je eine Bohrung ein Glasrohr gesteckt ist, und zwar im mittleren Tubulus das eine Ansatzrohr eines einfachen Glashahns, welches dann bis in die Mitte der Methämoglobinlösung hinabreicht, während der andere Rohransatz über dem Hahn gerade aufwärts steht. Durch den Kautschukstopfen des einen äusseren Tubulus geht ein Glasrohr bis nahe zum Boden der dreihalsigen Flasche, durch den Stopfen des dritten Tubulus ist ein Glasrohr gesteckt, welches unmittelbar unter dem Stopfen mündet.

Durch einen gläsernen Zweiweghahn wird dann in einem Kipp'schen Apparate entwickeltes reines und in einer Waschflasche mit Wasser gewaschenes Wasserstoffgas bald durch die mit Kautschukschläuchen angefügte Röhre mit Glashahn, bald durch das einfache, bis nahe an den Boden reichende Glasrohr in die Methämoglobiplösung eingeleitet und das aus der dreihalsigen Flasche durch das dritte kurze Glasrohr entweichende Gas noch durch eine halb mit Wasser gefüllte Waschflasche (zum Abschluss von der Atmosphäre) geführt. Nachdem mindestens eine Stunde lang die Wasserstoffdurchleitung geschehen ist, wird das bis nahe zum Boden reichende Glasrohr so weit hinaufgezogen, dass es über der Flüssigkeit mündet, dann der den Glashahn im mittleren Tubulus mit dem Zweiweghahn verbindende Kautschukschlauch mit einer Klemme verschlossen und vom Zweiweghahn abgenommen, darauf durch Wasserstoffdruck unter kurzer Oeffnung des am Glashahn befindlichen Schlauches die Methämoglobinlösung über den Hahn hinaufgetrieben, jetzt der Hahn selbst geschlossen. Es wird nun der Kautschukschlauch vom oberen Ansatzrohr des Hahns abgenommen, das Ansatzrohr selbst mit Wasser und Papier gereinigt, dann mit verdünntem Schwefelammonium gefüllt, $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{2}$ Stunde gewartet, während immer noch Wasserstoff langsam durch die dreihalsige Flasche geleitet wird. Endlich lässt man durch Wasserstoffdruck bei kurzer Oeffnung des Hahns ein wenig Methämoglobinlösung zu dem Schwefelammonium treten und prüft sofort mit dem Spectroscop die Mischung in ihren verschiedenen übereinander stehenden Schichten. Man findet nur die Absorptionsstreifen des Hämoglobin und höher oben das Hämochromogen, die Streifen des Oxyhämoglobin fehlen ganz. Man kann den Versuch natürlich noch vielfach wiederholen nach Reinigung des oberen Ansatzrohres und Eingiessen einer neuen Portion Schwefelammonium.

- 2) Viel einfacher ist eine andere Versuchsanordnung. Ein einfacher Glashahn wird durch einen Halter in senkrechter

Stellung fixirt, auf sein unteres Ansatzrohr ist ein 30 bis 40 Cm. langes, in der Wandung dickes Kautschukrohr aufgezogen und mit Draht festgebunden, die andere Oeffnung des Schlauches ist ebenso an einem 20 Cm. langen offenen Glasrohr befestigt und dies Glasrohr senkrecht neben dem Hahn fixirt. Bei geöffnetem Hahn wird dann vom Glasrohr her der Schlauch, ferner ein Theil vom Ansatzrohr des Hahns und ein Theil vom Glasrohr mit Quecksilber gefüllt. Erhebt man dann das Glasrohr, so steigt das Quecksilber durch die Hahnbohrung bis in das obere Ansatzrohr; man schliesst dann den Hahn, füllt das Ansatzrohr über dem Quecksilber mit Methämoglobinlösung, senkt das Glasrohr und öffnet vorsichtig den Hahn, so dass der grösste Theil der Farbstofflösung durch die Bohrung hinabfliesst, giesst von Neuem Methämoglobinlösung auf und lässt sie durch den Hahn fliessen, reinigt dann das obere Ansatzrohr, füllt es mit Schwefelammonium, wartet $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{2}$ Stunde, lässt dann durch Erheben des Glasrohrs und kurzes Oeffnen des Hahns eine Portion der Farbstofflösung zum Schwefelammonium treten und untersucht mit dem Spectroscop. So lange die Methämoglobinlösung noch absorbirten Sauerstoff enthält, erhält man die Oxyhämoglobinstreifen; sobald dann durch beginnende Fäulniss am folgenden oder einem späteren Tage, je nach der Temperatur, der absorbirt enthaltene Sauerstoff verzehrt ist, zeigen sich bei der Wiederholung des Versuchs die Oxyhämoglobinstreifen nicht mehr, unten in der Mischung findet sich der eine Streifen des Hämoglobins, oben sind meist bald die Hämochromogenstreifen zu erkennen.

Gegen die Angaben von Herrn Jäderholm habe ich noch manche weitere Einwände zu erheben, von denen ich hier aber nur die das Methämoglobin betreffenden erwähnen will. Er spricht mehrmals von reinem Methämoglobin. Ich glaube den Körper ebenso rein oder reiner als andere in den Händen gehabt zu haben und noch zu besitzen, da er aber weder krystallisirt, noch unzersetzt schmelzbar, auch nicht

flüchtig ist, bestimmte Verbindungen mit einfachen chemisch gut bekannten Stoffen so wenig als quantitativ bestimmbare Zersetzungsproducte bekannt waren, hatte man kein Recht, von reinem Methämoglobin zu reden. Wenn ich deshalb Bedenken getragen habe, überhaupt das Methämoglobin als einen wohlcharacterisirten chemischen Körper anzusehen, so glaube ich hierzu gute Gründe gehabt zu haben. Erst als es gelungen war, Methämoglobin ziemlich quantitativ genau in Hämoglobin zu verwandeln und aus diesem den krystallisirten arteriellen Blutfarbstoff wiederzugewinnen¹⁾ mit seinen bestimmten Krystallformen, Lösungsverhältnissen und Fähigkeit, sich in Hämoglobin und indifferenten Sauerstoff zu zerlegen, war die chemische Beziehung dieser Körper zu einander einigermaßen aufgeklärt. Die spectroscopischen Erscheinungen der Methämoglobinlösungen hat Herr Jäderholm, wie ich gern zugebe, wohl am besten beschrieben. Wie trügerisch aber die spectroscopischen Erscheinungen sind, wenn nicht gleichzeitig sorgfältige chemische Untersuchungen mit ihrer Beobachtung Hand in Hand gehen, hat sich in zahlreichen Irrungen, so auch in der soeben nachgewiesenen deutlich erkennen lassen.

Auch hinsichtlich der Entstehung des Methämoglobin muss ich gegen die Angaben des Herrn Jäderholm hervorheben, dass sie stets durch eine Oxydation und nie durch Spaltung geschieht; das Methämoglobin verhält sich in dieser Hinsicht wie das Hämatin, welches aus dem Methämoglobin allein durch einfache Spaltung mittelst Säure oder Alkali, oder durch Einwirkung von Wasser beim Erhitzen der nach feuchten Substanz neben Eiweissstoff entsteht. Durch einfache Dissociation zerlegt sich Oxyhämoglobin in Sauerstoff und Hämoglobin, das letztere durch Spaltung mittelst Säure oder Aetzalkali oder durch Wasser beim Erhitzen in Eiweissstoff und Hämochromogen. Der letztgenannte noch nicht isolirte Farbstoff geht bei Gegenwart von indifferenten Sauerstoff in Hämatin über, wird sonach auch wie Wasserstoff im Entstehungszustande kräftig oxydirend auf andere neben ihm in

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. II, S. 150.

Lösung befindliche Stoffe einwirken. Da nun das Oxyhämoglobin, sowie Hämoglobin sehr leicht oxydirt wird, wie zahlreiche Beobachtungen unzweifelhaft lehren, ist es nicht auffallend, dass bei der Spaltung der Blutfarbstoffe durch Säuren oder Alkalien oder durch Wasser in höherer Temperatur (die trockenen Farbstoffe werden, wie ich früher nachgewiesen habe, bei 100° nicht zersetzt) neben Eiweiss und Hämatin stets zunächst Methämoglobin entsteht, nicht als directes Spaltungsproduct, sondern durch Oxydation herbeigeführt vermittelt der Einwirkung des Hämochromogens auf indifferenten Sauerstoff.

Der Uebergang des Hämoglobin in Methämoglobin kann verglichen werden der Oxydation des Ferrocyanwasserstoff zu Ferricyanwasserstoff, so dass das Molecül Methämoglobin, wenn nicht eine Aufügung von Wasser bei seiner Entstehung erfolgt, gleich viel Sauerstoff enthält, wie das des Hämoglobin. Dass sich das Eisen im Hämochromogen ebenso auch im arteriellen und im venösen Blutfarbstoff als Ferrosium befindet, ergiebt der Befund bei Behandlung des Hämoglobin oder Hämochromogen mit Säure, es bildet sich sehr bald Ferrosiumsalz neben Hämatoporphyrin.

Die zahlreichen Missverständnisse, welche Hrn. Jäderholm bei der Besprechung meiner Angabe über die Blutfarbstoffe und ihrer nächsten Zersetzungsproducte zugestossen sind, besonders die oben beschriebene Täuschung über die Reduction des Methämoglobin, endlich der überaus naive Versuch mit Ferricyankalium und Hämoglobinlösung, welchen er am Ende seiner Abhandlung beschreibt, lassen mich auf alle weiteren Entgegnungen verzichten. Bei dem letzterwähnten Versuch wird in eine durch Fäulniss reducirte Blutlösung in einer Flasche oder Probirrohre, die oben durch Kautschukrohr und dessen Umschnürung geschlossen ist, nach dem Oeffnen des Kautschukschlauches ein kleiner Krystallflitter von Ferricyankalium eingeworfen, dann das Rohr wieder zugeschnürt. Es zeigt sich dann in der Blutlösung oben spectroscopisch neben Methämoglobin auch Oxyhämoglobin. Hat Herr Jäderholm diesen Versuch auch mit einem Quarzsplitter gemacht? Ich

wusste das Resultat voraus, habe aber den Versuch angestellt; das Quarzsplitterchen ruft auch Oxyhämoglobinbildung hervor, und ich will gleich hinzufügen, dass der Sauerstoff nicht, wie Herr Jäderholm vielleicht glauben mag, aus einer Spaltung der SiO_2 in Silicium und Sauerstoff, sondern aus der mit dem Krystalsplitter eingetretenen atmosphärischen Luft stammt. Ein Stückchen Steinsalz hat denselben Effect, und Hr. Jäderholm kann sich auf diese und manche andere Weise überzeugen, dass man den atmosphärischen Sauerstoff gut abschliessen muss, wenn man entscheidende Reactionen mit den Blutfarbstoffen und ihren Zersetzungsproducten vornehmen will.