

## Beiträge zur Kenntniss der Eigenschaften der Blutfarbstoffe.

Von

F. Hoppe-Seyler.

Die rothen Blutkörperchen der Säugethiere unterscheiden sich von andern Zellen durch einen auffallend hohen Gehalt an festen Stoffen, und die feste organische Substanz derselben wird abweichend von allen übrigen Zellen, wenn nicht ganz allein, doch zum bei Weitem grössten Theil aus Blutfarbstoff gebildet. Aller Wahrscheinlichkeit nach ist der Farbstoff nicht, wie man gewöhnlich annimmt, dem Protoplasma beigemischt, sondern stellt selbst das Protoplasma dar. Zerlegt man andere Zellen, so erhält man ausser Cholesterin, Lecithin und Kaliumphosphat Eiweisskörper, aus den rothen Blutkörperchen dagegen Oxyhämoglobin (resp. Hämoglobin), Cholesterin, Lecithin, Kaliumphosphat neben verschwindend geringer Quantität von Albuminstoff.

Während wir an den bewegungsfähigen Protoplasmen physikalische und chemische Aenderungen insofern nachzuweisen vermögen, als wir Aenderungen der Formen, des Wassergehaltes und der Consistenz beobachten, welche unter Aufnahme von Sauerstoff und Abscheidung von Kohlensäure erfolgen, lassen die rothen Blutkörperchen keine amöboide Aenderung der Formen erkennen; über Aenderungen der Consistenz und des Wassergehaltes sind wir nicht unterrichtet, nur die Aenderung des Sauerstoffgehaltes durch Aufnahme und Wiederabgabe von indifferentem Sauerstoff und gleichzeitig, abhängig hiervon, sehr charakteristischer Aenderung der Lichtabsorptionen sind bekannt.

Es kann nicht zweifelhaft sein, dass die Wasserattraction der venösen Blutkörperchen verschieden ist von derjenigen der arteriellen. Es wird also bei dem Uebergang des venösen Blutes in den Lungencapillaren in das arterielle Blut entweder Wasser aus den Blutkörperchen in das Plasma übertreten, beim Uebergang des arteriellen Blutes in das venöse in den übrigen Capillaren des Organismus der umgekehrte Process stattfinden, oder es könnte sich auch umgekehrt verhalten, wenn nicht etwa der in der Lunge gleichfalls stattfindende Process der Abscheidung von  $\text{CO}_2$  in die Lungenluft eine Aenderung dieser Prozesse herbeiführt, die vielleicht compensirend eintritt. Untersuchungen in diesen Richtungen fehlen meines Wissens noch, nur könnte man hierauf die Resultate der Messungen von Manassein<sup>1)</sup> beziehen, nach welchen durch Einwirkung von Sauerstoff die Dimensionen der Blutkörperchen vergrößert, durch die Einwirkung von  $\text{CO}_2$  dagegen verkleinert werden.

Schon vor längerer Zeit habe ich auf die Nothwendigkeit aufmerksam gemacht, die arteriellen Blutfarbstoffe von ihren Spaltungsproducten, den Oxyhämoglobinen, und die venösen Blutfarbstoffe von den Hämoglobinen zu unterscheiden<sup>2)</sup>. Zu den damals bekannten Unterschieden sind seitdem einige weitere hinzugekommen. Die Farbstoffe in den rothen Blutkörperchen sind ebenso wie die Protoplasmen unlöslich in Blutplasma oder Serum oder nicht allzu verdünnten neutralen Salzlösungen. Sie krystallisiren nicht, geben an das Vacuum der Quecksilberluftpumpe den locker gebundenen Sauerstoff leicht ab, zerlegen schnell Wasserstoffhyperoxyd unter Entwicklung von indifferentem Sauerstoff, ohne dabei selbst verändert zu werden. Eine verdünnte wässrige Lösung von Ferricyankalium lässt die Blutkörperchen längere Zeit unzeretzt<sup>3)</sup>. Die Oxyhämoglobine hingegen sind löslich in Plasma, sowie in neutralen Salzlösungen, krystallisiren mehr oder weniger leicht, je nach der Thierspecies, von der das Blut

<sup>1)</sup> W. Manassein, Centralbl. f. d. med. Wiss., 1871, No. 44.

<sup>2)</sup> F. Hoppe-Seyler, Physiologische Chemie, III, S. 380, 1879.

<sup>3)</sup> v. Mering, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. VIII, S. 186, 1883.

entnommen ist, zerlegen, wenn gut gereinigt, das Wasserstoffhyperoxyd kaum unter  $O_2$ -Entwicklung<sup>1)</sup> und werden dabei selbst zersetzt unter Oxydation, werden ferner durch Zusatz selbst sehr verdünnter Ferricyankaliumlösung schnell zu Methämoglobin umgewandelt und geben an das Vacuum der Quecksilberluftpumpe schwierig und kaum vollständig den sog. locker gebundenen Sauerstoff ab.

Durch Aether, Chloroform, Alkohol, wässrige Lösung gallensaurer Salze, weniger vollkommen durch Wasser werden die Farbstoffe der rothen Blutkörperchen zerlegt unter Bildung von Oxyhämoglobin neben Cholesterin und Lecithin, welche letztere in Aether, Chloroform u. s. w. übergehen. Das Lecithin wird durch Ausschüteln der Blutkörperchen mit Aether nie vollständig ausgezogen; bei der nachherigen Behandlung mit warmem Alkohol wird der Rest extrahirt.

Es lässt sich das geschilderte Verhalten der rothen Blutkörperchen nicht wohl anders erklären, als dass im Protoplasma derselben eine Verbindung von Oxyhämoglobin mit Lecithin vorhanden ist, die ebenso wie die Lecithinverbindungen mit Vitellin im Eidotter<sup>2)</sup>, mit andern Stoffen im Protogon des Nervenmark<sup>3)</sup>, und in zahlreichen Pflanzensamen<sup>4)</sup> durch Aether nur theilweise, durch heissen Alkohol vollständig zerlegt werden. Cholesterin wird durch Aether vollständig extrahirt, ob es in diesen Protoplasmenverbindungen auch enthalten und durch Aether völlig abgespalten wird, lässt sich bis jetzt nicht entscheiden.

Die Atomgruppe, welche im Oxyhämoglobin die Function der lockeren Bindung des Sauerstoffmoleküls besitzt, wird bei der Zersetzung der Blutkörperchen nicht verändert. Es wird dies mit voller Sicherheit bewiesen durch die Uebereinstimmung der Lichtabsorptionen im Spectrum sowohl für

1) P. Bergengruen, Ueber die Wechselwirkung zwischen Wasserstoffsperoxyd u. verschied. Protoplasmaformen. Diss., Dorpat 1888.

2) F. Hoppe-Seyler, Med. chem. Untersuch., II, S. 215, 1868.

3) F. Hoppe-Seyler, Physiologische Chemie, IV, S. 677, 1881.

4) E. Schulze und E. Steiger, Zeitschr. f. physiolog. Chem., Bd. XIII, S. 365, 1889.

den arteriellen Blutfarbstoff und das Oxyhämoglobin, als auch für die venösen Blutkörperchen und das Hämoglobin. Im Blute, wie es circulirt, ebenso in den wässrigen Lösungen der krystallisirten Oxyhämoglobine und Hämoglobine entsprechen bestimmte Spectralabsorptionen dem Anhaften sowie dem Fehlen des locker gebundenen Sauerstoffmoleküls. Es würde aber durchaus unrichtig sein, wenn man aus dieser Uebereinstimmung einen Beweis herleiten wollte, dass die krystallisirbaren Oxyhämoglobine und Hämoglobine als solche unverbunden mit andern Atomgruppen in den circulirenden Blutkörperchen des lebenden Organismus enthalten seien.

Soweit bis jetzt die Untersuchungen Entscheidung gebracht haben, hängen scharf bestimmbare Lichtemissionen und Absorptionen stets ab von Atomen oder Atomgruppen, nie oder nur ganz untergeordnet von den ganzen Molekülen. Hinsichtlich der Verbindungen von Kalium, Natrium, Thallium, Indium, Cäsium, Rubidium u. s. w. zweifelt hieran wohl Niemand; in organischen Körpern können nur Gruppen von Atomen diese Einwirkung haben sowohl bezüglich der Emissionen (Fluorescenz) als auch der Absorptionen.

Es ist eine bekannte Thatsache, dass die procentische Zusammensetzung der Oxyhämoglobine der Blutarten verschiedener Thierspecies ebenso wie der Krystallwassergehalt, Krystallform, Löslichkeit in Wasser verschieden sein können, während die Einwirkung auf das Spectrum für alle Oxyhämoglobine übereinstimmt. Es kann hiernach nicht auffallen, dass bei der Abspaltung des Oxyhämoglobin aus seiner Verbindung in den rothen Blutkörperchen eine Aenderung der Lichtabsorptionserscheinungen nicht erfolgt. Der bekannte charakteristische Absorptionsstreifen im Roth zwischen den Linien B und C, welchen das Chlorophyll der lebenden Pflanze im Spectrum hervorrufft, bleibt ungeändert, wenn der Farbstoff mit Alkohol extrahirt ist; auch nach der Darstellung des Chlorophyllan und seiner Verseifung mit siedender alkoholischer Kalilauge, Ausfällen der Chlorophyllansäure und ihrer Isolirung durch Aether und Essigsäure überdauert alle diese chemischen eingreifenden Umwandlungen die charac-

teristische Spectralerscheinung. Die chemischen Eingriffe bei der Umwandlung des Chlorophyll sind viel tiefere als diejenigen der Abspaltung des Oxyhämoglobin aus dem Protoplasma der rothen Blutkörperchen, aber die Unveränderlichkeit der Chlorophyllabsorptionen im Roth scheint vielleicht nicht so wunderbar, weil sie nicht so leichter Umwandlung fähig ist, wie die des Oxyhämoglobins und des rothen Protoplasma der Blutkörperchen bei der Aenderung der Sauerstofftension. Macht man die letztere = 0 durch längeres Durchleiten von reinem Wasserstoffgas, so werden die charakteristischen Absorptionen des arteriellen Blutfarbstoff und des Oxyhämoglobin umgewandelt in diejenigen des venösen Farbstoffs in den Blutkörperchen und ebenso seines Spaltungsproductes, des Hämoglobin.

Leichte Umwandlung der Lichtabsorptionen chemischer Körper durch geringe Oxydation oder Reduction, durch Einwirkung von Säure oder Alkalien ohne eingreifende Aenderung der chemischen Structur der Moleküle lässt sich an zahlreichen Beispielen in der Chemie der organischen Farbstoffe demonstrieren, bei vielen Körpern kann man auch nachweisen, dass eine sehr oberflächliche Aenderung einer Atomgruppe stattfindet, während die ganzen Absorptionen hervorgerufen werden oder verschwinden. Eine Umwandlung jedoch, welche sich derjenigen des Oxyhämoglobin in Hämoglobin und umgekehrt an die Seite stellen lässt, ist bei andern Farbstoffen bis jetzt nicht bekannt geworden. Hypothesen über die chemische Structur der das Sauerstoffmolekül bindenden Atomgruppe sind sonach noch unmöglich, nur steht durch die Erfahrung fest, dass das locker gebundene Sauerstoffmolekül durch die fast gleich schweren Moleküle CO und NO substituirt werden kann ohne wesentliche Aenderung in den Absorptionserscheinungen. Je grösser die Masse des locker gebundenen Moleküls, desto weiter nach dem Roth hin werden die Absorptionsstreifen verschoben.

Spaltet man das Hämoglobin durch Einwirkung von Alkalilauge in Hämochromogen und Albuminat, so bleibt bekanntlich die hauptsächlichste Lichtabsorption, welche die Hämoglobinlösungen zeigen, mitten zwischen den Linien

D und E im Sonnenspectrum im Hämochromogen nicht allein bestehen, sondern wird noch stärker und auf engeren Raum beschränkt, zugleich tritt aber noch ein schwächerer Absorptionsstreifen bei E und b auf, welcher den Hämoglobinslösungen ganz zu fehlen scheint. Bei dieser Spaltung des Hämoglobins büsst das farbige Spaltungsstück seine Beständigkeit ein und wird bei Sauerstoffzutritt schnell umgewandelt in Hämatin, dessen chemische Structur zwar von der des Hämochromogen nicht weit abweicht, dessen Lichtabsorptionen aber ganz abweichende sind, und in dem die interessante Atomgruppe, welche  $O_2$ , oder  $CO$  oder  $NO$  locker zu binden vermag, nicht unverändert enthalten ist.

Wegen der grossen Empfindlichkeit des Hämochromogen gegen den indifferenten Sauerstoff der Luft und wegen seiner leichten Wandelbarkeit unter dem Einfluss von Säuren, durch welche es unter Austritt des Eisens tiefe Zersetzung erfährt, ist die Kenntniss dieses merkwürdigen Farbstoffs bis jetzt noch eine sehr mangelhafte geblieben. Eingehendere Untersuchungen der Kohlenoxydverbindungen des Blutfarbstoff ergaben hier werthvolle Aufschlüsse.

Schon im Anfang des Jahres 1857 hatte ich mich überzeugt<sup>1)</sup>, dass das mit  $CO$  behandelte Blut im Vacuum der Luftpumpe dies Gas viel fester gebunden hält als den Sauerstoff, aber ein Strom von Wasserstoffgas treibt es langsam heraus<sup>2)</sup> und bei beharrlich fortgesetztem Auspumpen mit der Quecksilberpumpe<sup>3)</sup> gelingt es unter gleichzeitiger Anwendung starker Temperaturerhöhung quantitativ das  $CO$  aus dem Blute zu entwickeln.

Aus den Lösungen der Krystalle des Kohlenoxydhämoglobin in Wasser ist schwieriger das  $CO$  zu entfernen, als aus den mit  $CO$  behandelten Blutkörperchen. Die Krystalle dieser Verbindung selbst gaben mir trocken beim Erhitzen im Vacuum kein Kohlenoxydgas. Die feuchten Krystalle gaben nur einen kleinen Theil von  $CO$  ab (für 100 gr. trockene

<sup>1)</sup> Virchow's Archiv, Bd. XI, S. 288, März 1857.

<sup>2)</sup> Donders, Pflüger's Archiv, Bd. V, S. 24, 1872.

<sup>3)</sup> Zuntz, Pflüger's Arch., Bd. V, S. 584, 1872.

CO-Hämoglobinkristalle wurden nur 13,4 cbcm. CO-Gas für 0° und 760 mm. Dr. berechnet erhalten, während 167 cbcm. darin angenommen werden dürfte). Dennoch glaubte ich nach meinen Versuchen schliessen zu müssen<sup>1)</sup>, dass durch Erhitzen im Vacuum aus den Kohlenoxydhämoglobinlösungen der ganze CO-Gehalt wiedererhalten werden könnte, aber ungleich schwieriger als aus dem Oxyhämoglobin der lose gebundene Sauerstoff. Diese Ansicht wurde durch meine späteren Versuche bestätigt.

Leitet man durch eine hinreichend verdünnte wässrige Lösung von krystallisirtem CO-Hämoglobin einen Strom von Wasserstoffgas ohne Unterbrechung 5 bis 6 Stunden lang hindurch, so ist das Kohlenoxyd noch nicht vom Hämoglobin abgetrennt, wenn der Versuch bei gewöhnlicher Temperatur ausgeführt wird, bei hinreichend erhöhter Temperatur gelingt es aber, das Kohlenoxyd auszutreiben. Aus Oxyhämoglobin wird der lose gebundene Sauerstoff durch den Wasserstoffstrom bei 15° binnen 1 bis 2 Stunden vollständig entfernt.

Da hier öfter von der Anwendung des Wasserstoffstromes die Rede ist, erwähne ich gleich jetzt, dass in allen Versuchen die Anordnung der Apparate entweder die früher von mir beschriebene<sup>2)</sup> und abgebildete ist, oder das Gas im verbesserten Kipp'schen Apparate entwickelt wird und zunächst durch eine mit Wasser theilweise gefüllte Waschflasche, dann durch ein gerades, horizontal gerichtetes Glasrohr geht, welches aussen mit Thon beschlagen ist. Sobald angenommen werden darf, dass die Apparate bereits mit ziemlich reinem Wasserstoffgas gefüllt sind, wird das mit Thon beschlagene Rohr in der Mitte durch einen Bunsen'schen Brenner erhitzt und so lange im Glühen erhalten, als der Wasserstoffstrom in Anwendung bleibt. Durch diese Einwirkung der Glühhitze werden Spuren von Sauerstoff entfernt, welche auch bei sehr lange dauernder Wasserstoffentwicklung im Kipp'schen Apparate dem entwickelten Gas beigemischt bleiben. Die

<sup>1)</sup> Hoppe-Seyler, Medic. chemische Untersuchungen, II. Heft, S. 202, 1868.

<sup>2)</sup> Hoppe-Seyler, Medic. chem. Untersuch., Heft IV, S. 541.

an der citirten Stelle beschriebenen und abgebildeten doppelt S-förmigen Röhren habe ich auch bei den obigen und verschiedenen später zu beschreibenden Versuchen mit Vortheil verwendet.

Da man fürchten konnte, dass bei dem Leiten des Wasserstoffgas durch das theilweise glühende Rohr etwaige Verunreinigungen des Gases mit etwas Kohlensäure und Kohlenwasserstoffe, welche bei der Lösung des Zink in der Salzsäure entwickelt werden könnten, unter Bildung von Kohlenoxyd zersetzt würden, ist in andern Versuchen diese Erhitzung nicht angewendet. Das Resultat war in beiden Fällen das gleiche, d. h. die Zerlegung des Kohlenoxydhämoglobin trat bei Behandlung mit dem Wasserstoffstrom in 5 bis 6 Stunden nicht ein, wenn nicht zugleich die Temperatur sehr erhöht war.

Wird eine wässrige Lösung von Kohlenoxydhämoglobin im siedenden Wasserbade erhitzt, so coagulirt dieselbe, indem sich der sehr feinkörnige Niederschlag nur sehr langsam zu Flocken vereinigt und die Flüssigkeit sich klärt. Der erhaltene Niederschlag hat eine hell carminrothe Farbe und zeigt bei der Prüfung mit dem Spectroscop im klaren reflectirten Sonnenlicht die beiden charakteristischen Absorptionsstreifen des Kohlenoxydhämoglobin. Es wird diese Coagulation und optische Prüfung am Besten im zugeschmolzenen Glasrohr bei Abwesenheit von Sauerstoff vorgenommen. Erhitzt man dann auf  $125^{\circ}$  im Oelbade, so bleiben die Erscheinungen unverändert. Der Niederschlag giebt im Vacuum der Quecksilberpumpe kein Kohlenoxyd ab, verändert sich an der atmosphärischen Luft höchstens oberflächlich, wenn er feucht derselben dargeboten wird, löst sich in schwacher Alkalilauge bei Anwesenheit von Sauerstoff unter Bildung von Hämatin, bei Abwesenheit von Sauerstoff zu einer scheinbar unveränderten Kohlenoxydhämoglobinlösung, indem die Spectralabsorptionen genau die nämlichen sind, wie die jener Lösungen.

Wird eine wässrige Lösung von Kohlenoxydhämoglobin bei Abwesenheit von Sauerstoff im zugeschmolzenen Glasrohr mit verdünnter Schwefelsäure gemischt, so bleiben die Ab-



sorptionserscheinungen im Spectrum kürzere oder längere Zeit, meist mehrere Wochen, unverändert; erhitzt man dann die Mischung, so erfolgt bei niederer oder höherer Temperatur je nach der Concentration des Schwefelsäurezusatz früher oder später mehr bläulichrothe Färbung und bei genügender Concentration rother Niederschlag, die Lösung zeigt dann die Lichtabsorptionen des Hämatoporphyrin und wird durch nachherigen Zutritt von Sauerstoff nicht verändert.

Wenn man bei Abwesenheit von Sauerstoff im zugeschmolzenen Glasrohr starke Natronlauge mit wässriger Lösung von Kohlenoxydhämoglobin mischt, so bleiben die Absorptionserscheinungen im Spectrum ungeändert, selbst längeres Erhitzen der Mischung im geschlossenen Rohr auf und über  $80^{\circ}$  im Wasserbade verändert die Spectralerscheinungen nicht, die Absorptionsstreifen bleiben am gleichen Ort im Spectrum und gleich intensiv. Erhitzt man auf  $98$  bis  $100^{\circ}$  einige Zeit, so erfolgt ein feinkörniger Niederschlag, bestehend aus Krystallen mit schwärzlich-röthlicher Farbe. Die Krystalle sind als solche erst bei 300facher Vergrößerung gut zu erkennen; sie bilden meist sternförmig gruppirte Aggregate. Ist der Laugezusatz genügend stark, so entfärbt sich hierbei die Lösung vollkommen. Lässt man dann die Mischung im geschlossenen Rohr erkalten, so löst sich der Niederschlag allmählig wieder auf und die Lösung erhält damit wieder die Spectralerscheinungen des Kohlenoxydhämoglobin. Man kann die Fällung und Wiederlösung des Niederschlags beliebig oft im geschlossenen Rohr wiederholen. Oeffnet man das Rohr, so dass Sauerstoff Zutritt, so bildet sich aus dem feinkrystallinischen Niederschlag, den man abfiltriren kann, ebenso, wenn er sich gelöst hat, aus dem Farbstoff in der Lösung sehr bald Hämatin, welches mit dem Alkali gelbe, grünliche bis rothe Lösung giebt.

Für die geschilderten Versuche über die Einwirkung von Säure und Alkalilauge auf Kohlenoxydhämoglobin u. s. w. bei Abwesenheit von Sauerstoff habe ich mich mit grossem Vortheil der in meiner «Physiologischen Chemie» auf Seite 390 abgebildeten und beschriebenen Röhren mit Einsatz von gestielten oben offenen Röhrchen bedient.

Um nähere Aufklärung über die geschilderten Vorgänge zu erhalten, waren mehrere weitere Untersuchungen erforderlich.

Es wurden zunächst zwei von den oben erwähnten doppelt S-förmig gebogenen Röhren mit einander durch einen Kautschukschlauch verbunden, nachdem in die erste Abtheilung concentrirte Schwefelsäure, in die zweite etwas gepulverte Oxalsäure, in die dritte Kalilauge von 1,27 spec. Gew. und in die vierte etwas Oxyhämoglobinlösung gebracht war. Ein Strom von Wasserstoffgas wurde durch diese Röhren geleitet, nachdem das Gas gewaschen, dann durch glühendes Rohr gegangen war. Aus dem zweiten doppelt S-förmigen Rohr trat das Gas durch Wasser in einer Waschflasche und von da durch langen Kautschukschlauch und am Ende zu enger Spitze ausgezogenes Glasrohr in's Freie. Nach 2stündigem Durchleiten von Wasserstoffgas war mittelst Spectroscop keine Spur von Oxyhämoglobin in der Farbstofflösung mehr zu finden, dennoch wurde zur Sicherheit noch  $\frac{1}{2}$  Stunde Wasserstoff durchgeleitet. Darauf wurde das zweite doppelt S-Rohr ziemlich horizontal gehalten, so dass etwas Kalilauge zur Hämoglobinlösung floss, dann dasselbe wieder vertical gehängt. Sofort erschienen in der Blutfarbstofflösung die Absorptionserscheinungen des Hämochromogen bei der Prüfung mit dem Taschenspectroscop. Die stark alkalische Lösung wurde noch fast zum Sieden erhitzt, während der Wasserstoffstrom langsam immer fort dauerte. Die Absorptionsstreifen des Hämochromogen waren sehr scharf und dunkel. Nach dem Erkalten wurde das erste doppelt S-förmige Rohr für kurze Zeit horizontal gehalten, so dass concentrirte Schwefelsäure zur Oxalsäure floss. Das Gemenge kurze Zeit erhitzt, lieferte Kohlenoxyd und  $\text{CO}_2$ , von denen weiter getrieben die  $\text{CO}_2$  durch die Kalilauge absorbirt wurde, während das  $\text{CO}$  zur Hämochromogenlösung gelangte. Die alsbald vorgenommene Prüfung mit dem Spectroscop ergab, dass die Absorptionsstreifen des Hämochromogen verschwunden und dafür diejenigen des Kohlenoxydhämoglobin eingetreten waren. Dem entsprechend war auch die Gesamtfärbung der Flüssigkeit eine feurigere, schönere geworden. Es wurde noch lange

Zeit Wasserstoff durchgeleitet und endlich das zweite doppelt S-förmige Rohr an beiden Enden durch Ausziehen im Wasserstoffstrome zugeschmolzen. Die Spectralerscheinungen blieben unverändert die des Kohlenoxydhämoglobin.

In einem andern Versuche wurde in die erste Abtheilung eines doppelt S-förmigen Rohres Aetzkalilösung von 1,27 spec. Gew. und in die zweite Abtheilung eine verdünnte Lösung von Kohlenoxydhämoglobin gebracht, dann mehrere Stunden Wasserstoffgas durchgeleitet, welches durch Glühen im mit Thon beschlagenen Rohr von Spuren von Sauerstoff befreit war. Die Spectralabsorptionen in der Kohlenoxydhämoglobinlösung blieben unverändert. Durch kurzes Horizontallegen des doppelt S-förmigen Rohres bei langsamem Wasserstoffstrom wurde darauf ein Theil der Kalilauge zur Kohlenoxydhämoglobinlösung hinübergetrieben, und nach Verticalrichtung des doppelt S-förmigen Rohres die Mischung mit dem Bunsen'schen Brenner erwärmt. Die Absorptionsstreifen des Kohlenoxydhämoglobins waren dann noch immer unverändert. Als aber die Mischung im langsamen Wasserstoffstrom bis zum Sieden erhitzt war, verschwanden diese Absorptionsstreifen und es traten dafür die Absorptionserscheinungen des Hämochromogens bleibend ein. Die Enden des doppelt S-förmigen Rohres wurden im Wasserstoffstrome ausgezogen und zugeschmolzen und die Stellung der Absorptionsstreifen mit grossem Spectroskop mit beleuchteter Scala im Sonnenlichte gemessen.

Konnte es nach den beschriebenen Versuchen nicht zweifelhaft sein, dass das Hämochromogen mit Kohlenoxyd zusammengebracht bei nicht zu hoher Temperatur die Spectralerscheinungen des Kohlenoxydhämoglobin hervorbringt, so schien es von Interesse, zu bestimmen, ob eine Verbindung des Hämochromogen mit CO entsteht, welche die gleiche Atomgruppe enthält, wie das Kohlenoxydhämoglobin.

Es standen zwei Wege zur experimentalen Beantwortung dieser Frage offen. Nämlich 1. musste, im Falle dass diese Gruppe eine Aenderung erfuhr bei der Spaltung von Kohlenoxydhämoglobin, eine Aenderung der Gastension sich zeigen

durch austretendes oder weiterhin aufgenommenes Kohlenoxyd, wenn diese Spaltung im zugeschmolzenen Glasrohr bei Abwesenheit von Sauerstoff, aber Vorhandensein von überschüssigem gasförmigen Kohlenoxyd ausgeführt wird. 2. konnte ein gemessenes Volumen reines Kohlenoxyd über Quecksilber mit Hämochromogenlösung von bekanntem Gehalt zusammengebracht und das von der Lösung aufgenommene Kohlenoxydvolumen bestimmt werden.

Beide Methoden lieferten übereinstimmende Resultate.

In ein Glasrohr wurden eingebracht: 1. eine nicht zu verdünnte Lösung von Kohlenoxydhämoglobin, 2. in einem oben offenen Stielrohr eine Portion 10procentiger Natronlauge, 3. ein kleines ungefähr 16 cm. hohes, nur ungefähr 2—3 mm. weites Quecksilbermanometer, in dessen einem oben geschlossenen Schenkel eine 10 cm. lange Luftsäule eingeschlossen war. Eine Theilung war mit dem Diamant auf die Schenkel des Manometer aufgezeichnet. Das stets vertical gehaltene Glasrohr wurde oben zu engem Rohr ausgezogen, mit Kohlenoxydgas gefüllt und dann durch Ausziehen in der Flamme geschlossen. Der ganze Apparat blieb zunächst 4 Wochen bei 20—30° stehen, um durch die Fäulniss in der Kohlenoxydhämoglobinlösung die letzten in den Flüssigkeiten absorbirten Spuren von Sauerstoff sicher zu entfernen. Nachdem dann mehrmals bei 15° übereinstimmende Werthe der Stellung des Quecksilberniveau in beiden Schenkeln des Manometer abgelesen waren, wurde das Rohr horizontal gelegt und durch Hin- und Herbewegen eine gleichmässige Mischung der Natronlauge mit der Kohlenoxydhämoglobinlösung herbeigeführt. Das Quecksilber im Manometer wurde bei dieser Behandlung wohl etwas verschoben, aber wegen der Enge des Rohrs nicht von Gasblasen getrennt. Weder unmittelbar nach der Mischung, noch nach wochenlangem Stehen bei 20—30°, noch bei mässiger weiterer Erwärmung wurde der Stand des Quecksilberniveau (stets bei 15° und verticaler Stellung des Rohres gemessen) geändert gefunden. Die Absorptionsstreifen in der Lösung bei Prüfung mit dem Spectroscop waren gleichfalls ungeändert geblieben. Schliesslich

wurde der ganze Apparat über 1 Stunde in siedendem Wasser erhitzt. Nach dem Herausnehmen zeigte sich reichlicher schwärzlich-rother pulveriger Niederschlag und bedeutende Verminderung der Färbung der Flüssigkeit und nach dem Erkalten eine Verminderung der Gastension im Rohr; das Quecksilberniveau im offenen Schenkel des Manometer stand 2 mm. höher als vorher. Im Verlaufe der nächsten Wochen löste sich vom Niederschlage wieder mehr und mehr auf, die Lösung nahm dunklere Färbung an und das Quecksilberniveau im offenen Schenkel stieg allmählig noch um 3 mm. Diese Veränderung nach Einwirkung der Siedetemperatur ist nur dann erklärlich, wenn angenommen wird, dass in der Siedetemperatur eine theilweise Abtrennung des Kohlenoxyd vom Hämochromogen stattgefunden hat, zugleich aber ein Theil des Kohlenoxydes in der stark alkalischen Flüssigkeit in ameisensaures Salz umgewandelt ist.

Für die direkte Bestimmung des durch Hämochromogen gebundenen Kohlenoxydgases diente eine Lösung von reinem Hämatin, dargestellt aus Häminkrystallen, welche mit Eisessig gewonnen waren. Die Lösung enthielt in 100 cbcm. 0,5 gr. trocken gewogenes Hämatin.

In ziemlich lange, mit Quecksilber frei von Luftblasen gefüllte Absorptionsröhren, die in der Bunsen'schen Quecksilberwanne standen, wurden Portionen von Kohlenoxyd eingeleitet, die aus Oxalsäure mit concentrirter Schwefelsäure dargestellt und mit viel starker Kalilauge gewaschen waren. Die Einleitung dieser Portionen geschah erst, nachdem aus dem kleinen Entwicklungskolben über 2 Liter Kohlenoxyd in ein Gasometer übergeleitet waren. Durch eingeführte und 24 bis 48 Stunden darin verweilende, befeuchtete Aetzkalkugeln an Platindrähten wurden die noch vorhandenen Spuren von Kohlensäure entfernt.

Nachdem die Volumina der Kohlenoxydgasportionen bestimmt waren, wurden zu zwei dieser Portionen je 20 cbcm. der schwach alkalischen Hämatinlösung, jede enthaltend 0,1 gr. Hämatin, zu zwei andern Portionen des Gases ebenso viel concentrirte Lösung von hydroschwefeligen Natrium.

SO<sub>2</sub> HNa, mittelst einer Bürette hinzugebracht, welche eine hakenförmig umgebogene Spitze hatte. Nach öfterem vorsichtigem Umschütteln und Stehenlassen für mehrere Tage fand die Ablesung der Volumina des restirenden Kohlenoxydgases statt. Darauf wurde zu der einen Portion, welche mit Hämatinlösung in Berührung war, etwas concentrirte Schwefelwasserstoffschwefelkaliumlösung, SKH, zur anderen 20 cbcm. hydroschwefeligsaurer Natrium gebracht, und zu der dritten und vierten CO-Portion die bis dahin nur mit hydroschwefeligsaurer Natrium in Berührung gewesen waren, wurden nun von der Hämatinlösung 22 cbcm. zur einen und 18 cbcm. zur andern aus Büretten hinzugeleitet. Die Flüssigkeitsmischungen blieben mehrere Tage über Quecksilber mit dem Kohlenoxyd in Berührung und wurden jeden Tag mehrmals vorsichtig damit geschüttelt. Endlich fanden die Ablesungen der restirenden CO-Volumina statt. Folgende Ablesungen und Berechnungen ergaben sich in den einzelnen Versuchen:

Versuch I:	Gasvolum.	Temperatur.	Druck in Millimeier.	Gasvolum 0° 1 m. Dr.
Portion CO-Gas . . . . .	31,556 cbcm.	8,0°	650,6	19,946 cbcm.
Nach Einwirkung von 0,1 gr. Hämatin . . . . .	29,387	7,7°	684,633	19,568
Nach Hinzubringen von SKH . . . . .	24,666	7,3°	704,793	16,932
Versuch II:				
Portion CO-Gas . . . . .	38,495	7,6°	647,3	24,243
Nach Einwirkung von 0,1 gr. Hämatin . . . . .	35,667	7,7°	692,575	24,025
Nach Hinzufügen von SO <sub>2</sub> HNa . . . . .	30,087	6,5°	721,435	21,201
Versuch III:				
Portion CO-Gas . . . . .	38,175	7,6°	641,2	23,815
Nach Einwirkung von SO <sub>2</sub> HNa . . . . .	35,262	7,3°	694,012	23,835
Nach Hinzufügen von 0,09 gr. Hämatin . . . . .	30,835	6,5°	730,284	21,995

Versuch IV:	Gas- volum.	Tempe- ratur.	Druck in Millimeter.	Gasvolum 0° 1 m. Dr.
Portion CO-Gas . . . . .	30,379 chem.	7,6°	628,4	18,573 chem.
Nach Einwirkung von SO <sub>2</sub> HNa . . . . .	26,987	7,3°	713,354	18,750 »
Nach Einbringen von 0,11 gr. Hämatin . . . . .	—	—	—	—

(beim Umschütteln verunglückt).

In diesen Versuchen haben 20 cbem. alkalischwässrige Lösung enthaltend 0,1 gr. Hämatin aufgenommen

in Versuch I: 0,497 cbem. CO von 0° und 760 mm. Druck.

in Versuch II: 0,287

Diese kleinen Werthe entsprechen der Absorption dieses Gases von dieser Temperatur und diesem Druck in 20 cbem. Wasser bei den beobachteten Temperaturen und Drücken.

Nach Bunsen's<sup>1)</sup> Bestimmungen absorbiren

1 Liter Wasser bei 5,8° 28,69 cbem. CO von 0° and 0,760 m. Druck.

1 » » 8,6° 27,125 » » »

also 20 cbem. Wasser bei 5,8° 0,517 cbem. CO von 0° u. 0,760 mm. Druck.  
8,6° 0,494

Bei den kleinen Werthen, um die es sich hier handelt, ist eine genauere Uebereinstimmung nicht zu erwarten. Durch den Gehalt an festen Stoffen, die etwas höhere Temperatur und den geringeren Druck, unter welchem das Gas stand, musste ausserdem der Absorptionscoefficient etwas vermindert sein gegenüber den Bunsen'schen Werthen.

Sehr bestimmt ergibt sich, dass das Hämatin in alkalischwässriger Lösung und den sonstigen angegebenen Verhältnissen sich mit Kohlenoxyd nicht verbindet.

Nach der Reduction des Hämatin zu Hämochromogen mittelst KSH oder SO<sub>2</sub>HNa betrug die Volumabnahme des Kohlenoxydgases

in Versuch I: 3,468 cbem. bei 0° und 760 m. Druck berechnet.

» » II: 3,716

» » III: 2,690

<sup>1)</sup> Gasometrische Methoden, 2. Aufl., Seite 212.

Wenn das Hämatin 9% Eisen enthält und für 1 Atom oder 56 Gewichtstheile Eisen nach der Reduction zu Hämochromogen 1 Mol. CO = 28 Gewichtstheile gebunden wird, so nimmt das aus 0,1 gr. Hämatin gebildete Hämochromogen 3,596 cbcm. CO von 0° und 760 mm. Dr. auf<sup>1)</sup>). Die obigen Ergebnisse der Versuche I und II stimmen mit dieser Berechnung überraschend gut überein, denn das Mittel aus den ersten beiden am Besten gelungenen Versuchen giebt 3,592 cbcm. von 0° und 760 mm. Dr.

Durch diese Versuche ist erwiesen, dass das Hämochromogen auch bei Abwesenheit von Albuminstoffen bei den angegebenen Temperaturen und Drucken CO bindet zu einer Verbindung, welche 1 Mol. CO für 1 Atom enthaltenes Eisen, also 1 Gewichtstheil CO für 2 Gewichtstheile Eisen, im Hämochromogen aufnimmt. Dies entspricht auch der Zusammensetzung des Kohlenoxydhämoglobin, in welchem gleichfalls dies Verhältniss obwaltet, da sein Eisengehalt 0,42 %, und das Volumen des in Verbindung tretenden Kohlenoxyd 167 cbcm. von 0° und 760 mm. Dr. für 100 gr. Hämoglobin beträgt.

Wenn der Farbstoff, welcher sich in den mit Kohlenoxyd behandelten Blutkörperchen befindet, umgewandelt wird in das krystallisirte Kohlenoxydhämoglobin, und dann dieser Körper durch Alkalilauge in Kohlenoxydhämochromogen und Albuminat gespalten wird, so erleidet die Verbindung hinsichtlich des Kohlenoxydgehaltes keine Aenderung.

Ebenso tritt bei dieser Umwandlung keine Aenderung in den Lichtabsorptionen ein, welche die Prüfung im Spectrum ergiebt<sup>2)</sup>).

Man ist sonach berechtigt zu dem Schluss, dass im krystallisirten Kohlenoxydhämoglobin und ebenso im Farbstoff der Blutkörperchen eine

<sup>1)</sup> Bunsen, Gasometr. Methoden, S. 381.

1 Liter CO von 0° und 760 mm. Dr. = 1,2515 gr.

<sup>2)</sup> Von Jaederholm sind die Spectralabsorptionen des mit CO behandelten reducirten Hämatin (= Hämochromogen) bereits beschrieben. Meine Messungen bestätigen nur die Messungen von Jaederholm. Maly, Jahresber. f. Thierchemie, 1874.



bestimmte Atomgruppe enthalten ist, welche das Kohlenoxyd gebunden enthält, welche ferner sich durch die bestimmten Lichtabsorptionen auszeichnet, die auch nach Abspaltung des Albuminats im Kohlenoxydhämochromogen unverändert fortbesteht.

Es kann kein Zweifel bestehen, dass diese Atomgruppe identisch ist mit derjenigen, welche im arteriellen Blutfarbstoff und im krystallisirten Oxyhämoglobin 2 Atome Sauerstoff an der Stelle des Mol. CO gebunden enthält.

Die Oxyhämoglobine, die Hämoglobine und Kohlenoxydhämoglobine, ebenso wie die Farbstoffe in den rothen Blutkörperchen enthalten alle Hämochromogen, und dasselbe kann durch einfache Abspaltung aus ihnen, selbst krystallisirt und nahezu quantitativ, erhalten werden. Dieser Farbstoff ist viel beständiger in seinen Verbindungen im Protoplasma der Blutkörperchen, auch noch im Hämoglobin, als nach Abspaltung des Albuminstoffs. Höchst wahrscheinlich ist es eine esterartige Verbindung, welche unter Wasseraufnahme gelöst wird beim Uebergang des Hämoglobin in Albuminstoff und Hämochromogen.

Von mehreren Seiten hat man sich gegen die von mir eingeführte Bezeichnung Hämochromogen ausgesprochen. Ich glaube jetzt nicht allein das Recht in Anspruch nehmen zu dürfen, diesen Körper zu benennen, weil ich ihn zuerst als einfaches Spaltungsproduct der Blutfarbstoffe kennen gelernt, sondern auch weil ich ihn jetzt krystallisirt und isolirt vor mir habe. So lange man nur die Absorptionsstreifen seiner Lösungen kannte, durfte man Zweifel an der Identität des durch Reduction aus Hämatin und des durch Spaltung aus dem Blutfarbstoff erhaltenen Körpers hegen. Sie sind jetzt beseitigt. Die von Stokes mit Rücksicht auf das Auftreten der Absorptionsstreifen nach Anwendung von reducirenden Substanzen auf Hämatinlösungen gewählte Bezeichnung «reducirtes Hämatin» kann jetzt als eine zweckmässige nicht

mehr gelten, weil einerseits Hämatin stets umgewandeltes, nämlich oxydirtes Hämochromogen ist, und Bezeichnungen wie: «Kohlenoxyd-reducirtes Hämatin» gewiss keine glücklichen genannt werden könnten.

Die Bezeichnung Hämatin ist, wie ich bereits hervorgehoben habe, früher viel gebraucht (Lecanu, Mulder), und ich sehe keinen Grund, sie zu ändern. Das Hämatin ist eine Substanz, die durch Oxydation aus dem Hämochromogen entsteht, aber ohne Zweifel weniger Sauerstoff enthält, als das in Oxyhämoglobin enthaltene Sauerstoffhämochromogen, ebenso wie das Methämoglobin weniger Sauerstoff enthält, als das Oxyhämoglobin selbst.

Wird eine Lösung von Oxyhämoglobinkristallen im Wasser in 2 gleiche Theile getheilt, die eine mit Luft, die andere mit Kohlenoxyd geschüttelt, dann beide getrennt zum Sieden erhitzt, längere Zeit im Sieden erhalten und ein Theil der Flüssigkeit abdestillirt, so coagulirt die Oxyhämoglobinslösung grossflockig und aus der klaren Flüssigkeit geht in das Destillat Ameisensäure in geringer Menge über, während das Kohlenoxydhämoglobin, wie bereits oben beschrieben ist, zunächst beim Erhitzen eine hellrothe Trübung giebt, die sich nur allmählig beim langsamen Sieden in sehr feinen Flocken absetzt. Im Destillat finden sich keine Spuren von fetten Säuren. Auch beim Uebergang von Oxyhämoglobin in Methämoglobin tritt saure Reaction ein, welche nicht dem Methämoglobin selbst eigen ist. Bei der Hämatinbildung aus Oxyhämoglobin wird ein Theil des Sauerstoffs zu andern Oxydationen verwendet, also kann das Hämatin nicht ebensoviel Sauerstoff enthalten als das im Oxyhämoglobin enthaltene Sauerstoff-Hämochromogen.

Es ist am Wahrscheinlichsten, dass das Hämatin eine Ferriverbindung ist, während Hämochromogen nachweisbar das Eisen als Ferro-Atom enthält. Wie viele Ferroverbindungen veranlasst auch das freie Hämochromogen bei Berührung mit indifferentem Sauerstoff neben seiner eigenen Oxydation zugleich die von anderen vorhandenen oxydablen

Substanzen, welche für sich allein unfähig sind, mit atmosphärischem Sauerstoff Verbindung einzugehen.

Ueber die Eigenschaften des krystallisirten Hämochromogen, welches man bei 100° durch Einwirkung von Natronlauge auf Hämoglobin erhält, hoffe ich bald weitere Mittheilungen machen zu können.

Die lockere Bindung des Sauerstoff durch den Blutfarbstoff der venösen Blutkörperchen, den man zum Unterschiede von Hämoglobin Phlebin nennen kann, und die hierdurch eintretende Bildung des Farbstoff der arteriellen Blutkörperchen, welchen ich vorschlagen möchte zum Unterschiede von Oxyhämoglobin Arterin zu nennen, ist eine unerlässliche Bedingung des Lebens der warmblütigen, vielleicht auch der kaltblütigen Wirbelthiere. Weder das Hämochromogen noch das krystallisirbare Oxyhämoglobin würden, wenn sie in den rothen Blutkörperchen als solche enthalten wären, den Anforderungen genügen können, dieses Leben zu unterhalten. Das Hämochromogen würde sich zu Hämatin oxydiren und sofort wirkungslos sein, da Hämatin (und seine Verbindung mit Albuminstoff des Methämoglobin) Sauerstoff in lockere Verbindung nicht aufnimmt, zur Zurückführung in Hämochromogen einer Reduction bedarf und neben dieser eine Uebertragung von indifferentem Sauerstoff unmöglich wäre. Hämoglobin in wässriger Lösung wird durch den Sauerstoff der Luft nicht oxydirt, es nimmt ihn auf in dieselbe färbende Atomgruppe, welche auch in Phlebin diese Aufnahme vollführt, aber die hierdurch entstehende Verbindung des Oxyhämoglobin giebt viel schwieriger das Sauerstoffmolekül wieder ab als das Arterin, so dass die Uebertragung des indifferenten Sauerstoff aus der Luft an die Organe des Körpers unter im Uebrigen gleichen Verhältnissen viel unvollkommener erfolgen würde, als sie in Wirklichkeit durch die rothen Blutkörperchen geschieht.

Wäre Oxyhämoglobin in den rothen Blutkörperchen als solches enthalten, so würde auch eine Erholung nach Kohlen-

oxydvergiftung kaum möglich sein, da auch durch den Sauerstoff der Luft Kohlenoxydhämoglobin viel schwieriger unter Abtrennung des Kohlenoxyd zerlegt wird als die Kohlenoxydverbindung des Phlebin.

Nach zahlreichen von mir im Verlauf dieser Untersuchungen ausgeführten Messungen wurden folgende Wellenlängen für die Absorptionsstreifen des Hämochromogen, des CO-Hämoglobin und CO-Hämochromogen gefunden. Zu Grunde gelegt sind die Angström'schen Werthe:

$$D = 5894; E = 5269; b = 5175.$$

Hämochromogen . . . . .	$\alpha$	= 5653 bis 5474;	$\beta$	= 5269 bis 5139
CO-Hämoglobin . . . . .	$\alpha'$	= 5825 » 5616;	$\beta'$	= 5505 » 5222
Etwas verdünntere Lösung	$\alpha'$	= 5808 » 5588;	$\beta'$	= 5465 » 5222
CO-Hämochromogen . . . . .	$\alpha''$	= 5825 » 5616;	$\beta''$	= 5500 » 5222
Etwas verdünntere Lösung	$\alpha''$	= 5808 » 5588;	$\beta''$	= 5500 » 5222