

Ueber die chemischen und optischen Eigenschaften des Blutfarbstoffs.

Zweite Mittheilung.

Von Prof. Felix Hoppe-Seyler in Tübingen.

Die Krystalle, welche man im Blute einiger Nager bereits durch Wasserzusatz, in dem der Hunde u. s. w. durch Zusatz von Wasser und Alkohol erhält, bestehen aus dem Farbstoff des Blutes und Krystallwasser. Von letzterem wird ein Theil beim Trocknen der Krystalle im Vacuum leicht abgegeben, dann findet nur sehr langsam weitere Gewichtsabnahme statt. Die Krystalle sind in Wasser löslich; eine bei 5° gesättigte Lösung von Hundebutkrystallen enthält 2 Grm. trockenen Farbstoff in 100 Ccm. Flüssigkeit. Um Verwechselungen zu vermeiden, nenne ich den Blutfarbstoff Hämatoglobulin oder Hämoglobin. Dieser Körper macht bis auf Spuren anderer Stoffe den einzigen Bestandtheil der rothen Blutkörperchen bei Menschen und Hunden aus, während bei Vögeln und mehreren Säugethieren in den rothen Blutkörperchen noch wesentliche Quantitäten von Albuminstoffen gefunden werden; erst nach Abscheidung dieser Albuminstoffe kann das Blut dieser Thier zur Krystallisation gebracht werden. Rothe Blutkörperchen vom Hunde durch Salzlösungen isolirt krystallisiren bei Wasserzusatz vollständig bis auf den geringen Theil des Farbstoffs, der sich im Wasser löst. Die wässrige Lösung der Krystalle des Hämoglobin gibt beim Verdunsten eine reine Krystallisation dieses Stoffes; man kann die Krystalle 5—6 Mal umkrystallisiren; so lange das Hämoglobin unzersetzt ist, krystallisirt es leicht aus. Im Blute vom Mensch, Hund, Rind, Schaf, Meer-schweinchen, Ratte, Maulwurf, Maus, Igel, Gans, Taube, Huhn, Frosch, Natter, Schildkröte, also wahrscheinlich im Blute sämmtlicher Wirbelthiere existirt in den Blutkörperchen kein anderer Farbstoff als das Hämoglobin, insbesondere ist darin kein Hämatin enthalten. Der als Hämatin bezeichnete Körper ist bisher nur ganz unrein dargestellt, und daher die Zusammensetzung unrichtig angegeben. In selbst verdünnten Lösungen von Albumin, auch in verdünnter Sodalösung löst sich das Hämoglobin weit leichter, als in Wasser; deswegen begünstigt Einleiten von CO_2 die Abscheidung der Krystalle aus dem Blute.

Das Hämoglobin absorhirt, wie bereits in der ersten Mittheilung gesagt ist (dieses Archiv Bd. XXIII. S. 446) gelbes und grünes Licht mit besonderer Energie. Ist seine Lösung durch CO_2 strom oder Fäulniss von O_2 befreit, so äussert es die geringste Einwirkung auf das am schwächsten gebrochene Licht des Sonnenspectrum bis zur Fraunhofer'schen Linie C. Wird die Lösung mit Luft geschüttelt, so nimmt die Absorption für das Licht von der Linie C bis nahe an D sehr stark ab; die Lösung lässt das Licht in ziemlich bedeutender Intensität hindurchgehen. Da nun dieser Theil des Spectrum bereits grosse Lichtintensität besitzt, der Theil des Spectrum von A bis C sehr lichtschwach ist, so erklärt sich daraus

die Helligkeit der Färbung und Durchsichtigkeit des arteriellen Blutes gegenüber der dunklen Farbe des venösen Blutes. Keine Lösung von Hämoglobin in Wasser absorbiert, mag sie Θ_2 enthalten oder nicht, am kräftigsten 2 Lichtpartien zwischen den Linien D und E, und zwar liegen diese Stellen im Sonnenspectrum, wenn man sich die Strecke zwischen D und E in 26 Theile theilt, von D 4 und resp. 19 Theile entfernt. Für diese Stellen des Spectrum ist die Absorption so gross, dass man mit dem gewöhnlichen Spectralapparate hier noch deutliche Absorptionsstreifen erkennt, wenn die Lösung nur 1 Grm. trocknes Hämoglobin in 10 Litres Flüssigkeit enthält, und das Licht durch eine 1 Cm. dicke Schicht derselben gegangen ist. Eine Färbung der Lösung ist bei der angegebenen Dicke der Schicht kaum noch wahrzunehmen, und die Lage der Linie H im Spectrum des durch sie hindurchgegangenen guten Sonnenlichtes (von den Silberspiegeln des Heliostaten reflectirt) ist bereits sicher bestimmbar.

Das Hämoglobin ist sehr zersetzlich. Sehr schwach alkalische Reaction der Lösung, Anwesenheit von Albuminstoffen, Temperatur von oder unter 0° erhalten es; je höher die Temperatur desto schneller die Zersetzung. Keine concentrirte Hämoglobininlösung erhält sich bei gewöhnlicher Temperatur nicht 24 Stunden unzersetzt, auch die Krystalle zersetzen sich mit gleicher Geschwindigkeit, dabei verschwindet theilweise oder ganz der hellrothfärbende Sauerstoff. Verdünnte Lösungen sind etwas beständiger als concentrirte. Völlig trocken lässt sich das Hämoglobin unzersetzt nicht erhalten, selbst bei Anwesenheit von Albumin geht die Zersetzung des trocknenden Hämoglobins schnell von Statten. In jedem Falle wird in einer concentrirten Lösung zuerst sehr schnell, allmählig immer langsamer die Zersetzung des noch vorhandenen Hämoglobins erfolgen; daher findet man in concentrirten Lösungen selbst nach Wochen und Monaten noch etwas unzersetztes Hämoglobin.

Das Produkt, in welches hierbei das Hämoglobin zunächst verwandelt wird, ist in Wasser in jedem Verhältniss löslich, von bräunlicher Farbe, noch nicht krystallisirt dargestellt. Es hindert die Krystallisation des in seiner Lösung befindlichen Hämoglobins (dies Verhalten erklärt, warum man sich stets vergeblich bemüht hat, die Blutkrystalle öfter umzukrystallisiren, man erhielt eben mehr und mehr vom nicht krystallisirbaren Zersetzungsprodukte). Durch Bleiessig wird das Zersetzungsprodukt gefällt, durch geringen Ueberschuss des Fällungsmittels aber bereits wieder gelöst. Es zeichnet sich dieser Körper durch eine kräftige Absorption des Lichtes zwischen C und D im Sonnenspectrum an einer Stelle, die etwa von C $\frac{1}{3}$ soweit entfernt ist, als von D aus.

Beim Trocknen mit Hülfe der Luftpumpe und Schwefelsäure geht das Hämoglobin unter Gewichtsabnahme in diesen Körper über. Durch Schütteln mit Sauerstoff wird die braune Farbe der wässrigen Lösung dieses Stoffes nicht geändert. Blutextravasate, welche lange in Körperhöhlen verweilt haben, enthalten öfters diesen Körper, vielleicht auch manche schwarzgefärbten Harne; binnen 8 Tagen bilden sich aber davon in beiderseits unterbundenen Venenstücken im lebenden Thiere keine nachweisbaren Spuren davon. Am geschwindesten und vollständigsten wird das Hämoglobin in diesen Körper umgewandelt, wenn die Lösung mit

CO_2 gesättigt im verschlossenen Gefässe stehen gelassen wird, während häufiges Schütteln mit atmosphärischer Luft das Hämoglobin eher erhält als zerstört. Ozon aus Phosphor und feuchter Luft bereitet, mit Kalilauge mehrmals gewaschen wirkt nur langsam auf Hämoglobin ein; es entsteht dabei das eben geschilderte Zersetzungsprodukt.

Durch die Aetzlaugen fixer Alkalien schnell, durch Aetzammoniak langsamer wird das Hämoglobin in Hämatin und Globulin gespalten, ebenso durch Säuren z. B. Essigsäure, Weinsäure. Bei Gegenwart von ClH -Verbindungen wird Hämoglobin durch grossen Ueberschuss von Eisessig langsam bei gewöhnlicher Temperatur, schnell beim Erwärmen in Globulin und (4 pCt. Chlor enthaltendes) Hämin, welches krystallisirt ausgeschieden wird, gespalten. Hämin ist chlorwasserstoffsäures Hämatin; durch Lösen in Aetzalkalien schon allmähig durch das Ammoniak der Luft bei hinlänglicher Feuchtigkeit derselben wird das Hämin in Chlormetall und Verbindung des Alkali mit Hämatin zerlegt. Man erhält reines Hämatin aus den Häminkrystallen durch Auflösen in Ammoniak, Abdampfen zur völligen Trockne, Extrahiren des Rückstandes mit Wasser und Trocknen. Das Hämatin besitzt dieselbe dunkel graublaue Farbe wie das Hämin. Beide gleichen in Farbe und Metallglanz der Krystalle dem Rothgiltigerze sowie im braunen Strich (Lecanu hat dies schon ganz richtig für das Hämatin angegeben), das Hämatin enthält ebensoviel Eisen als Stickstoff, von jedem dieser Elemente über 9 pCt.

Concentrirte Schwefelsäure löst die Häminkrystalle unter Entwicklung von Salzsäure. Trägt man die Lösung in Wasser ein und wäscht den Niederschlag mit Wasser, so zeigt derselbe das unveränderte Aussehen des Hämatin, ist aber eisenfrei, fast unlöslich in verdünnten Säuren, leicht löslich in Alkalilaugen. Im Sonnenspectrum zeigt dieser Körper in alkalischer Lösung 4 deutliche Absorptionsstreifen im Roth, Gelb, Grün.

Wegen der zahlreichen bei der Untersuchung dieser Körper sich neu aufdrängenden Fragen, deren Beantwortung nur durch zahlreiche und umständliche Versuche möglich erscheint, habe ich es vorgezogen, in dem Vorstehenden ein Resumé der bereits in der Untersuchung des Hämoglobins zum Abschluss gekommenen Punkte zu geben, ohne auf weitere Untersuchungsergebnisse zu warten. Ich hoffe zwar, die hauptsächlichsten Schwierigkeiten in der Behandlung des leicht zersetzlichen und wegen seiner Eigenschaften für das Leben der Thiere so bedeutungsvollen Blutfarbstoffes überwunden zu haben, sehe aber ein grosses Feld für weitere Untersuchungen, die sich an die bisherigen ohne Weiteres anschliessen, offen. Sobald es mir gelungen ist, 1) meine Arbeiten über die Zusammensetzung des Hämoglobins, des Hämatins, des Globulins und ihre Aequivalentgewichte, 2) die Einwirkung des Sauerstoffs, des Kohlenoxyds und anderer Gase auf den Blutfarbstoff, 3) die Verhältnisse der Oxydationen durch mit Sauerstoff verbundenen Blutfarbstoff, wie sie in den Capillaren des lebenden Thieres vor sich gehen, 4) die Methode zur Bestimmung des Blutfarbstoffes und damit der nassen Blutkörperchen im Blute verschiedener Thiere, abzuschliessen, werde ich ausführlich auch für die hier gemachten Angaben über die Eigenschaften des Blutfarbstoffes die zu diesen Resultaten leitenden Untersuchungen darlegen.