

## XXVII.

## Kleinere Mittheilungen.

## 1.

## Ueber die chemischen und optischen Eigenschaften des Blutfarbstoffs.

## Dritte Mittheilung.

Von Prof. Felix Hoppe-Seyler in Tübingen.

Die Blutkrystalle des Hundes sind einer sorgfältigen Untersuchung hinsichtlich ihrer Zusammensetzung bis jetzt allein von C. Schmidt unterworfen \*), nur sind die von ihm untersuchten Krystalle nicht völlig rein gewesen. Durch mehrmaliges Umkristallisiren, nämlich Auflösen derselben in  $25^{\circ}$  bis  $35^{\circ}$  warmem Wasser bei Vermeidung jedes Ueberschusses vom Lösungsmittel, Abkühlen auf  $0^{\circ}$ , Zusatz von  $\frac{1}{4}$  Vol. Alkohol und Stehenlassen bei  $0^{\circ}$  oder besser  $-10^{\circ}$  bis  $-20^{\circ}$  erstarrt die ganze Flüssigkeit bald wieder zur Krystallmasse, ohne dass die Flüssigkeit gefriert, und diese Procedur lässt sich nach Abfiltriren und Auspressen der Krystalle beliebig oft wiederholen. Die unzersetzten Krystalle zeigen dann stets noch die hellrothe Färbung des arteriellen Blutes. Durch Auspressen möglichst von Mutterlauge befreit enthalten die Krystalle ungefähr gleich viel Wasser und feste Stoffe bei  $100^{\circ}$  trocken. Unter  $0^{\circ}$  kann man sie mit der Luftpumpe über Schwefelsäure soweit trocknen, dass sie nur noch 3 bis 4 pCt. Wasser bei  $110^{\circ}$  bis  $120^{\circ}$  abgeben. Sie stellen dann ein hellziegelrothes Pulver dar, welches jetzt beim Erhitzen bis  $100^{\circ}$  und Erhalten bei dieser Temperatur für mehrere Stunden nur wenig seine Färbung ändert und dann wieder in Wasser gelöst in der Lösung das unveränderte optische Verhalten des Hämoglobin zeigt, auch mit Sauerstoff geschüttelt hellrothe Flüssigkeit gibt, die beiden Absorptionsstreifen im Spectrum auf das Schönste zeigt und durch Zusatz von Alkohol und Abkühlen wieder in Krystallen erhalten wird. Das wasserfreie Hämoglobin kann also unzerstetzt eine Temperatur lange Zeit ertragen, bei welcher das in Wasser gelöste Hämoglobin binnen wenigen Minuten ja Secunden zerstetzt wird. Es deutet dies wohl darauf hin, dass bei der Spaltung des Hämoglobins Wasser aufgenommen werden muss. Allerdings tritt die Veränderung des in Wasser gelösten Hämoglobins durch Erhitzen nicht so schnell ein, als die der Eiweissstoffe, und man kann sich eine von Eiweissstoffen fast völlig freie Lösung

\*) A. Böttcher, Ueber Blutkrystalle. Dorpat, 1862. S. 33.

verschaffen, indem man Blut mit dem halben Volum Wasser verdünnt in einem grossen mit Wasser von  $80^{\circ}$  gefüllten Gefäss im Kolben umschwenkt, bis die Temperatur der Blutlösung auf  $73$  bis  $74^{\circ}$  gestiegen ist, dann schnell auf zerstossenes Eis ausschüttet und filtrirt; das Eiweiss ist dabei völlig coagulirt, und die Flüssigkeit filtrirt schnell und völlig klar, aber eine solche ziemlich reine Lösung von Hämoglobin von Menschen- oder Rindsblut krystallisiert nicht.

Die hellrothe Färbung der Blutkrystalle des Hunde- oder Gänseblutes röhrt von ihrem Gehalte an lose gebundenem Sauerstoff her. Allerdings ist der Sauerstoffgehalt der Krystalle, der sich durch Erwärmen im Vacuum entfernen lässt, gering und zwar um so geringer, je trockner die Krystalle sind, aber sie enthalten lose gebundenen Sauerstoff, so lange sie unzersetzt sind. Aus der dünnbreiigen Krystallmasse wurden auf 100 Grm. trocknes Hämoglobin, berechnet 63,6 Ccm., aus den mit Papier gut ausgepressten Krystallen 58,4 Ccm., aus den unter  $0^{\circ}$  getrockneten und pulverisierten Krystallen 41,1 Ccm. Sauerstoff von  $0^{\circ}$  und  $76$  Cm. Druck ausgepumpt. Es ist diese Quantität Sauerstoff nicht ausreichend, die in den Blutkörperchen des circulirenden Blutes absorbierte Sauerstoffmenge zu erklären, aber die obigen Daten zeigen auch, dass so wie L. Meyer\*) das Verhalten der Kohlensäure zum phosphorsauren Natron beobachtete, auch die Aufnahme des chemisch gebundenen Sauerstoffes durch das Hämoglobin gewissermaassen eine Function der Concentration oder des Wassergehaltes ist, die Absorption mit Sinken des Wassergehaltes abnimmt.

Insbesondere muss ich mich hier gleich gegen die Ansicht von Scherer, der mein Freund A. Schmidt kürzlich das Wort geredet hat\*\*), erklären. Man kann sich leicht überzeugen, dass zu einer mit Sauerstoff geschüttelten Hämoglobinslösung (die noch völlig unzersetzt ist) zugesetzte Kreide oder andere weisse Pulver dieselbe Erhellung der Farbe hervorrufen, als die noch nicht gelösten Blutkörperchen. Das arterielle Blut ist eben durchsichtiger als das venöse, wie ich in meiner zweiten Mittheilung (dieses Archiv Bd. XXIX. S. 133) gezeigt habe, aus dem Grunde müssen auch fein vertheilte Körperchen mehr Licht in der Flüssigkeit reflectiren als in einer dunkleren weniger durchsichtigen Flüssigkeit, mag sie im Uebrigen gleiche oder andere Farbe besitzen. Die Scheerer'sche Erklärung beruht somit auf einem einfachen physikalischen Irrthum.

Da es nun fraglich war, ob die Blutkrystallbildung gar nicht erfolgte, wenn kein Sauerstoff zugegen war, brachte ich concentrirte Krystalllösung mit  $\frac{1}{4}$  Volumen Alkohol zusammen, nachdem mehrere Stunden durch dieselben gut gereinigtes Wasserstoffgas geleitet war. Auch bei der Mischung und nachher blieb die Flüssigkeit unter Luftabschluss und wurde unter  $0^{\circ}$  stehen gelassen. Nach 24 Stunden hatten sich noch keine Krystalle gebildet, nach 48 Stunden wenige, dann erstarrte binnen einigen Tagen allmälig die ganze Flüssigkeit zur Krystallmasse. Die Krystalle sahen dunkelbraunroth aus, wie zersetzte Hämoglobinkrystalle. Ich lasse es dahingestellt, ob sich hier allmälig etwas Sauerstoff den Weg durch den Kautchoukverschluss

\*) Heidenhain, Studien des physiol. Instituts zu Breslau. 2tes Heft. S. 116.

\*\*) Dieses Archiv Bd. XXIX. S. 8.

gebahnt hat, oder wie es mir scheint, auch das von Sauerstoff völlig befreite Hämoglobin Krystalle gibt.

Sehr schöne Krystalle erhält man aus mit Kohlenoxyd behandeltem Hunde- oder Gänseblut oder der Krystalllösung, die damit behandelt war. Die Formen der Krystalle waren denen des sauerstoffhaltigen Hämoglobins ähnlich, die Färbung ist die des mit Kohlenoxyd behandelten Blutes. Diese Krystalle scheinen auch haltbarer zu sein als die mit Sauerstoffgehalt dargestellten. Ihre Lösung zerlegt sich aber auch allmälig über 0° unter Bildung des in meiner vorigen Mittheilung geschilderten Zersetzungsproduktes. Auch die mit Kohlenoxyd dargestellten Krystalle geben im Vacuum beim Erhitzen bis gegen 100° etwas Kohlenoxydgas her, aber es ist sehr wenig; auf 100 Grm. völlig getrocknetes Hämoglobin berechnet würden in dem einen Versuche 13,4 Ccm. Kohlenoxydgas von 0° und 76 Cm. Druck erhalten, im zweiten Versuche ungefähr ebensoviel.

Die Analyse der Gasgemenge wurde ohne alle Anwendung von Pyrogallussäure nur durch Verpuffung mit Sauerstoff und Knallgas und Absorption der Kohlensäure mit Kalikugeln im Eudiometer ausgeführt.

Die Elementaranalyse des trocknen Hämoglobin ergab Zahlen, welche mit denen C. Schmidt's (a. o. O.) gut übereinstimmen. C 54,2, H 7,2, N 16,0, Fe 0,42 wurden als Durchschnittszahlen aus den übereinstimmenden Analysen ermittelt; der Schwefelgehalt wurde von mir noch nicht bestimmt. Phosphorsäure und Alkalien, alkalische Erden enthalten die reinen Krystalle gar nicht; beim Veraschen bleibt reines Eisenoxyd zurück und zwar genau 0,42 pCt. in einer Reihe von Bestimmungen. Schmidt's Analysen würden C 54,2, H 7,2, N 16,3, Fe 0,43, S 0,67, O 20,2 als Procente im Mittel ergeben, wenn man die gefundenen Basen und Phosphorsäure als Verunreinigung abzieht und den Rest als Hämoglobin berechnet.

Reines Hämoglobin mit etwas Chlornatrium und Eisessig behandelt spaltet sich, wie ich in der ersten Mittheilung angegeben habe, in Hämin und Globulin. Auf 100 Theile trocknes Hämoglobin wurden 3,86 Theile krystallisiertes Hämin erhalten; nach der Berechnung aus dem Eisengehalte des Hämin und Hämoglobin müssten 100 Grm. Hämoglobin 4,87 Grm. krystallisiertes Hämin liefern. Hiermit stimmt auch der obige Versuch insofern, als die von den Häminkrystallen abfiltrirte Flüssigkeit noch eine schwach gelbbraune Färbung besass.

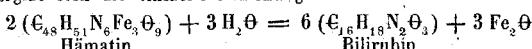
Im Hämin wurden in 3 Bestimmungen 4,14, dann 4,83 und 3,47 pCt. Chlor gefunden. Das aus dem Hämin dargestellte Hämatin besitzt die Zusammensetzung:

Atome	berechnet	I.	II.	III.	IV.	V.	gefunden
C 48	61,34 pCt.	60,93	60,90	61,04	61,18	—	
H 51	5,43	—	5,41	5,27	5,20	5,41	—
N 6	8,95	—	—	—	—	—	8,63
Fe 3	8,95	—	8,68	—	8,81	8,83	—
Θ 9	15,33	—					

Hiernach hat das Hämin die Zusammensetzung  $C_{48}H_{51}N_6Fe_3\Theta_9, HCl$ ; diese Formel erfordert 3,64 pCt. Chlor, eine Quantität, die mit den obigen gefundenen Werthen

ziemlich gut übereinstimmt. Da das Hämin eine gut krystallisierte chemische Verbindung ist, kann man entsprechend der Spaltung des Hämoglobin das Molekulargewicht des letzteren und annähernd das des Globulins berechnen; wenn wirklich, was freilich erst noch zu beweisen wäre, bei der Spaltung des Hämoglobin aus einem Molekül desselben 1 Molekül Globulin hervorgeht. Da das Molekulargewicht des Hämins nach obiger Formel 975,5 und das des Hämatin 939 ist, würde das des Hämoglobin 18665 und das des Globulin etwa 17726 sein, sie würden also in Höhen liegen, wo die einfache Analyse aufhört, irgend eine Genauigkeit zur Feststellung der Formeln zu geben.

Vergleicht man obige Formel des Hämatin mit der, welche Städeler<sup>\*)</sup> kürzlich in seiner schönen Untersuchung über die Gallenfarbstoffe für das Bilirubin angibt, so ergibt sich die einfache Beziehung:



oder durch Substitution von Wasserstoff an die Stelle des Eisens würden aus 1 Molekül Hämatin 3 Moleküle Bilirubin entstehen. Auf die physiologischen Gründe, die für die Annahme der Bildung des Gallenfarbstoffes aus dem Hämatin sprechen, habe ich bereits in früheren Arbeiten über die Gallensubstanzen so ausführlich hingewiesen, dass ich hier nicht nochmals darauf zurückkommen will.

2

## Aerztlicher Nekrolog des Jahres 1863.

Zusammengestellt von Dr. Wilhelm Stricker,

pract. Ärzte in Frankfurt a. M.

1. Januar. Dresden. Hofrath Ernst August Pech, Prof. der Chirurgie an der Akademie in Dresden, geb. zu Hochkirch in der Lausitz, Dr. Wirceb. 1819.
  6. Januar. Jena. Prof. der Chemie K. Lehmann, geb. 1812 in Leipzig, seit 1856 Prof. in Jena.
  2. Februar. Montreux. Dr. Guggenbühl (Abenberg).
  22. Februar. Kopenhagen. Christian Daniel Friedrich Eschricht, geb. 1798, Dr. Hafn. 1825, Prof. 1830.
  - Anfangs April. Köln. Dr. Hoffmann, Director der Provinzial-Irrenanstalt zu Siegburg, durch Selbstmord im Rhein.
  10. April. Florenz. Giov. Batt. Amici, geb. 1786 in Modena, Astronom in Florenz.
  10. April. Wau in Central-Africa. Dr. H. Steudner, als Botaniker und Geognost Heuglin's Begleiter, geb. zu Greifenberg in Schlesien, 31 Jahre alt.

<sup>\*)</sup> Mittheilungen aus dem analytischen Laboratorium in Zürich 1863. I. Ueber die Farbstoffe der Galle.