(Aus dem Institut f. Pharmakologie u. physiol. Chemie d. Universität Rostock.)

Beiträge zur Kenntniss der Methämoglobine.

Von

Professor Dr. **Rud. Kobert.**

Inhaltsverzeichniss.

	Seite
Einleitung, Allgemeines	603
1. Ueber alkalisches Methämoglobin	607
2. Ueber Photomethämoglobin	609
3. Ueber Wasserstoffsuroxydmethämoglobin	612
4. Ueber Cyanmethämoglobin	615
5. Ueber Rhodanmethämoglobin	624
6. Ueber Nitritmethämoglobin	624
7. Ueber Schwefelmethämoglobin	625
Anhang: Ueber das Absorptionsvermögen des Blutfarbstoffes und seiner Derivate für violette und ultraviolette Strahlen	626

Einleitung, Allgemeines.

Im Schlussworte einer kleinen Broschüre über Cyanmethämoglobin¹⁾, welche ich vor längerer Zeit erscheinen liess, sagte ich, dass ich demnächst über ein anderes Derivat oder richtiger über einige andere analoge Derivate des Blutfarbstoffes schreiben würde. Nachdem sich nunmehr das nonum prematur in annum bewahrheitet hat, komme ich endlich dazu, das damals Gewollte zur Ausführung zu bringen.

Eins der für Praktiker und Theoretiker wichtigsten²⁾ Derivate des Blutfarbstoffes ist das Methämoglobin (abgekürzt MetHb). Betreffs vieler Einzelheiten über dasselbe verweise ich auf meine oben genannte Schrift, auf mein Lehrbuch der Intoxikationen³⁾, sowie auf H. U. Kobert⁴⁾. Solange die Blutkörperchen noch er-

1) Ueber Cyanmethämoglobin und den Nachweis der Blausäure. Mit einer Tafel in Farbendruck. Stuttgart 1891, F. Enke.

2) Offenbar gerade der umgekehrten Ansicht ist G. v. Bunge, der in der vierten, vermehrten und verbesserten Auflage seines Lehrbuches der physiologischen und pathologischen Chemie (Leipzig 1898) das MetHb überhaupt gar nicht erwähnt.

3) Stuttgart, F. Enke, 1893.

4) Ueber das mikrokrytallographische Verhalten des Wirbelthierblutes. Mit 3 Tafeln. Leipzig 1900, G. Wittrin.

halten sind, kann man der Hoppe-Seyler'schen Nomenclatur nach eigentlich nicht von Methämoglobin, sondern nur von Metphlebin reden. Erst bei der Auflösung der rothen — und, falls Metphlebin anwesend ist, braunen — Blutkörperchen entsteht dasjenige Zersetzungsproduct, von dem wir im Nachstehenden zu reden haben, nämlich das MetHb im engeren Sinne. Weiter kann das MetHb principiell auf drei verschiedene Weisen entstehen, nämlich durch oxydative Gifte, durch reducirend wirkende Gifte und — wenigstens nach Dittrich¹⁾ — durch Salzwirkung. Bis vor Kurzem glaubte man, dass auch verdünnte Säuren im Stande seien, MetHb zu bilden; wie wir sehen werden, hat man diese Ansicht jetzt fallen lassen. Im Nachstehenden ist nur von solchem MetHb die Rede, welches auf oxydativem Wege entsteht. Trotzdem verschiedene Forscher gewisse andere Methoden der Herstellung von oxydativem MetHb mir gegenüber empfehlen, muss ich doch nach vieljähriger, sehr häufiger Beschäftigung mit dem Gegenstande dabei bleiben, zu behaupten, dass weitaus die bequemste und beste Methode der Gewinnung von MetHb darin besteht, dass man zu 1—4%igen filtrirten Lösungen von Fleischfresser- oder Pflanzenfresserblut in destillirtem Wasser einige nicht verwitterte Krystallkörnchen von Ferridecyankalium setzt, damit unter Luftzutritt einige Secunden schüttelt und sofort von den noch nicht völlig aufgelösten Körnchen abgiesst. Ergibt jetzt die spectroscopische und die optische Prüfung, dass noch Oxyhämoglobin vorhanden ist, so wiederholt man die Procedur. Die Menge des verwendeten rothen Blutlaugensalzes war bei mir ausnahmslos eine verschwindend geringe. Für alle nachstehenden Versuche sind stets derartig gewonnene frische MetHb-Portionen, in denen keine Spur von O²Hb und noch weniger von Hämatin vorhanden war, benutzt worden. Ich betone dies namentlich M. Richter²⁾ gegenüber, welcher der irrigen Meinung zu sein scheint, dass man bei derartigem Vorgehen ein buntes Gemisch von O²Hb, MetHb und Hämatin erhalte. Setzt man experimenti causa dem aus 1%igen Blutlösungen durch Ferridecyankaliumzusatz eben erst gewonnenen MetHb etwas gelöstes O²Hb hinzu, so kann man, falls die Prüfung sofort erfolgt, dies unschwer im Gemisch erkennen; nach einiger Zeit pflegt es ebenfalls, und zwar quantitativ, in MetHb überzugehen, während in concentrirten Lösungen eine quantitative

1) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharm. Bd. 29 S. 247. 1896.

2) Prager med. Wochenschr. 1894 S. 9 des Separatabdruckes.

Umwandlung von O^2Hb in MetHb, wie ich gern eingestehe, schwer zu erreichen ist. Das Rinderblut enthält etwa 10 % Hb bezw. O^2Hb , das Hundeblood 15 %; die Werthe der übrigen hier in Betracht kommenden Thierblutarten liegen zwischen den genannten. Eine 1 %ige Blutlösung enthält also 0,10—0,15 % Hb bezw. O^2Hb und nach Behandlung mit Ferridcyankalium die entsprechende Menge von MetHb. Für spectroscopische Untersuchungen sind solche dünnen Lösungen besonders gut geeignet. Eine dem MetHb in mancher Beziehung ähnliche und früher manchmal mit ihm verwechselte Substanz ist das durch Einwirkung sehr verdünnter Säuren auf O^2Hb entstehende Acidhäoglobin von E. Harnack¹⁾. Es ist nämlich braun wie das MetHb und hat auch ein ganz ähnliches Absorptionsband im rothen bezw. orangefarbenen Theile des Spectrums wie jenes. Bei meiner Art des Vorgehens war, wie schon gesagt, ausgeschlossen, dass neben dem MetHb noch irgend welche andere Substanzen vorhanden waren. Dieser Satz gilt auch für Acidhäoglobin. Die Reaction des frischen Blutes, von dem ich ausging, war stets alkalisch, die des daraus gebildeten MetHb stets minder alkalisch, ja meist neutral. Dies steht mit den Angaben Hoppe-Seyler's in Uebereinstimmung, wonach die MetHb-Bildung unter Alkalescentzverminderung vor sich geht, ja selbst zu spurweise saurer Reaction führen kann. Während intra vitam Fleischfresser leicht MetHb-Bildung zeigen, ist dies bei Pflanzenfressern, wenigstens was die Vergiftung durch Kalium chloricum anlangt, nicht der Fall (Cahn); für das im Reagensglas befindliche 1 %ig gelöste Blut beider Thierclassen besteht jedoch dieser auffallende Unterschied nicht. Das MetHb beider Thierclassen zeigt ferner auch vor dem Spectralapparat ein identisches Spectrum und Verhalten gegen Reagentien. Uns interessirt hier von den sechs verschiedenen dem MetHb zugeschriebenen Absorptionsstreifen nur der erste, im Orange bezw. Roth liegende. Dieser den meisten Praktikern allein geläufige erste Streifen liegt den meisten Büchern zu Folge zwischen den Linien C und D und ist in der That weitaus der deutlichste und wichtigste. Aber auch die anderen Streifen existiren und dürfen keinesfalls etwa auf Verunreinigung, z. B. mit O^2Hb , bezogen werden, was einzelne Autoren irrthümlich behauptet haben. Hat man den Verdacht, dass eine MetHb-Lösung O^2Hb enthält, so setzt man zu einer Probe derselben noch etwas O^2Hb . Wird dieses rasch unnachweis-

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 26 S. 558. 1899.

bar, indem es auch in MetHb umgewandelt wird, so ist es sehr unwahrscheinlich, dass vorher noch unumgewandeltes O²Hb vorhanden war. Wird es nicht rasch umgewandelt, so schüttelt man die fragliche MetHb-Lösung nochmals mit einem Körnchen Ferridcyankalium. Fauliges Blut verwende man überhaupt nicht, da in diesem eine spontane rasche Rückverwandlung von MetHb in Hb und O²Hb vorkommen kann. Es ist ja bekannt, dass in der Leiche selbst hochgradige Methämoglobin- und Metphlebinbildung beim Faulen völlig wieder schwinden kann, weil die Mikroben den im MetHb enthaltenen relativ fest gebundenen Sauerstoff zu verbrauchen vermögen. Die meisten nachstehenden Reactionen, die spectroscopischen und optischen Prüfungen stellte ich nicht in den gewöhnlichen spectroscopischen Trögen, sondern in Fläschchen aus ganz weissem Glase mit planparallelen Wandungen und 30 ccm Rauminhalt an, deren Grundfläche ein Rechteck von 30 mm Länge und 20 mm Breite (aber nur 15 mm Lichtung) bildet. In diesen sieht bei hellem Tageslicht eine 1%ige Blutlösung nach dem Schütteln, auch von der Breitseite aus besehen deutlich hellroth, eine daraus dargestellte MetHb-Lösung aber rein gelb aus. Bei Lampenlicht dagegen ist der Unterschied der Farbe eines O²Hb-Fläschchens und eines MetHb-Fläschchens oft kaum wahrnehmbar. Ich habe daher alle Versuche bei hellem Tageslicht gemacht. Stellt man die beiden Fläschchen so vor den Spalt des Spectralapparates, dass das Licht durch den kleinen Durchmesser geht, so sieht man bei frisch geschüttelten 1%igen Blutlösungen die O²Hb-Streifen sehr deutlich als tief schwarze, scharf abgegrenzte Bänder, welche durch eine helle Zone noch oben von einander getrennt sind, und zwar ist der linke Streifen der breitere. Das Fläschchen mit 1%iger MetHb-Blutlösung zeigt bei gleicher Einstellung nur einen schwachen Absorptionsstreifen im Orange, bei Durchgang des Lichtes im grossen Durchmesser des Fläschchens aber einen recht deutlichen, scharf begrenzten Absorptionsstreifen im Roth und Orange. Bei Anwendung 2 oder 3%iger MetHb-Blutlösungen ist auch im kleinen Durchmesser der Absorptionsstreifen recht gut zu sehen. Ich habe vergleichsweise auch mehrere Versuche mit Lösungen von krystallisiertem MetHb angestellt, kann aber nicht behaupten, dass diese sehr schwer zu beschaffenden Lösungen wesentliche Vortheile vor den aus Blut direct dargestellten gehabt hätten. Der in Rede stehende Absorptionsstreifen entsprach bei meinen hier unter Prof. Wachsmuth gemachten Bestimmungen bei 10 mm Dicke einer 0,1%igen

MetHb-Lösung (entsprechend einer 1 %igen MetHb-Blutlösung vom Rind) den Wellenlängen 652—630 $\mu\mu$; Araki fand 648—629, Dittrich 632 $\mu\mu$. — Im Nachstehenden werde ich mich mit einigen Modificationen bzw. Verbindungen des auf oxydativem Wege gewonnenen MetHb beschäftigen, welche darin sich ähnlich sind, dass sie erstens keine sepiabraune, sondern eine rothe Farbe haben, und dass sie zweitens den vorhin besprochenen, für das gewöhnliche MetHb so charakteristischen ersten Absorptionsstreifen nicht zeigen. Ich muss dabei auch auf einige schon bekannte Thatsachen mit eingehen.

1. Ueber alkalisches Methämoglobin.

Versetzt man 1—2 %ige Blutlösungen, welche man durch Ferridecyankalium in MetHb umgewandelt hat, mit einigen Tropfen einer verdünnten Natriumkarbonatlösung, so sieht man, wie beim Umrühren rasch die braune Flüssigkeit sich wieder röthet und in der Farbe gewöhnlichen Blutlösungen ähnlich wird. Statt Natriumkarbonat kann man auch Kaliumkarbonat, Kalkwasser, basisches Natriumphosphat, Ammoniak und andere unorganische Basen mit Ausnahme von Schwefelammonium verwenden; von organischen scheinen ebenfalls die meisten verwendbar zu sein, z. B. freies Nikotin, Koniin etc. — Man nennt die nach Zusatz der Base in der Mischung vorhandene Substanz nach Hoppe-Seyler alkalisches MetHb. Sie hat für die praktische Medicin insofern eine erhebliche Bedeutung, als im Organismus des lebenden Menschen bei MetHb-Bildung naturgemäss meist auch alkalisches MetHb neben dem gewöhnlichen MetHb vorhanden sein dürfte. Ob zur Bildung desselben Vergiftungen (z. B. durch chloresures Kalium) oder Krankheitsprocesse¹⁾ Veranlassung gegeben haben, ist dabei gleichgültig. Leider finde ich in den meisten klinischen und diagnostischen Werken die Frage nach dem Auftreten von alkalischem MetHb beim Menschen überhaupt gar nicht ein Mal berührt. Dies erklärt sich wohl z. Th. daraus, dass die Erkennung desselben neben O²Hb schwierig ist. Das alkalische MetHb hat nämlich zwei Absorptionsstreifen, welche, wie die

1) Meines Wissens hat zuerst v. Maschka (Prager med. Wochenschr. 1893 Nr. 19) die Vermuthung ausgesprochen, dass auch ohne äussere Vergiftung, also durch Krankheitsprocesse, im Organismus MetHb-Bildung zu Stande kommen kann. Seit wir wissen, dass viele Mikroben in Reinculturen MetHb aus O²Hb bilden, ist dies wenigstens für bakterielle Erkrankungen leicht verständlich.

des Acidhämoglobins, denen des O^2Hb der Lage im Grün nach ähnlich sind, sowie einen dritten bei E. Jedoch fallen die ersten beiden mit denen des O^2Hb nicht genau zusammen und sind auch dadurch von jenen zu unterscheiden, dass der rechte (d. h. der nach dem violetten Ende des Spectrums zu gelegene) beim O^2Hb wesentlich breiter ist als der entsprechende des alkalischen MetHb. Ein weiterer Unterschied der beiden Streifen des O^2Hb von denen des alkalischen MetHb besteht, wie Zeynek zuerst angegeben hat und wie ich bestätigen kann, darin, dass das Absorptionsvermögen des alkalischen MetHb bei spectrophotometrischer Messung weit schwächer ist als das des O^2Hb . Ein dritter Unterschied beider Substanzen macht sich geltend, wenn man die fraglichen Blutproben oder deren wässrige Lösungen in verkorkten, steril und luftfrei gefüllten Fläschchen sich selbst überlässt oder, falls man ein schnelles Resultat haben will, in den Brüteschrank stellt. O^2Hb wird dabei durch die sogenannte Sauerstoffzehrung im Blute zu Hb, verliert dabei also den Doppelstreifen im Spectrum und bekommt dafür den des reducirten Hb. Alkalisches MetHb bleibt bei dieser Behandlung lange Zeit unverändert. Das Kohlenoxydblut bleibt bei gleicher Behandlung auch unverändert, lässt sich aber vom alkalischen MetHb-Blute dadurch leicht unterscheiden, dass es auch noch nach Zusatz von Schwefelammon ein zweistreifiges Spectrum behält, während das alkalische MetHb dabei seine beiden Streifen rasch verliert und zu Hb reducirt wird. Auch bei Zusatz von Blausäure (zwei Tropfen einer 0,1 %igen Lösung zu 20—30 ccm Flüssigkeit) lassen sich O^2Hb und alkalisches MetHb leicht von einander unterscheiden. Das Spectrum des ersteren bleibt dabei nämlich in der Kälte ganz unbeeinflusst, während das des letzteren in das einstreifige Spectrum des Cyanmethämoglobins übergeht, über welches ich weiter unten in dieser Arbeit ausführlich zu sprechen haben werde.

Ich glaube, das Vorstehende genügt, um die Meinung Derer, welche, wie z. B. Krukenberg, das alkalische MetHb für „im Wesentlichen aus O^2Hb bestehend“ erklären, als irrig darzuthun. Das alkalische MetHb ist vielmehr eine wohl charakterisirte eigenartige Substanz, welche dieselbe procentische Zusammensetzung hat wie das O^2Hb , welche aber trotzdem von diesem verschieden ist. Von dem gewöhnlichen MetHb unterscheidet sich das alkalische physiologisch-chemisch dadurch, dass der Organismus das alkalische MetHb leichter in O^2Hb zurückverwandeln kann als das gewöhnliche. Unsere Behandlung der Vergiftung

durch Kalium chloricum besteht daher in Darreichung, ja in intravenöser Einspritzung von verdünnten Alkalien. Diese wandeln das gewöhnliche MetHb in alkalisches um, welches alsdann vom Organismus ganz von selbst zum grösseren Theile weiter in O²Hb umgewandelt wird. Der Ort dieser Umwandlung ist uns nicht bekannt, dürfte aber wohl in der Leber zu suchen sein. Das Acidhämoglobin, welches sich bei Säurevergiftungen sehr leicht bilden dürfte, hat klinisch nach meinen Untersuchungen dieselbe Bedeutung wie das MetHb. Man hat Alkalien darzureichen, welche dasselbe, wenn ich mich so ausdrücken darf, in alkalisches Acidhämoglobin umwandeln, und dieses wird seiner Zeit im Organismus wieder zu Hb und O²Hb. Auch physiologisch-chemisch und toxikologisch kann das Acidhämoglobin nicht weit von den Substanzen der MetHb-Gruppe abgetrennt werden, denn es theilt mit diesen die wichtige Eigenschaft, im Reagenzglas durch geeignete chemische Reagentien wieder in Hb und O²Hb übergeführt werden zu können.

2. Ueber Photomethämoglobin.

Als ich mich 1891 und 1892 sehr viel mit MetHb zu beschäftigen hatte, war ich während der heissen Sommerzeit immer sehr unzufrieden, weil die mit grösster Sorgfalt hergestellten dünnen MetHb-Lösungen bei Stehen am Licht sehr rasch verdarben, d. h. roth wurden und ihr Spectrum veränderten. Wie Schuppen fiel es mir von den Augen, als ich einige Jahre später eine Arbeit von Johannes Bock¹⁾ in die Hände bekam, in der gerade diese Umwandlung genau beschrieben war. Bock hatte zunächst dieselbe Beobachtung wie ich gemacht, nämlich dass dünne MetHb-Lösungen am Licht Farbe und Spectrum änderten. Da diese Umwandlung mit der Regelmässigkeit eines Experimentes immer wieder eintrat, wofern nur intensives Sonnenlicht auf dünne Schichten des MetHb einwirkten, nannte Bock das dabei entstehende Product Photomethämoglobin (verkürzt PhotoMetHb). Zum genauen Studium desselben stellte er sich zunächst nach Hüfner²⁾ und nach Jäderholm³⁾

1) Ueber eine durch das Licht hervorgerufene Veränderung des Methämoglobins. Skandin. Arch. f. Physiol. Bd. 6 S. 299. 1895. Ferner Oversigt over Videnskabernes Selskabs Forhandlinger 1895 Nr. 2.

2) Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 7 S. 65. 1882.

3) Nordisk medicinsk Arkiv Bd. 16 Nr. 17. 1884.

MetHb aus Hundeblut in Krystallen dar, löste dies 0,1—0,5 %ig in Wasser und setzte dünne Schichten desselben dem directen Sonnenlichte aus. Ich selbst wiederholte diese Versuche in der Weise, dass ich auf weisse Porzellanteller eine dünne, nur wenige Millimeter dicke Schicht von 1 %igem MetHb-Blut goss. Ob das Verdunsten derselben durch eine übergelegte Glasplatte verhindert wird oder nicht, hat, wie ich entgegen meinen Erwartungen fand, auf den Umwandlungsprocess keinen Einfluss. Vielmehr sieht man in beiden Fällen die Farbe der Flüssigkeit aus dem Sepiabraunen in's Braunrothe und zuletzt in's Tiefrothe übergehen. Gleichzeitig schwindet der Streifen des Spectrums im Orange, die anderen Streifen werden verwischt, und im grünen Theile des Spectrums erscheint ein breites Band, welches dem des reducirten Hämoglobins ähnlich, aber gegen das violette Ende hin verschoben ist. Im blauen Theile des Spectrums findet sich wieder eine hellere Partie; der violette Theil des Spectrums ist dagegen wiederum stark verdunkelt. Der Absorptionsstreifen im Grün liegt nach Bock bei $535\ \mu\mu$. Ich selbst fand unter Beihülfe von Prof. Wachsmuth den des reducirten Hb bei $547\ \mu\mu$ und den des PhotoMetHb bei gleicher Concentration der Lösung bei $535\ \mu\mu$, was sehr gut zu Bock's Angaben stimmt. Den Streifen im Violett fand ich von $460\ \mu\mu$ ab bis zum rechten Ende des sichtbaren Spectrums reichend. Um von der Schnelligkeit der Umwandlung eine Vorstellung zu geben, sei bemerkt, dass 1 %iges MetHb-Blut, sowie eine aus krystallisirtem MetHb hergestellte 0,1 %ige Lösung bei 3 mm Dicke der Schicht binnen 30 Minuten an klaren Sommermittagen völlig in PhotoMetHb umgewandelt werden können. Ich will jedoch nicht unerwähnt lassen, dass auch nach scheinbar völliger Umwandlung der Rand solcher dünnen Schichten immer noch bräunlich aussieht. Beim Aufbewahren der Lösungen im Dunkeln wird das PhotoMetHb nicht wieder in MetHb zurückverwandelt, selbst nicht nach Monaten. Es ist mir nicht gelungen, bei der Bildung von PhotoMetHb die wärmenden Strahlen des Sonnenlichtes auszuschliessen; nach Bock sind die wärmenden Strahlen dabei ganz unbetheiligt. Ebenso war ich nicht in der Lage, mit Lösungen zu arbeiten, für deren unbedingte Keimfreiheit ich hätte eintreten können; nach Bock geht die Umwandlung von MetHb in PhotoMetHb auch in sterilen Lösungen glatt von Statten. Auch den Sauerstoff der Luft ganz auszuschliessen vermochte ich nicht; nach Bock ist seine Anwesenheit oder Abwesenheit scheinbar ohne Einfluss auf die

Umwandlung. Stundenlanges vorheriges Durchleiten von CO^2 und darauf folgendes Abschmelzen des Gefässes hindert nach Bock die Umwandlung nicht. Künstliche Beleuchtung führte nach Bock's Versuchen das MetHb nur sehr langsam und unvollkommen in PhotoMetHb über. Ich selbst konnte wenigstens constatiren, dass das Licht elektrischer Birnen auf die Umwandlung nur sehr wenig einwirkt; auch Auerlicht schien nur minimal zu wirken. Auf concentrirte Lösungen in dicken Schichten wirkt auch das Sonnenlicht nur sehr langsam ein. Die Reaction des PhotoMetHb gegen Lackmus ist neutral. Das Spectrum bleibt unverändert, auch wenn man die Lösungen schwach alkalisch oder schwach sauer macht; Zusatz von mehr Säure zerstört jedoch das PhotoMetHb. Durch sehr vorsichtiges Abdampfen bei niederer Temperatur, am besten im Vacuum, kann man das PhotoMetHb concentriren. Bock gelang es sogar, beim Eintrocknen Krystalle zu erzielen, und zwar zu Bündeln und Haufen angeordnete Prismen. Sie schienen mit denen des O^2Hb der Form nach identisch zu sein, unterschieden sich von diesen aber durch braungelbe Farbe. Von MetHb-Krystallen kann man sie der Farbe nach nur schwer unterscheiden. Da die Lösung des PhotoMetHb intensiv roth aussieht, ist die braungelbe Farbe der Krystalle auffallend. Dass dieselben jedoch nicht etwa aus regenerirtem MetHb bestehen, lässt sich durch Auflösen derselben leicht darthun, denn die gebildete Lösung hat rothe Farbe und zeigt nicht das Spectrum des MetHb, sondern das des PhotoMetHb. Mit Sauerstoff bildet das PhotoMetHb nach Bock keine „auspumpbare“ Verbindung. Es ist zu vermuthen — aber leider noch nicht nachgewiesen —, dass es dieselbe Menge Sauerstoff enthält wie das O^2Hb , dass dieser Sauerstoff aber wie beim MetHb fest gebunden ist. Durch geeignete Reductionsmittel kann man den Sauerstoff des PhotoMetHb aber doch wieder entfernen; man braucht es zu diesem Behufe nur bei Luftabschluss z. B. der Fäulniss zu überlassen. Bekanntlich geht auch MetHb dabei in Hb über. Wie die Fäulniss so bewirken auch Schwefelammonium und andere Reductionsmittel eine Umwandlung des PhotoMetHb in Hb. Bock bezeichnet als das geeignetste Mittel dazu hydroschwefelsaures Zink. Das durch diese Mittel bei Luftabschluss sich bildende Hb lässt sich natürlich durch Schütteln mit Luft wieder in O^2Hb umwandeln. Ob das ursprüngliche PhotoMetHb aus Blut der Pflanzen- oder Fleischfresser dargestellt worden war, war bei meinen Versuchen für die Rückverwandlung

ohne Belang. Durchleiten von Leuchtgas 15 Minuten lang brachte bei meinen Versuchen in Photo Met Hb-Lösungen keine Umwandlung in CO Hb hervor. Neutrales Bleiacetat fand ich ohne Einfluss auf Lösungen des Photo Met Hb, wohl aber vermochte ich den Farbstoff durch ammoniakalischen Bleiessig völlig auszufällen. Nach Entfernung des farblosen Filtrates konnte ich bei raschem Arbeiten aus dem Filtrerrückstand durch gewöhnliches Natriumphosphat den Farbstoff wieder in Lösung überführen. Die Prüfung dieser Lösung ergab, dass sie noch immer unverändertes Photo Met Hb enthielt. In Gemischen mit unumgewandeltem Hb, O²Hb und Met Hb ist das Photo Met Hb schwer zu erkennen. Darum ist auch die für die Klinik wie für die Pharmakologie und physiologische Chemie so wichtige Frage, ob im lebenden Organismus sich unter Umständen Photo Met Hb bildet, noch unentschieden. An ein normales Vorkommen glaubt Bock nicht, dagegen halten er wie auch ich es für nicht unwahrscheinlich, dass es bei pathologischen Zuständen, welche zu Met Hb-Bildung führen, aus dem Met Hb sich im Blute der Haut bei Einwirkung der Sonne bildet. Ob seine Entstehung in solchen Fällen für das Individuum von Nutzen ist, muss erst noch entschieden werden.

3. Ueber Wasserstoffsuperoxydmethämoglobin.

Da das Photo Met Hb am leichtesten entsteht, wenn man Lösungen von Met Hb in sehr dünner Schicht auf flache, grosse Teller giesst und diese an die Sonne stellt, lag es nahe, zu vermuthen, dass die dabei vor sich gehende Verdunstung vielleicht an der Bildung der Substanz mit theilnimmt sei. Obwohl ich später in Uebereinstimmung mit Bock fand, dass Photo Met Hb sich auch bei Verhinderung der Verdunstung bildet, prüfte ich doch die Factoren, welche bei der Verdunstung in Betracht kommen. Da nun bei der Verdunstung an der Sonne an freien Oberflächen von Wasserlachen sich Wasserstoffoxyd bildet, wurde ich veranlasst, den Einfluss von H²O² auf Met Hb zu studiren. In der Literatur fand ich darüber nichts. Meine eigenen Beobachtungen lassen sich kurz in folgende Sätze zusammenfassen. Es gibt thatsächlich eine bisher unbeachtet gebliebene lockere Verbindung von H²O² und Met Hb, welche ich Wasserstoffsuperoxydmethämoglobin (H²O² Met Hb) zu nennen vorschlage. Setzt man nämlich zu

100fach mit destillirtem Wasser verdünntem Blute von Pflanzenfressern (z. B. vom Hammel oder Kalb) oder von Fleischfressern (Hund) vorsichtig in der oben (S. 604) beschriebenen Weise Ferridcyankalium, bis alles O^2Hb in MetHb umgewandelt worden ist, und fügt nun tropfenweis sehr verdünntes (etwa 1 %iges) neutrales oder höchstens sehr schwach saures Wasserstoffsuperoxyd zu, so geht unter sehr geringer Entwicklung von Sauerstoffblasen die braune Farbe der Lösung in ein schönes Hellroth über. Gleichzeitig verschwindet der erste Streifen des MetHb-Spectrums, und statt dessen treten zwei sehr deutliche Absorptionsstreifen im Grün auf, welche denen des alkalischen MetHb ähnlich, aber intensiver sind. Ein weit schwächerer dritter Streifen kann im Blau auftreten, oder das ganze violette Ende des Spectrums ist absorbirt, und zwar vom Blau ab.

Die Umwandlung des MetHb in H^2O^2 MetHb ist eine so deutliche, dass man dieselbe recht wohl als Reagens auf H^2O^2 wie auch auf MetHb benutzen kann. Um 30 ccm 1 %iges MetHb-Blut (vom Hammel) in H^2O^2 MetHb umzuwandeln, bedurfte ich weniger als 3 mg H^2O^2 . Da der Farbumschlag nun auch noch an 1—3 ccm MetHb-Lösung zu erkennen ist, lässt sich also weniger als 0,1 mg H^2O^2 damit nachweisen. Bringt man die roth gewordene Lösung, welche vor dem Spectroskop keine Spur des ersten MetHb-Streifens mehr zeigt, bei 30—38° C. in den Brüteschrank, so verfärbt sie sich bald wieder braun und zeigt vor dem Spectroskop wieder das typische MetHb-Spectrum. Setzt man jetzt ein zweites Mal die gleiche Menge H^2O^2 zu wie das erste Mal, so wird die Lösung wieder roth und zeigt wieder das Spectrum des H^2O^2 MetHb. Erwärmen beseitigt es unter Farbumschlag von Neuem; neuer Zusatz von H^2O^2 ruft es von Neuem hervor. So kann man noch mehrere Male abwechselnd MetHb und H^2O^2 MetHb erzeugen. Dieses abwechselnde Roth- und Wiederbraunwerden unterscheidet diese Nachweismethode des H^2O^2 scharf von der sonst ähnlichen, weiter unten zu besprechenden der Blausäure. Die Reaction des H^2O^2 MetHb braucht trotz der schönen rothen Farbe keineswegs alkalisch zu sein, sondern kann neutral oder schwach sauer sein. Zusatz eines Alkalis bis zur deutlich alkalischen Reaction ändert in der Farbe und am Spectrum nichts. Bei Anwendung von 2 %igem Rindermethämoglobinblut in 10 mm dicker Schicht fand ich die Absorptionsstreifen des sauren und des neutralen H^2O^2 MetHb entsprechend den Wellen-

längen 600—584 $\mu\mu$, 558—545 $\mu\mu$, 513—500 $\mu\mu$. Entwicklung von Sauerstoffblasen beim Zusatze des H^2O^2 zum MetHb tritt bei den hier in Betracht kommenden geringen Mengen, wie schon gesagt wurde, fast nicht auf; nur bei alkalischer Reaction des H^2O^2 wird sie deutlich wahrnehmbar. Dass das käufliche H^2O^2 fasst immer sauer reagirt, sei hier nur nebenbei bemerkt. Versetzt man die saure oder neutrale Lösung des H^2O^2 MetHb vorsichtig mit sehr verdünntem Schwefelammonium bis zur deutlich alkalischen Reaction des Gemisches und spectroscopirt sofort, so sieht man zu seiner Ueberraschung, dass jetzt der erste Absorptionsstreifen des MetHb sehr stark ausgeprägt vorhanden ist. Bisher hat denselben in alkalischen Lösungen überhaupt noch Niemand wahrgenommen. Neben demselben sind die beiden Streifen im Grün ebenfalls sehr deutlich wahrnehmbar. Alle drei Streifen sind gleich breit und gleich intensiv. Da ferner die zwei Zwischenräume zwischen den drei Streifen gleich gross sind, macht das ganze Absorptionsspectrum den Eindruck einer römischen III. Nach einigen Minuten, namentlich falls das Gemisch in den Wärmeschränk gebracht wird, schwindet der erste Streifen völlig und die beiden anderen wandeln sich in die des O^2Hb um. Während also MetHb und Photo MetHb bei ihrer Umwandlung in O^2Hb immer erst als Durchgangsstadium die Stufe des reducirten Hb durchlaufen müssen, ist dies beim H^2O^2 MetHb scheinbar nicht der Fall.

Aus dem Angeführten geht hervor, dass thatsächlich eine labile Verbindung, die als Wasserstoffsuperoxydmethämoglobin zu bezeichnen ist, existirt, und dass diese sich sowohl vom sauren MetHb als vom alkalischen, sowie endlich auch vom Photo MetHb unterscheidet. Erwärmen treibt das H^2O^2 aus der Verbindung aus. Meine ursprüngliche Vermuthung, dass das Photo MetHb ein durch H^2O^2 hervorgerufenes Umwandlungsproduct sei, hat sich also nicht bewahrheitet, ist aber die Veranlassung zur Entdeckung dieser neuen Substanz geworden. Im Aussehen sind sich Photo MetHb und H^2O^2 MetHb ähnlich, denn beide sehen roth aus; nur ist die Nuance beim letzteren eine hellere als beim ersteren. Vor dem Spectralapparat ähnelt das Photo MetHb dem reducirten Hb, das H^2O^2 MetHb und das alkalische MetHb aber dem O^2Hb . Ich bezweifle nicht im Mindesten, dass im Organismus des Menschen und der fleischfressenden Säugethiere bei irgendwelchen methämoglobinbildenden Processen aus dem MetHb rasch

H^2O^2 MetHb entstehen kann, wofern man Lösungen von H^2O^2 subcutan einspritzt. Ob damit therapeutisch etwas gewonnen ist, müsste durch besondere Versuche erst festgestellt werden. Falls Wurster Recht hat mit der Behauptung, dass auf und in der Haut des Menschen, namentlich am Lichte der Sonne, sich ununterbrochen kleine Mengen von H^2O^2 bilden, wäre es nicht undenkbar, dass auch ohne Einspritzung von H^2O^2 das durch irgendwelche Processe im Körper entstandene MetHb zum Teil eine Umwandlung in H^2O^2 MetHb erfährt. Es wäre dann möglich, dass neben einander in unserem Organismus saures MetHb, alkalisches MetHb, Photo MetHb und H^2O^2 MetHb zeitweise vorhanden sind. Die Unterscheidung dieser Stoffe von einander dürfte allerdings wohl sehr schwierig sein.

Ich habe im Vorstehenden das käufliche Wasserstoffsuperoxyd als einheitliche Substanz angenommen. Nach A. Bach¹⁾ ist es vielleicht ein Gemisch der Lösungen von H^2O^2 , H^2O^3 und H^2O^4 . Ich vermute, dass alle drei Superoxyde sich gegen MetHb analog verhalten werden.

4. Ueber Cyanmethämoglobin.

Wie ich schon 1891 dargethan habe²⁾, geht in Lösungen von MetHb bei Zusatz überaus geringer Mengen von Blausäure trotz saurer Reaction der Mischung unter Bildung von CNH MetHb eine Umwandlung der Farbe und des Spectrums vor sich. Die Farbe wird hellroth, ganz ähnlich wie die des H^2O^2 MetHb; während jedoch das H^2O^2 MetHb beim Erwärmen im Brüteschrank unter Zersetzung der rothen Verbindung und Austreibung des H^2O^2 bald wieder zu MetHb wird und dabei natürlich auch wieder braune Farbe annimmt, ist die Verbindung des CNH mit dem MetHb eine festere, welche durch die Temperatur des Brüteschranks nicht beeinflusst wird. Einen zweiten Unterschied des H^2O^2 MetHb und des CNN MetHb bietet das Spectrum, denn das der erstgenannten Verbindung ist zweistreifig und ähnelt dem O^3Hb , während das des CNH MetHb einstreifig ist und dem des reducirten Hb, sowie dem des Photo MetHb ähnelt. Ob von krystallisirtem MetHb oder von gelösten und mit

1) Chem. Centralbl. Bd. 2 Nr. 1. 1900.

2) Ueber Cyanmethämoglobin und den Nachweis der Blausäure. Stuttgart 1891.

Ferridecyankalium versetzten Blutkörperchen des Blutes des Menschen, des Schweines, Rindes, Kalbes, Schafes, der Ziege, des Kaninchens, Meerschweinchens, des Hundes, Igels, der Taube, des Huhnes, der Ente, des Frosches oder der Kreuzotter ausgegangen wird, ist dabei gleichgültig. Wie das Photo MetHb so ist auch das CNH MetHb, wenn es einmal sich gebildet hat, zeitlich beständig: selbst bei mehrmonatlichem Aufheben der Lösungen desselben im Dunkeln sah ich keine Veränderung der Farbe und des Spectrums eintreten, wofern nicht gewisse Fäulnisbakterien vorhanden waren. Auch Durchleiten von Sauerstoff oder von Kohlensäure oder von Kohlenoxyd ändert weder Farbe noch Spectrum der Substanz. Schon daraus geht hervor, dass wir es hier mit einer festen Verbindung zu thun haben. Noch deutlicher zeigt sich dies beim Behandeln des CNH MetHb mit Schwefelammonium. Gewöhnliches MetHb, alkalisches MetHb, Photo MetHb und H^2O^2 MetHb gehen bei Einwirkung von Spuren dieses energischen Reductionsmittels schon bei gewöhnlicher Temperatur sehr rasch in Hb und bei nachfolgendem Schütteln mit Luft in O^2Hb über; CNH MetHb bleibt jedoch bei Einwirkung solch kleiner Mengen von Schwefelammon bei gewöhnlicher Temperatur unverändert. Die Bildung von CNH MetHb kann ebenso wohl zum Nachweis von MetHb als zum Nachweis von Blausäure benutzt werden. Ich weiss, dass in verschiedenen physiologisch-chemischen Instituten die Schärfe des Nachweises der Blausäure nach dieser Methode zu wiederholten Malen nachgeprüft worden ist, und dass dabei das Reagens als ein recht brauchbares befunden worden ist. Ich selbst habe bei den in meinem Institute allsemesterlich wiederkehrenden Uebungsanalysen der Apotheker bei der Abscheidung der Blausäure aus Harn, Blut, Mehlsuppe, Fleisch etc. neben den sonst üblichen Reagentien stets auch frisch hergestellte MetHb-Lösung zum Nachweis des CNH mit benutzt, und stets bin ich sammt meinen Schülern von Neuem darüber erstaunt gewesen, wie überaus geringe Mengen des fraglichen sauren Destillates nach vorheriger Neutralisation genügten, eine prachtvolle Rothfärbung der braunen MetHb-Lösung hervorzurufen. Nur die Guajak-Kupferprobe übertrifft als Reagens auf Blausäure das MetHb an Empfindlichkeit. Natürlich muss vorher die Abwesenheit anderer aus saurer Lösung destillirbaren Stoffe, welche auf MetHb röthend wirken könnten, welche aber sämmtlich leicht zu erkennen sind, nachgewiesen worden sein. Als solche nenne ich Schwefel-

wasserstoff, Wasserstoffsuperoxyd, Rhodanwasserstoff, salpetrige Säure, schweflige Säure. In einer Arbeit von August Becker¹⁾, welche den Titel trägt „Aeltere und neuere Theorien über das Wesen der Blausäurevergiftung mit Berücksichtigung ihrer gerichtsärztlichen Verwerthung“, findet sich am Schlusse ein Satz, welcher auf den ersten Blick eine ungünstige Beurtheilung meiner Nachweismethode der Blausäure mittelst Met Hb enthalten zu scheint. Es heisst dort nämlich: „für die Kobert'sche Arbeit (wie für die Geppert'sche) hat unsere Prüfung ergeben, dass die neueren Untersuchungen über die Blausäurevergiftung, so gross auch ihr theoretisches Interesse ist, ein praktisch verwerthbares Ergebniss für die gerichtsärztliche Diagnose dieser Vergiftung bisher nicht gehabt haben.“ Dieser Ausspruch ist insofern sehr auffällig, als Becker überhaupt keinen einzigen Versuch mit dem Destillate des Blutes oder der Organe angestellt hat; ich vermüthe, dass er die oben besprochene Methode des Nachweises in meiner Arbeit entweder ganz übersehen oder gar nicht verstanden hat. Seine Worte haben daher nur Gültigkeit für den Nachweis der Blausäure im Blute ohne Destillation; von dieser Art des Nachweises reden wir hier aber gar nicht.

Da das CNH Met Hb, wie wir oben gesehen haben, sich nicht auf so einfache Weise wie das Met Hb, das H²O² Hb und das Photo-Met Hb in Hb und O² Hb umwandeln lässt, ist der Einwand berechtigt, dass es vielleicht gar keine Met Hb-Verbindung ist, sondern den Blutfarbstoff in tiefgreifend alterirter Form, nämlich als Hämatin, enthält. In der That ist mir dieser Einwand von verschiedenen, mit dem Gegenstande wohl vertrauten Autoren gemacht worden, deren Ausführungen hier volle Berücksichtigung erfahren mögen. Zum Verständniss derselben muss voraus bemerkt werden, dass eine Verbindung des Hämatins mit Cyankalium schon von F. Hoppe-Seyler²⁾ beschrieben und auch von Preyer³⁾ beobachtet worden ist. Sie scheint aber nur in alkalischer Lösung zu existiren; jedenfalls hat sie nach meinen Erfahrungen nur in dieser eine vom Hämatin abweichende intensiv rothe Farbe

1) Inaug.-Dissertation. Berlin 1893.

2) Physiologische Chemie Bd. 2 S. 384. Berlin 1878. — Handbuch der physiol. und pathol.-chem. Analyse. 2. Aufl. S. 167. Berlin 1865, und 5. Aufl. S. 240 u. 298 (mit Spectrum). 1883. — Medicinisch-chemische Untersuchungen Bd. 2 S. 207. 1867.

3) Die Blausäure S. 105. Bonn 1868.

und ein ebenfalls vom Hämatin abweichendes einbändriges Spectrum. Von anderen Autoren, welche sich mit Untersuchungen über diese Substanz beschäftigt haben, nenne ich z. B. G. Linossier¹⁾. Beim gerichtlichen Blutflecknachweis benutzt man seit Jahrzehnten die Erzeugung von Cyankalium-Hämatin oder, wie man es seit Hoppe-Seyler gewöhnlich nennt, von Cyanhämatin, indem man den betreffenden eingetrockneten braunen Fleck nach R. v. Hofmann²⁾ mit Cyankaliumlösung einweicht und extrahirt. Man bekommt eben dabei rothes Cyanhämatin. Zur weiteren Charakterisirung wird dann ein Theil desselben mit starker Essigsäure versetzt und zur Erzeugung Teichmann'scher Krystalle benutzt und ein anderer Theil durch Reductionsmittel in Hämochromogen übergeführt, dessen zweibändriges Spectrum ungemein charakteristisch ist. In Bezug auf Farbe und auf Spectrum sind sich CNH MetHb und Cyanhämatin so ähnlich, dass eine sichere Unterscheidung derselben nur auf Grund von Reactionen möglich ist. Diese Reactionen müssen darauf hinauslaufen, das CNH MetHb wieder in Hb und dann in O²Hb umzuwandeln, während beim Cyanhämatin diese Umwandlung nicht möglich ist. Weiter müssen die gewöhnlichen Reductionsmittel das CNH MetHb, wie wir schon oben besprochen, unverändert lassen, während das Cyanhämatin dabei zu Hämochromogen werden muss. Nachdem ich dies vorausgeschickt habe, werden die Einwände der Gegner, welche ich jetzt folgen lasse, verständlich sein.

H. Szigeti³⁾ untersuchte in dem Berliner Institute für Staatsarzneikunde zunächst das Preyer'sche Cyanwasserstoffsauerstoffhämoglobin und kommt zu dem ganz richtigen Ergebniss, dass dieses nichts Anderes als Cyanhämatin ist, da es sich weder in Hb noch in O²Hb zurückverwandeln lässt, wohl aber unter Einwirkung von Reductionsmitteln leicht in Hämochromogen übergeht. „Was nun Kobert's Cyanmethämoglobin anbetrifft,“ fährt er dann fort, „so gilt für dieses alles das, was ich von Preyer's Cyanwasserstoffsauerstoffhämoglobin gesagt habe. Es ist wohl richtig, wie es auch meine Controlversuche ergeben

1) Lyon médicale 1887 Nr. 27.

2) Wiener med. Wochenschr. 1876 Nr. 45 u. 46. — Lehrbuch der gerichtl. Medicin. 6. Aufl. S. 433. Wien 1893.

3) Ueber Cyanhämatin. Vierteljahrschrift f. gerichtl. Medicin. Dritte Folge Bd. 6 Supplementheft S. 9. 1893.

haben, dass die braungelbe Farbe einer 1—2%igen Methämoglobinlösung auf Zusatz von Blausäure oder von Cyankalium in ein prachtvolles Roth übergeht, und dass die Lösung, vor den Spectralapparat gebracht, ein Absorptionsspectrum zeigt, welches der Lage nach dem des reducirten Hämoglobins sehr ähnlich ist, — ferner dass selbst bei stundenlangem Durchleiten von Luft durch die Lösung Oxyhämoglobin nicht entsteht, und dass diese von Kobert Cyanmethämoglobin genannte Verbindung allen Einflüssen gegenüber, welche das Methämoglobin in Hämochromogen umwandeln, machtlos ist. Aber eben aus dem Grunde, weil dieses sogenannte Cyanmethämoglobin dieselben chemischen und spectralen Eigenschaften wie das Cyanhämatin besitzt, halte ich es für identisch mit letzterem und muss die Ansicht Kobert's, dass sein Cyanmethämoglobin mit der von Linossier angenommenen Verbindung gar nichts zu thun habe, bestreiten. Ich will nur noch bemerken, dass ein Unterschied zwischen Preyer's Cyanwasserstoffsauerstoffhämoglobin und Kobert's Cyanmethämoglobin nur in der Art der Gewinnung liegt. Jenes gewinnt man aus Oxyhämoglobin durch Zusatz von Blausäure bei Erwärmen auf Körpertemperatur, dieses aus Methämoglobin auch ohne Erwärmen. Die Erklärung hierfür habe ich schon oben gegeben: das Erwärmen dient nur zur schnelleren Umwandlung des Oxyhämoglobins in Hämatin. Da das Methämoglobin bekanntlich ein Zwischenproduct bei der Umwandlung des Oxyhämoglobins in Hämatin ist, fällt die Nothwendigkeit des Erwärmens hinweg, weil Methämoglobin sich auf Zusatz von Alkali oder Säure schon in der Kälte sogleich in Hämatin verwandelt. — Ich glaube somit den Nachweis geführt zu haben, dass Preyer's Cyanwasserstoffsauerstoffhämoglobin, Hoppe-Seyler's und Linossier's Cyanhämatin und Koberts' Cyanmethämoglobin, wenn auch ihrer Entstehung nach von einander verschieden, eigentlich identisch sind und richtig mit dem Namen Cyanhämatin zu bezeichnen sind, denn die chemischen Körper sollen nicht nach der Art ihrer Gewinnung, sondern nach ihren chemischen Eigenschaften benannt und classificirt werden. Das ist eine allgemeine Regel, und desshalb ist die Cyanblutfarbstoffverbindung zu den Hämatinverbindungen zu rechnen.“ Im Folgenden bestätigt Szigeti meine Angabe, dass man MetHb-Lösungen recht gut zum Nachweis der Blausäure verwenden kann. Alsdann fährt er fort: „Wenn auch das MetHb als specifisches Reagens auf Cyan angewendet werden kann, so ist doch das Umgekehrte nicht der Fall. Da ich nach-

gewiesen habe, dass es sich hier um eine Cyanhämatin- und nicht um eine Methämoglobinverbindung handelt, so folgt daraus, dass das Cyan ebensowenig ein spezifisches Reagens des MetHb als des Hämatins sein kann, denn aus beiden bildet sich gleich schnell ohne jedweden anderen chemischen oder thermischen Eingriff Cyanhämatin. Wie sehr willkommen es auch gewesen wäre, eine charakteristische Reaction auf MetHb gefunden zu haben, darf ich auf Grund des Angeführten der Ansicht Kobert's, das Cyan sei ein Reagens auf MetHb, nicht beipflichten.“ Soweit Szigeti. Ein Jahr nach ihm erklärte Max Richter¹⁾ „das Kobert'sche Cyanmethämoglobin für zweifellos identisch mit dem Cyanhämatin von Hoppe-Seyler“. Da Richter die von mir damals beigebrachten Beweise für die Möglichkeit der Ueberführung von CNH MetHb in Hb und in O²Hb nicht als stichhaltig gelten lassen will, habe ich mich nach neuen Methoden umgesehen, welche eine glatte Ueberführung von CNH MetHb in Hb ermöglichen. Vielfältiges Probiren hat mir gezeigt, dass die folgenden zum Ziele führen, wofern man sich genau an die Vorschriften hält.

Erste Methode. 1—2procentige Lösung von defibrinirtem Pflanzen- oder Fleischfresserblut in destillirtem Wasser wird durch ein zugesetztes Körnchen von Ferridcyankalium unter Schütteln in MetHb umgewandelt und sofort vom überschüssigen, noch ungelösten Ferridcyankalium abgessen. Sobald man sich durch das Spectroskop überzeugt hat, dass die Ueberführung in MetHb quantitativ vor sich gegangen ist, wird der braunen MetHb-Lösung tropfenweis nach und nach eine nicht stärker als 0,1 %ige Blausäurelösung zugesetzt, bis die Mischung intensiv roth geworden und den Absorptionsstreifen im Orange völlig verloren hat, d. h. bis das ursprünglich vorhandene O²Hb quantitativ in CNH MetHb umgewandelt worden ist. Man überzeugt sich jetzt nochmals auf spectrokopischem Wege, dass auf keine Weise auch nur eine Spur der beiden Streifen des O²Hb wahrnehmbar ist, selbst nicht, wenn ein Strom von Luft oder Sauerstoff durch die Lösung geleitet wird. Jetzt fügt man der Mischung auf je 50 ccm 1 ccm gelbes Schwefelammon zu und füllt in kleine Fläschchen bis zum Rande, verkorkt sie möglichst luftfrei oder überschichtet mit Paraffin und setzt in den Brüteschrank bei 38°. Von

1) Ueber Cyanvergiftung. Sonderabdruck aus der Prager med. Wochenschr. 1894 S. 7.

Zeit zu Zeit nimmt man eins der Fläschchen heraus und prüft, ob die Farbe derselben dunkler wie bei venösem Blut geworden ist. Sobald dies der Fall ist, d. h. sobald alles CNH MetHb in Hb umgewandelt ist, entnimmt man einem der Fläschchen vom Grunde her mittelst Pipette eine Probe und durchströmt sie mit Luft, während man gleichzeitig spektroskopirt. Man sieht dann, wie das Spectrum des Hb dabei in das des O²Hb übergeht. Da dabei gerade wieder so viel O²Hb gewonnen wird, als anfangs überhaupt vorhanden war, ist damit bewiesen, dass die gesammte Menge von CNH MetHb wieder in O²Hb umgewandelt worden ist. Damit wird dem Einwande, es könne sich um Cyanhämatin gehandelt haben, aller Boden entzogen, denn Cyanhämatin geht bei der Reduction eben nicht in Hb, sondern in Hämochromogen über.

Falls die zugesetzten Blausäuremengen sehr gross gewesen sind, könnte vorstehende Methode unter Umständen einmal im Stiche lassen, da das sich dabei bildende Rhodan hinderlich werden kann. Es empfiehlt sich, für solche Fälle noch einige andere Methoden, und zwar solche, welche den Ueberschuss der Blausäure beseitigen, zu kennen. Zu diesem Behufe gebe ich die folgenden.

Zweite Methode. Auf je 25 ccm der Lösung des fraglichen CNH MetHb wird 1 ccm des käuflichen, aber dicht vorher durch kohlenaures Natrium schwach alkalisch gemachten dreiprocentigen Wasserstoffsuperoxydes zugesetzt und ein Mal kurz umgeschüttelt. Es erfolgt zunächst nur kaum merkbare Blasenentwicklung. Farbe und Spectrum ändern sich nicht. Jetzt setzt man das Gemisch in den vorher schon auf 38° eingestellten Brüteschrank; wo die Blasenbildung allmählig bis zur Schaumbildung zunimmt. Falls dies nicht der Fall sein sollte, hat man ein zu wenig wirksames (d. h. theilweis zersetztes) H²O² vor sich. Man muss dann eben davon etwas grössere Dosen verwenden. Sobald die Schaumbildung aufhört oder wenigstens sehr nachlässt, spektroskopirt man und überzeugt sich, dass das Spectrum noch immer unverändert ist. Das Gleiche gilt von der Farbe. Jetzt setzt man wie bei der ersten Methode auf je 25 ccm des Gemisches einen halben Kubikcentimeter des gewöhnlichen gelben Schwefelammons zu, füllt in kleine Fläschchen bis zum Hals und verkorkt luftblasenfrei oder überschichtet mit Paraffin. So kommen die Fläschchen wieder in den Brüteschrank, bis ihre Farbe deutlich venös geworden ist. Dies ist, je nach der Menge der anfänglich vorhandenen Blausäure und der Stärke des Schwefelammons,

in $\frac{1}{2}$ —2 Stunden der Fall. Sobald eins der eingesetzten Fläschchen venös geworden zu sein scheint, nimmt man vorsichtig mit einer Pipette eine Probe des Inhaltes heraus, spektroskopirt, schüttelt dieselbe mit Luft und spektroskopirt wieder. Das erste Spectroskopiren zeigt dann noch immer einen Streifen im Grün. Dass dies jedoch nicht mehr der Streifen des CNH MetHb ist, sondern der des Hb, wird durch das Schütteln mit Luft bewiesen, denn dabei geht er unter Zertheilung in zwei Streifen in das Spectrum des O²Hb über. Dieses Spectrum tritt auch hier in solcher Intensität auf, dass man sofort den Eindruck bekommt, dass nicht etwa nur einige Procente des CNH MetHb in O²Hb umgewandelt worden sind, sondern die gesammte Menge. Nur falls man einen viel zu grossen Ueberschuss von H²O² angewandt hat, kann durch diesen ein Theil des Blutfarbstoffes völlig entfärbt und zersetzt worden sein. Der Sinn der vorstehenden Procedures ist folgender: Bei Zusatz von H²O² zu Gemischen oder Lösungen, welche freie Blausäure enthalten, setzt sich diese mit dem Zusatzmittel nach der Formel um $2 \text{ CNH} + \text{H}^2\text{O}^2 = \text{C}^2\text{O}^2(\text{NH}^2)^2$, d. h. es entsteht Oxamid. Die von dem Blutfarbstoff gebundene Blausäure ist schwerer zu beseitigen. Falls es sich um völlig stromafreies blausäurehaltiges O²Hb oder CNH MetHb handeln würde, dürfte H²O² überhaupt nicht zugesetzt worden sein, da wenigstens das erstere dabei nach Hoppe-Seyler¹⁾ sofort, namentlich im Brüteschranke, zu Cyanhämatin und Eiweiss zersetzt wird. In unserem hier vorliegenden Versuche schützt aber das als Verunreinigung in der Lösung enthaltene Stroma den Blutfarbstoff, wenigstens bei der von mir angegebenen Concentration und Menge des H²O², vor Zersetzung durch das H²O² und zerlegt, sobald alle freie Blausäure in Oxamid übergeführt worden ist, den noch vorhandenen Rest des H²O² unter Schaumbildung in H²O und O². Eine völlige Umwandlung des CNH MetHb in MetHb findet also durch das zugesetzte H²O² nicht statt; wohl aber wird es durch Beseitigung des Ueberschusses der CNH leichter reducirbar, so dass es bei Berührung mit Schwefelammonium in der Wärme in Hb übergeht. Dadurch, dass bei diesem Versuche trotz des langen Erwärmens und trotz der intensiven reducirenden Einwirkung von Schwefelammonium in der Wärme nicht Hämochromogen, sondern lediglich Hb entsteht, ist bewiesen, dass auch hier das CNH MetHb

1) Physiologische Chemie S. 384.

eben nicht Cyanhämatin ist, ja dass es bei vorsichtigem Arbeiten keine Spur davon enthält.

Dritte Methode. Zu je 100 ccm der 1—2%igen CNH Met Hb-Blutlösung werden 10 ccm einer 1%igen Lösung von Kobaltonitrat $\text{Co}(\text{NO}^3)^2$ zugesetzt. Dabei ändert sich das Spectrum nicht; nur die Farbe der Mischung wird etwas dunkler. Nun wird tropfenweis 10%ige Lösung von Natriumcarbonat zugesetzt, bis keine Fällung mehr entsteht. Der Niederschlag, welcher den gesamten Blutfarbstoff mit einschliesst, wird auf's Filter gebracht und durch Abtropfen und Absaugen von der Flüssigkeit getrennt. Alsdann wird der noch feuchte Filtrerrückstand allmähig mit reichlicheren Mengen der obigen Natriumcarbonatlösung verrieben, bis man sieht, dass eine rothe Lösung entsteht. Diese wird durch Filtration und Nachwaschen mit natriumcarbonathaltigem Wasser abgetrennt. Vor dem Spectroskop erweist sie sich als scheinbar unverändertes CNH Met Hb; erwärmt man sie aber in kleinen, luftfrei gefüllten Fläschchen im Wärmeschrank mit einigen Tropfen Schwefelammon, so geht sie unter venöser Verfärbung sehr bald in Hb und nach dem Schütteln mit Luft in O^2Hb über. Der Sinn dieser Methode ist der, dass in obiger Mischung das Kobaltonitrat sich mit der Blausäure zu Kobaltcyan-natrium, d. h. zu einem Doppelsalz verbindet, welches ähnlich wie Ferrocyankalium keine Blausäurewirkung mehr besitzt. Dadurch wird das restirende, durch die Fällung noch gereinigte CNH Met Hb analog der vorigen Methode leichter reducirbar.

Vierte Methode. Die zu prüfende CNH Met Hb-Lösung wird mit schwach ammoniakalischem Bleiessig versetzt, bis aller Blutfarbstoff niedergedrungen ist. Nun wird rasch filtrirt, abgesogen und der Niederschlag mit etwas Lösung von Natriumphosphat oder Natriumkarbonat und dann mit Wasser verrieben, wobei eine schöne rothe Lösung entsteht. Diese wird wie bei der vorigen Methode mit Schwefelammonium im Brüteschrank behandelt und ergibt dasselbe Resultat wie die vorige Methode. Der Sinn dieser Methode ist, die überschüssige Blausäure als Cyanblei zu binden und von dem Blutfarbstoff zu trennen. In neutraler Lösung entsteht nämlich aus essigsauerm Blei und CNH die Verbindung $\text{Pb}(\text{CN})^2$, in ammoniakalischer $\text{Pb}(\text{CN})^2 \cdot 2\text{PbO}$, also ein Doppelsalz.

Eine der genannten Methoden führt stets zum Ziele. Ich habe meist alle vier neben einander angewandt und war meist mit allen vierten zufrieden. Da diese Methoden jedem Unparteiischen zeigen,

dass eine Entstehung von Cyanhämatin nur bei ungeschicktem Arbeiten vorkommt, während bei correctem Verfahren sich alles oder wenigstens fast alles ursprünglich verwandte O^2Hb wiedergewinnen lässt, müssen die von Szigeti und Richter gemachten Einwände gegen die Existenz des Cyanmethämoglobins zurückgewiesen werden. Von einer Identität desselben mit dem Cyanhämatin kann gar keine Rede sein.

5. Ueber Rhodanmethämoglobin.

Da bei der Umwandlung des CNH MetHb in Hb nach den von mir im Vorstehenden gegebenen Regeln Schwefelammon zugesetzt und dadurch eine Rhodanverbindung erzeugt wird, müssen wir uns mit der Wirkung der Rhodanide auf MetHb ebenfalls beschäftigen. Ich habe schon vor 10 Jahren¹⁾ angegeben, dass bei Zusatz von Rhodaniden, z. B. von Rhodankalium, zu MetHb eine Röthung des Gemisches eintritt; aber diese Röthung ist nur eine sehr geringe und erfordert weit grössere Mengen des Reagens als bei der Blausäure. Ferner gelingt es selbst durch sehr grosse Mengen von CNSK nicht, den ersten Absorptionsstreifen des MetHb zum Verschwinden zu bringen. Davon abgesehen ist das Spectrum des CNSH MetHb dem des CNH MetHb ähnlich; nur ist der Absorptionsstreifen im Grün recht wenig deutlich. Durch Schwefelammonium lässt sich das CNSH MetHb in Hb umwandeln. Ob man unter solchen Umständen ein Recht hat, die Existenz einer besonderen chemischen Verbindung Namens Rhodanmethämoglobin anzunehmen, fragt sich. Unter allen Umständen ist diese Substanz wenig charakteristisch und wenig wichtig.

6. Ueber Nitritmethämoglobin.

Mit dem Namen Nitritmethämoglobin möchte ich eine Substanz bezeichnen, welche ich 1881 entdeckt²⁾ und 1892 mit meinem Schüler Arthur von Vorkampff-Laue³⁾ etwas weiter unter-

1) Ueber Cyanmethämoglobin etc. S. 22.

2) Beiträge zur Kenntniss des Methämoglobins und seiner Derivate. Dissert. Dorpat 1892.

3) l. c. S. 21.

sucht habe. Wir gingen von der Thatsache aus, dass alle mit Salpeter gepökelten Fleischstücke eine auffallend rothe Farbe annehmen. Da nun beim Pökeln die Fleischmasse unzweifelhaft etwas reducirend auf den Salpeter wirkt, und da dabei kleine Mengen von Nitriten entstehen, lag es nahe, einmal im Reagenzglas Nitrite auf MetHb einwirken zu lassen. In der That gelang es fast augenblicklich, durch Zusatz von Kaliumnitrit braune MetHb-Lösung zu röthen. Indem ich hier über die Beziehungen dieser rothen Substanz, des Nitrit MetHb, zur Farbe des Schinkens und des Pökelfleisches zunächst hinweggehe, denn sie würden längere Auseinandersetzungen erfordern, sei nur erwähnt, dass wie bei CNSH MetHb so auch beim Nitrit MetHb der erste Absorptionsstreifen des MetHb nicht ganz verschwindet. Im Grün treten unter Einwirkung des Nitrits zwei Streifen auf, welche denen des H^2O^2 MetHb ähnlich, nur schwächer sind. Zusatz von Schwefelammon wandelt das Nitrit-MetHb rasch und sicher in Hb um. Zu irgend welchen Verwechslungen mit CNH MetHb kann, falls man das Spectrum genügend beachtet, weder das Nitrit MetHb noch das CNSH MetHb Anlass geben, denn das CNH MetHb ist eben durch völliges Fehlen eines Absorptionsstreifens im Roth und Orange charakterisirt.

7. Ueber Schwefelmethämoglobin.

In einer sehr beachtenswerthen Arbeit hat Harnack¹⁾ kürzlich dargethan, dass es eine Verbindung von Schwefelwasserstoff mit Hb, das Sulfhämoglobin (abgekürzt SulfHb), gibt. Im Anschluss daran²⁾ sagt er: „Dass das SulfHb als eine Verbindung von MetHb mit H^2S anzusehen sei, was man aus dem bisher meist gewählten Namen Schwefelmethämoglobin schliessen könnte, erscheint als völlig ausgeschlossen.“ Wenn wir nun auch zugeben müssen, dass das Harnack'sche SulfHb seiner Entstehungsart nach nichts mit MetHb zu thun hat, so könnte es doch neben demselben a priori auch noch eine zweite Schwefelwasserstoffverbindung des Blutfarbstoffes geben, welche ihren Ursprung vom MetHb nimmt. Diese Vermuthung gewinnt an Wahrscheinlichkeit, wenn man einige weitere Angaben von

1) Ueber die Einwirkung des Schwefelwasserstoffes und der Säuren auf den Blutfarbstoff. Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 26 S. 573. 1899.

2) l. c. S. 573.

Harnack in Rücksicht zieht. So sagt er¹⁾ in Versuch 8: „*Verdünntes O²Hb wird in MetHb übergeführt und nun ohne Luft mit H²S durchströmt. Dabei wird die Lösung sofort roth und zeigt das Hb-Spectrum.*“ An einer anderen Stelle²⁾ heisst es: „*MetHb kann durch gewisse Reductionsmittel wieder schön geröthet und, wie es scheint, in Hb zurückverwandelt werden.*“ Es liegt nun nach Allem, was ich in den vorigen Capiteln auseinandergesetzt habe, nahe, zu vermuthen, dass dieses „*schön rothe*“ Reductionsproduct nicht Hb, sondern SHMetHb, d. h. das wirkliche Schwefelmethämoglobin sei, dessen Namen Harnack eben einziehen zu können gemeint hat. Der Versuch bestätigte diese Meinung jedoch nicht. Leitete ich durch MetHb-Lösungen einige Blasen von H²S, so trat stets die von Harnack angegebene schöne rothe Farbenveränderung ein, aber das erhaltene Product zeigte beim Schütteln mit Luft alle Eigenschaften des O²Hb und liess sich wie dieses leicht zu Hb reduciren. Wenn es also auch im ersten Augenblick ein H²SMetHb gibt, so geht dieses doch so rasch in Hb über oder verhält sich diesem so ähnlich, dass man bis jetzt kein Recht hat, die Existenz eines beständigen Schwefelmethämoglobins als bewiesen hinzustellen.

Vorstehende Mittheilungen zeigen, dass es eine Reihe von Methämoglobinsubstanzen gibt. Dieselbe ist in Obigem, wie ich ausdrücklich betone, keineswegs erschöpft. Ich behalte mir vor, theils einige der schon erwähnten, theils andere analoge Substanzen später hier weiter zu besprechen. Jedenfalls zeigen meine Ausführungen, dass der Blutfarbstoff nicht etwa nur in Verbindung mit Sauerstoff und Kohlenoxyd treten kann, wie Manche meinen, sondern dass die Brücke zwischen Physiologie und Pharmakologie auch noch durch eine ganz andere Gruppe von Blutfarbstoffderivaten gebildet wird.

8. Anhang.

Ueber das Absorptionsvermögen des Blutfarbstoffes und seiner Derivate für violette und ultraviolette Strahlen.

Meines Wissens ist die Zahl der Arbeiten, welche sich mit dem Absorptionsvermögen des Blutfarbstoffes für violette und ultraviolette

1) l. c. S. 577.

2) l. c. S. 573.

Strahlen beschäftigt haben, noch sehr spärlich. Die nachstehenden historischen Notizen entnehme ich einer leider recht unbekannt gebliebenen Arbeit von H. Grabe¹⁾. Die ersten derartigen Versuche machte 1883 Soret; ihm folgten 1890 d'Arsonval und 1892 Grabe.

Bekanntlich können wir das rechte Ende des Spectrums des Sonnenlichtes nicht direct sehen; wir können aber die jenseits des Violett liegenden sogen. ultravioletten Strahlen theils durch Auf- fangen auf einem Fluoreszenzschirm, theils durch die photographische Platte uns indirect sichtbar machen. Die Photographie der ultra- violetten Strahlen hat schon Becquerel angewandt. Nach ihm beschäftigten sich Müller und Babo damit; jedoch gelang es erst Rutherford 1863, genaue und scharfe Photographien des ultra- violetten Theils des Spectrums herzustellen. Da Crown- glas und Flintglas für diese Strahlen nur theilweis durchlässig sind, dürfen die in Betracht kommenden Linsen und Prismen nicht aus Glas hergestellt sein. Grabe benutzte ein Quarzprisma und eine Quarz- linse, welche er der Liebenswürdigkeit des Professors Arthur v. Oettingen verdankte, und Bergkristalleuvetten, welche Prof. Dragendorff gehörten. Als Lichtquelle diente ihm anfangs Zirkon- licht, dann die Sonne und zuletzt der elektrische Funke. Durch 4 Bunsen'sche Elemente wurde der Inductionsstrom eines Ruhm- korff'schen Apparates erregt und mit diesem eine Batterie von 9 Leydener Flaschen geladen. Der eine Pol war aus Eisen, der andere aus Kupfer. Für photographische Aufnahmen über H hinaus kamen stets achromatische Collimatorlinsen, aus einer planconvexen Kalkspatlinse und einer biconvexen Quarzlinse combinirt, in An- wendung. Da Grabe nur eine achromatische Quarzlinse zur Ver- fügung stand, konnte er nur für einen verhältnissmässig kleinen Theil des Spectrums Schärfe im Bilde erzielen. Darauf beruht es wohl mit, dass die von ihm aufgenommenen und in einer Tafel wiedergegebenen Photogramme unübersichtlich, ja unklar und daher nicht recht verwerthbar sind. In diesem Sinne sprach sich bei der öffentlichen Promotion und Vertheidigung dieser Schrift auch Arthur v. Oettingen selbst aus.

Nachdem Soret in einer ersten Arbeit dem Blute die Fähig-

1) Untersuchungen des Blutfarbstoffes auf sein Absorptionsvermögen für violette und ultraviolette Strahlen. Dissert. Dorpat 1892. Mit Tafel.

keit, violettes Licht zu absorbiren, zugesprochen, die Fähigkeit, ultraviolette Licht zu absorbiren, dagegen abgesprochen hatte, erklärte er in einer zweiten¹⁾, dass nicht nur im Violett eine Absorption stattfindet, sondern dass auch noch zwei ultraviolette Absorptionsstreifen, bei Cd 12 und Cd 17 liegend, vorhanden seien, von denen allerdings der letztere wohl nicht durch den Blutfarbstoff, sondern durch das Blutserum bedingt werde. Werde das Blut mit CO imprägnirt, so verschiebe sich das Absorptionsband im Violett auf die Seite des Spectrums, welche die weniger gebrochenen Lichtstrahlen enthält. Das Ultraviolett werde durch COHb weniger verdunkelt als durch O²Hb. In der Arbeit von d'Arsonval²⁾ wird merkwürdiger Weise die Untersuchung von Soret mit Stillschweigen übergangen, das Absorptionsband des O²Hb im Violett und mehrere Bänder im Ultraviolett aber ebenfalls constatirt. Nach Grabe hat das O²Hb ein Band im Violett und zwei schwache weitere im Ultraviolett. Hb verhält sich ebenso. Das gewöhnliche MetHb hat nach ihm ein sehr deutliches Band im Violett, während vom Ultraviolett nur der Anfang absorbirt wird. Das alkalische MetHb hat ein Band im Violett; vom Ultraviolett wird der Anfang und noch viel mehr das Ende absorbirt. Für das CNHMetHb fand Grabe ein sehr deutliches Band im Violett, während vom Ultraviolett nur der Anfang absorbirt wird. Das NitritMetHb verhält sich ähnlich; nur ist der Streifen im Violett weniger deutlich ausgesprochen. Das COHb verhält sich nach Grabe wie das O²Hb.

Ich selbst wurde durch die Liebenswürdigkeit von Prof. Wachs-muth in Rostock und dessen Assistenten Dr. Knoblauch in die Lage versetzt, im hiesigen physikalischen Institute einige Untersuchungen über das violette und ultraviolette Spectrum des Blutfarbstoffes und seiner Derivate anzustellen. Wir benutzten das Licht einer elektrischen Bogenlampe, einen Spalt wie Grabe, eine Sammellinse aus Bergkrystall und 3 Bergkrystallprismen. Das Licht wurde aufgefangen theils auf einem lichtempfindlichen Platincyanürschirm, theils auf der photographischen Platte. Beim Photographiren ging es uns aber ähnlich wie Grabe, d. h. es ergaben sich schwer

1) Analyse spectrale. Sur le spectre d'absorption du sang dans la partie violette et ultraviolette. Comptes rend. de l'Acad. de sc. vol. 97 p. 1269. 1883.

2) Photographie des spectres d'absorption de l'hémoglobine. Archives des physiol. normale et pathol. p. 340. 1890.

verständliche, vieldeutige Bilder. Ich kam zu der Ueberzeugung, dass die Verfolgung der in Rede stehenden Frage mit Hülfe der Photographie eine recht mühsame ist, welche sich nur lohnen wird, falls man ein länger dauerndes Specialstudium darauf verwendet. Die auf dem Platincyanürschirm erscheinenden Bilder waren dagegen ohne grosse Mühe zu gewinnen und sehr deutlich. Es empfiehlt sich, vom sichtbaren Spectrum nur die Farben Blau, Indigo und Violett mit aufzufangen. Man sieht dann normaler Weise auf dem Schirm drei Absorptionsstreifen, welche dem elektrischen Bogenlichte als solchem zukommen, nämlich zwischen Blau und Violett, zwischen Violett und Ultraviolett und in der Mitte des Ultraviolett. Hell erscheint dem entsprechend ein Stück des Blau (I), ein Stück Violett (II), dann der Anfang des Ultraviolett, und zwar dieser sogar sehr hell (III), endlich das Ende des Ultraviolett (IV). Auf diese vier hellen Stellen wurde beim Vorhalten der Blutsubstanzen geachtet, die in den schon in der vorhergehenden Arbeit erwähnten geringen Concentrationen in 10–15 mm dicker Schicht zur Verwendung kamen. Die benutzten Gefässe gaben keine bemerkbare Absorption. Das Ergebniss der Untersuchungen in Bezug auf Violett und Ultraviolett lässt sich folgendermaassen wiedergeben. O^2Hb löscht aus d. h. absorbiert die Strahlen der hellen Stelle II und die Hälfte von III. Hb verhält sich fast ebenso; nur ist die Absorption bei III etwas geringer. Das gewöhnliche $MetHb$ absorbiert das Licht von II, III und IV. Beim alkalischen $MetHb$ liegen die Verhältnisse ebenso; nur wird III nicht völlig ausgelöscht. Das $CNH\ MetHb$ absorbiert II und IV, während es III nur etwas verdunkelt. Das $H^2O^2\ MetHb$ absorbiert II und III, während IV nur etwas verdunkelt wird. Das $COHb$ absorbiert II und die Hälfte von III. Aus diesen Angaben geht hervor, dass in der That in Uebereinstimmung mit Grabe im Violett und Ultraviolett bei allen untersuchten Substanzen eine Absorption wahrgenommen wurde. Weiter erwies sich wie bei Grabe das Absorptionsspectrum des O^2Hb als identisch mit dem des $COHb$; das des Hb war ebenfalls dem des O^2Hb sehr ähnlich. Die vom $MetHb$ bewirkte Absorption fand ich sehr stark, namentlich auch am rechten Ende des Ultraviolett; Grabe fand diese Stelle besonders beim alkalischen $MetHb$ absorbiert. Das $CNH\ MetHb$ absorbierte ähnlich wie das alkalische $MetHb$; nur ist die Auslöschung von III keine völlige. Das $H^2O^2\ MetHb$ absorbierte

ebenfalls ähnlich wie das alkalische Met Hb; nur war IV nicht völlig verdunkelt.

Die Thatsache, dass der Blutfarbstoff und seine Derivate noch bei starker Verdünnung ihrer Lösungen auch im Violett und Ultraviolett Absorptionsspectra liefern, ist damit von Neuem dargethan und dürfte von jetzt ab in Lehrbüchern nicht mehr mit Stillschweigen übergangen werden können.