

zung unter Degeneration ihrer Elemente einer bindegewebigen Platz macht, die indessen auch mit dem Alter des Thieres einer völligen Rückbildung verfällt. Genaueres über diese Fragen bleibt in einer ausführlicheren Arbeit zu besprechen. —

Heidelberg, März 1885.

Zur Kenntniss der Serumfarbstoffe.

Von

C. Fr. W. Krukenberg.

(Aus dem chemisch-physiologischen Laboratorium der Universität Jena.)

(Hierzu Tafel I).

Die Anschauung, dass das Hämoglobin der verbrauchten rothen Blutkörperchen extra- oder intracellular unter Bildung von Bilirubin oder von Hydrobilirubin zerfalle, welche Producte alsdann durch Leber oder Nieren ausgeschieden, zuvor also vom Blute transportirt werden, gab ebenso wie die Auffassung, dass das von den Nieren ausgeschiedene Hydrobilirubin zum grössten Theile nur das vom Darmtractus aus resorbirte ist, mehrfach Veranlassung, nach gut charakterisirten Serumfarbstoffen zu suchen. Zu den Untersuchungen wählte man solche Sera aus, welche durch eine intensivere Färbung anzudeuten schienen, dass sich in diesen Fällen die Spaltungsproducte des Hämoglobins reichlicher im Blutplasma anhäufen und, indem sie nicht so rasch und so vollständig von den Excretionsorganen aufgenommen werden, darin vielleicht auch länger verharren, als bei den Thieren, deren Blutserum weit schwächer tingirt, ja nahezu farblos (z. B. beim Kaninchen) ist.

Am Pferdeblutserum gelang es dann auch *Hammarsten*¹⁾, bei Fällung des Paraglobulins durch Essigsäure aus dem Serum einen Farbstoff mit niederschlagen, welcher sich dem lufttrocknen, gelbgefärbten Paraglobulinpulver durch Auskochen mit Chloroform entziehen liess. Dieser durch Verdunsten der Chloroformlösung krystallisirt erhaltene Farbstoffkörper gab eine schöne und ganz

¹⁾ *O. Hammarsten*, Ueber das Vorkommen von Gallenfarbstoff in dem Blutserum. Autoreferat in *Maly's* Jahresb. über die Fortschritte der Thierchemie. Bd. 8. Ueber das Jahr 1878. S. 129 u. 130.

typische *Gmelin'sche* Reaction, mit Brom eine schön grüingefärbte Lösung, wurde von Alkohol aus der Chloroformlösung mit orangerother Farbe gefällt, durch verdünnte Natronlauge der Chloroformlösung entzogen, erwies sich als kaum löslich in Aether und zeigte, in Lösung befindlich, keinen Absorptionsstreifen im Spectrum: eine Thatsache, die schon früher von *R. Přibram*¹⁾ festgestellt und dahin präcisirt war, dass in einer 4.5 ctm. dicken Schicht des Pferdeblutserums die Absorption schon bei E beginnt und schon in der Nähe von b ihr Maximum erreicht, indem von da an der ganze Theil des Spectrums fast vollständig ausgelöscht erscheint. Durch diese Reactionen war der Farbstoff als Bilirubin erkannt, dessen typisches Aussehen auch die erhaltenen Krystalle darboten. *Hammarsten* betrachtet das Bilirubin als einen physiologischen, quantitativ doch sehr wechselnden Bestandtheil des Pferdeblutserums; in dem Serum von Menschen- und Rindsblut konnte er dagegen den Farbstoff nicht nachweisen. *Alexander Schmidt*²⁾ hatte s. Zt. geglaubt, dass der gelbe Farbstoff des Pferdeblutserums sowohl spectroscopisch (allerdings nur beurtheilt nach der Endabsorption am blauen Ende des Spectrums), wie auch durch die katalysirende Wirkung auf Wasserstoffsperoxyd, wobei derselbe eine vollkommene Oxydation erleidet, mit dem gelben Körper übereinstimme, welcher durch Oxydation des Pferdchämoglobins in concentrirter Natronlauge erhalten werde. „Der gelbe Farbstoff des Blutserums“, sagt *A. Schmidt*³⁾, „weist darauf hin, dass die Entstehung dieser Substanz im Organismus auf der vereinigten Wirkung des Blutalkalis und des erregten Sauerstoffes beruht, in der Weise, dass durch Ersteres eine beständige partielle Zersetzung des Hämatoglobulins bewirkt wird, während durch Letzteren das dabei entstehende Hämatin zu jenem gelben Farbstoffe verbrannt wird und als solcher eine gewisse Beständigkeit besitzt.“

Abgesehen von einem einfachen Uebertritt des Leberbilirubins in's Blut, scheint sich im Blutplasma des erwachsenen Menschen Bilirubin nur noch bei hämatogenem oder, wie *Quincke* will, bei anhepatogenem Icterus, also ebenfalls nur unter pathologischen

¹⁾ *R. Přibram*, Eine neue Methode z. Bestimmung des Kalkes u. der Phosphorsäure im Blutserum. Ber. über die Verhandl. der k. sächsischen Ges. der Wiss. zu Leipzig. Math.-physische Classe. 1871. S. 280. Anm. 1.

²⁾ *Alex. Schmidt*, Hämatologische Studien. Dorpat. 1865. S. 73.

³⁾ *Alex. Schmidt*, *ibid.* S. 78.

Verhältnissen, vorzufinden; indess ist es ebenso zweifelhaft, dass nicht auch in diesen Fällen, wie z. B. *Afanassiew*¹⁾ vermuthet, das Bilirubin stets der Leber entstammt, als dass das Leberbilirubin ein Zersetzungsproduct des Hämoglobins, und nicht vielmehr, worauf kürzlich *Nencki*²⁾ hinwies, unfertiges Hämoglobin ist. Bei Neugeborenen findet man dagegen, wie zuerst *Chevreul*³⁾ bemerkte, entsprechend der Ausbildung des Icterus neonatorum, vom zweiten Tage bis zu Ende der ersten Woche nach der Geburt, im Blute wohl ganz regelmässig Bilirubin vor, welches sich hier nach *Buhl* und *E. Neumann*⁴⁾ unter pathologischen Verhältnissen (bei Respirationsstörungen) so reichlich im Blute ansammeln kann, dass es sich einige Stunden oder Tage nach eingetretenem Tode aus dem Blute in nadelförmigen Krystallen abscheidet.

Ein weiteres Derivat der Gallenfarbstoffe will man indess als färbenden Bestandtheil des Blutserums auch bei Thieren nachgewiesen haben. So gelangte *Mac Munn*⁵⁾ bei der spectroscopischen Untersuchung frischen Hammelblutserums zu dem Schlusse, dass dieses Choletelin oder einen dem Choletelin ähnlichen Farbstoff, aber kein Lipochrom enthalte. Das Serum zeigte ihm neben den beiden Oxyhämoglobinstreifen ein breites Band vor F, diese Linie nur um Weniges nach dem blauen Ende des Spectrums überragend. Auf Zusatz von Chlorzink und Natronlauge erschien das Absorptionsband in der vom Niederschlage abfiltrirten Farbstofflösung verbreitert und um Weniges nach dem Blau hin verschoben, reine Natronlauge wie Ammoniak dagegen machten den

1) *A. Afanassiew*, Zeitschr. f. klin. Medicin. Bd. 6. 1883. S. 314.

2) *M. Nencki* u. *N. Sieber*, Untersuchungen über den Blutfarbstoff. Ber. d. d. chem. Ges. Jahrg. 17. 1884. S. 2275.

3) *Chevreul*, Mém. sur plusieurs points de chimie organique, et considérations sur la nature du sang. Journal de physiologie de *Magendie*. T. IV. 1824. p. 126.

4) *E. Neumann*, Eine Beobachtung über spontane Abscheidung von Bilirubinkrystallen aus dem Blute und den Geweben. *E. Wagner's* Archiv der Heilkunde. Jahrg. 8. 1867. S. 170—173.

E. Neumann, Ueber das häufige Vorkommen von Bilirubinkrystallen im Blute der Neugeborenen u. todtfauler Früchte. *Ibid.*, Jahrg. 9. 1868. S. 40—48.

5) *C. A. Mac Munn*, Researches into the Colouring-matters of Human Urine, with an Account of their Artificial Production from Bilirubin, and from Haematin. *Proceed. of the r. Soc. of London*. Vol. 31. 1881. No. 208. p. 231—232 u. Chart 4, Spectr. 11.

Streifen verschwinden. *Mac Munn*¹⁾ hält hiernach den gelben Farbstoff des Hammelblutserums für ein Oxydationsproduct der Gallenfarbstoffe und mithin auch (in Uebereinstimmung mit *A. Schmidt*) für ein Hämoglobinderivat.

Obschon seit den Angaben von *Jones*²⁾ bekannt ist, dass das Blutserum einiger Wirbelthiere (z. B. *Emys reticulata*, *E. serrata*, *Cathartes atratus*) selbst eine tief goldgelbe Farbe besitzt, so wurde ausser dem menschlichen und dem Pferdeblutserum bislang doch nur noch das Ochsenblutserum auf die Natur seines gelben Pigmentes genauer geprüft. Nach *Milne-Edwards*³⁾ hat im Jahre 1835 *Martial Samson* in einer, an der École de pharmacie vertheidigten These, welche den Titel: „Études sur les matières colorantes du sang“ trug, eine grosse Anzahl an Ochsenblut ausgeführter Versuchsreihen mitgetheilt und an diesem vier gefärbte Substanzen unterschieden, von denen eine gelbe als diejenige bezeichnet wird, welche dem Serum seine eigenthümliche Farbe verleiht, und welche sich in Wasser, Alkohol, Aether wie Fett lösen, in der Kälte weder von concentrirten Säuren noch von Alkalien verändert, durch Chlor indess gebleicht werden soll. *Denis*⁴⁾ erklärte diese Substanz auf Grund ihrer Reactionen für Gallenfarbstoff, und *Alex. Schmidt*⁵⁾ hegte in Betreff des Farbstoffes im Rinderblutserum dieselbe Ansicht, welche er für den Serumfarbstoff des Pferdeblutes specieller entwickelt hat. *Thudichum*⁶⁾ hielt — ohne irgendwie zu bemerken, bei welchen Thieren er den Serumfarbstoff untersuchte, und in welcher Weise die Untersuchung desselben (ob am Serum direct oder an einer reineren Lösung des Farbstoffes) vorgenommen wurde — das gelbe Pigment des Blutserums ganz allgemein für Lutein, d. i. für ein Lipochrom,

¹⁾ *C. A. Mac Munn*, Studies in Animal Chromatology. Proceed. of the Birmingham Philosoph. Soc. Vol. 3. 1883. p. 365.

²⁾ *J. Jones*, Investigations, chemical and physiological, relative to certain american Vertebrata. Smithsonian contributions to knowledge. Washington 1856. Vol. III. p. 13—16.

³⁾ *H. Milne-Edwards*, Leçons sur la physiologie et l'anatomie comparée de l'homme et des animaux. T. I. Paris 1857. p. 183, note 2.

⁴⁾ *Denis*, Essai sur l'application de la chimie à l'étude du sang. 1838. p. 130.

⁵⁾ *Alex. Schmidt*, l. c., S. 73.

⁶⁾ *J. L. W. Thudichum*, Ueber das Lutein u. die Spectren gelbgefärbter organischer Substanzen. Centralbl. f. d. medic. Wissensch. Jahrg. 7. 1869. S. 1—5.

weil das Spectrum desselben die 3 Luteinbänder aufweisen soll. Dieser Ansicht schloss sich auch *Hoppe-Seyler*¹⁾ an, welcher von dem Serumfarbstoffe (hier ist sowohl der des Rinds-, wie auch der des Pferde-, Hunde- und Menschenblutes einbegriffen) bemerkt: „Nach den Lichtabsorptionen (Absorptionsstreifen im Blau bei der Spectraluntersuchung mit directem Sonnenlicht) scheint der Farbstoff identisch mit den Farbstoffen des Eidotters und der Butter, dem Lutein, doch ist es noch nicht gelungen, den Farbstoff darzustellen, da seine Trennung von den Fetten, ebenso von fetten Säuren, Cholestearin u. s. w. bis jetzt noch nicht ausgeführt werden konnte.“ *Maly*²⁾ hingegen glaubte, „das Hydrobilirubin sei auf dem Wege zwischen Darm und Niere in der Blutbahn leicht nachzuweisen, wenigstens beim Ochsenblut sei das klare, in der Winterkälte von den letzten Körperchen abgetrennte Serum intensiv gelb und gebe im Spectrum Dunkelheit von 144 an (wenn Li bei 102.5; Na auf 120, K β bei 219.5), links scharf begrenzt, dann ein schmales blässeres Streifchen 120 bis 122 (das vielleicht von Spuren eines veränderten Blutfarbstoffes herrühren dürfte), so in einer Schicht von 1 $\frac{1}{2}$ ctm. und unverdünnt.“ Nach „Wassersatz zum Serum,“ fährt *Maly* fort, „ist das Blau gut zu sehen, aber zwischen Grün und Blau ist ein mässig dunkler Schatten geblieben. Das mit Chlorzink und Ammoniak versetzte Blutserum gibt deutliche Verdunklung von 146 an.“ Neun Jahre später äusserte sich *Maly*³⁾ zwar weit weniger bestimmt über das Hydrobilirubinvorkommen im Ochsenblutserum, dessen gelbes Pigment kurz nachher von *Mac Munn*⁴⁾ als Choletelin angesprochen wurde.

Sämmtliche Untersucher, deren Mittheilungen den Schein erregen könnten, dass es ihnen gelungen sei, ein lipochromatisches Pigment aus dem Rinderblutserum abzuschneiden, lassen uns im Ungewissen, durch welche Mittel die Isolirung des Farbstoffes aus dem Serum gelungen ist. *Preyer's* Angabe⁵⁾, dass weder aus

1) *F. Hoppe-Seyler*, Physiologische Chemie. III. Theil. Berlin 1879. S. 434.

2) *R. Maly*, Unters. über die Gallenfarbstoffe. III. Abhdlg. Umwandlung von Bilirubin in Harnfarbstoff. Ann. d. Chem. u. Pharmac. Bd. 163. 1872. S. 93. Vgl. auch dessen Jahresb. über die Fortschr. der Thierchemie für das Jahr 1872. Bd. 2. S. 237.

3) *R. Maly*, Chemie der Verdauungssäfte u. der Verdauung. *Hermann's* Handb. der Physiologie. Bd. V. Th. II. 1881. S. 162.

4) *C. A. Mac Munn*, Studies in Animal Chromatology. I. c., p. 365.

5) *W. Preyer*, Die Blutkrystalle. Jena 1871. S. 99 Anm. 2 u. S. 190.

frischem noch aus altem Blutserum (vom Rind) durch reines Chloroform eine Farbstofflösung zu erhalten ist, vermag ich vollständig zu bestätigen und noch dahin zu erweitern, dass auch durch Benzol, Aether, Methyl-, Aethylalkohol u. dgl. m. der Farbstoff frischem Rinderblutserum nicht zu entziehen ist. Die widersprechenden Angaben von *Samson* kann ich mir nur dadurch erklären, dass hier ein abweichender Farbstoff (vielleicht Bilirubin) vorlag und aller Wahrscheinlichkeit nach die Beobachtung auch nicht an Rinds- sondern an Pferdeblut gemacht wurde, dass fernerhin auf einen Luteingehalt des Blutserums von *Thudichum* wie von *Hoppe-Seyler* nur aus den spectroscopischen Eigenschaften des gefärbten Serums, nicht aus dem Verhalten des Farbstoffes gegenüber den lipochromatischen Lösungsmitteln oder aus den Spectraleigenschaften reinerer Farbstofflösungen und dem Verhalten der Pigmente in fester Form gegen concentrirte Schwefelsäure und starke Salpetersäure geschlossen ist. Mit so vielen Lösungsmitteln ich frisches Rinderblutserum auch behandelte, der gelbe Farbstoff liess sich nur durch eine einzige Flüssigkeit dem Serum in erheblicherer Menge durch Ausschütteln entziehen, und zwar nur mittelst Amylalkohol, welcher bei der Extraction der Fäulnissfarbstoffe (identisch mit dem Urorubin von *Plósz*, dem Erythroproteid der pathologischen Anatomen und wahrscheinlich auch mit dem Urosein *Nencki's*) in gleicher Weise vorzügliche Dienste geleistet hatte ¹⁾, und durch den, wie *Nencki* ²⁾ berichtete, auch dem Harne das Hydrobilirubin vollständig entzogen werden kann.

Durch wiederholtes Ausschütteln mit neuen Portionen von Amylalkohol ist das beim Mischen des Amylalkohols mit dem Serum entstehende Eiweisscoagulum völlig weiss zu gewinnen, während anderseits die Lösungen des Farbstoffes in Amylalkohol durch Eindampfen auf dem Wasserbade leicht concentrirter zu erhalten sind. Ist der Farbstoff dem Serum durch Amylalkohol erst einmal entzogen, so löst sich derselbe nach dem Verdunsten des Amylalkohols sofort auch in allen übrigen Flüssigkeiten, welche als lipochromatische Lösungsmittel bekannt geworden sind, und ertheilt diesen eine gelbe, bald mit einem Stich in's Grüne (z. B. Alkohol, Aether), bald eine mehr in's Orange spielende Färbung

¹⁾ Vgl. *Krukenberg*, Zur Charakteristik einiger physiologisch u. klinisch wichtigeren Farbenreactionen. Verhandl. d. physik.-med. Gesellsch. zu Würzburg. N. F. Bd. 18. No. 9. 1884. S. 185 ff.

²⁾ *Nencki* u. *Sieber*, a. a. O., S. 2268.

(z. B. Chloroform); nur die Schwefelkohlenstofflösung besitzt ebenso wie bei den übrigen gelben Lipochromen eine, etwas in's Rothbraune gehende Orangefarbe. Alle diese Lösungen des Serumfarbstoffes zeigen im Spectrum die beiden Absorptionsbänder, welche speciell für die Glieder der Chlorophangruppe charakteristisch sind, welche in der alkoholischen und in der ätherischen Lösung dem blauen Ende des Spectrums am nächsten lagern, von diesem sich in Schwefelkohlenstoff gelöst am meisten entfernen, während die Lage der Bänder in der Chloroformlösung zwischen beiden Extremen die Mitte einhält. Auch im Spectrum der Chloroformlösung des Farbstoffes (Taf. I, Spectr. 4) war von einem dritten Absorptionsbande bei G, welches das Spectrum mehrerer Chlorophane besonders bei Anwendung dieses Lösungsmittels darbietet, nichts zu entdecken; es ist jedoch durch *Kühne's* sowie durch meine eigenen Untersuchungen hinlänglich klargelegt, dass dieser dritte Lipochromstreifen — welcher überdies nur bei sehr günstiger Beleuchtung¹⁾ und deutlich nur in Lösungen, welche keine, die blauen und violetten Strahlen absorbirende Verunreinigungen enthalten, gesehen wird — inconstant und die Deutung der darauf beruhenden spectroscopischen Verschiedenheiten einzelner Lipochrome noch keineswegs geglückt ist. Sehr bemerkenswerth scheint mir der Umstand, dass das Spectrum des frischen Serums (Taf. I, Spectr. 2) die beiden Lipochromstreifen, von denen der dem Roth benachbartere stets der bei weitem dunklere ist, ebenfalls mit voller Deutlichkeit zeigt, aber ganz anders gelagert als im Spectrum der Lösung des Farbstoffes in Amylalkohol (Taf. I, Spectr. 3). Derartige Differenzen werden bei Lipochromen nicht selten beobachtet, erhalten sich bisweilen (z. B. bei dem Lipochrome des menschlichen Knochenmarks) noch in der alkoholischen Lösung und lassen, wenn, wie in unserem Falle, das Lösungsmittel dafür nicht verantwortlich zu machen ist, nur die Annahme einer lockern chemischen Verbindung des Lipochromes mit einer fettartigen Substanz oder vielleicht auch mit einem Eiweisskörper zu; in ihrem Detail sind diese Verhältnisse jedoch nicht weniger klar als die zahlreichen Veränderungen, welche die Lipochrome in scheinbar abgestorbenen Geweben durchzumachen haben. In dem Umstande, dass sich bei Anwendung verschiedener Lösungsmittel die beiden Spectralbänder ganz gleichmässig verschieben, sehe ich indess den triftigsten Beweis dafür, dass beide Bänder einem

¹⁾ Ich bediente mich bei diesen Versuchen des Magnesiumlichtes.

einzigen Farbstoffkörper angehören, und dass die ungewöhnliche Dunkelheit des ersten Bandes (Taf. I, Spectr. 3 um F) nicht etwa auf Hydrobilirubin zu beziehen ist, an dessen spectroscopisches Verhalten in saurem Amylalkohol (Taf. I, Spectr. 1) der dunklere Streifen im Serum spectrum zwar ausserordentlich erinnert.

Vergleicht man das Spectralverhalten des Farbstoffes aus dem Rinderblutserum mit dem der übrigen, bislang bekannt gewordenen Lipochrome, so ergibt sich eine zweifellose Verschiedenheit zwischen dem Serumfarbstoffe einerseits, den Chromophanen wie auch dem Lecitochrin und dem, dem Chlorophan der Hühnerretina so ähnlichen Fettfarbstoffe aus menschlichem Knochenmark anderseits. Den durch Verseifung rein erhaltenen Farbstoff des Hühnereierdotters habe ich, um ein weiteres Vergleichsobject zu besitzen, ebenfalls in Amylalkohol gelöst und gesehen, dass, wie nach Kühne's Untersuchungen zu erwarten stand, im Spectrum desselben die Streifen weit mehr dem Roth genähert liegen als im Spectrum der entsprechenden Lösung des Serumfarbstoffes. Das Spectrum der Lecitochrinlösung in Amylalkohol zeigte ebenso scharf als die Chloroformlösung das dritte Absorptionsband bei G. In seinen spectroscopischen Eigenschaften gleicht das Serumlipochrom am meisten dem Lutein Kühne's¹⁾ und dem gelben Hautpigmente von Triton cristatus²⁾; ob unter diesen Farbstoffen jedoch eine wirkliche Identität besteht, wird vor der Hand noch nicht zu entscheiden sein.

Der Umschlag in's Rothe, welchen alkalische Hydrobilirubinlösungen durch Säurezusatz erfahren, und das Dunklerwerden, welchem die Alkaliverbindungen des Hydrobilirubins bei längerer Aufbewahrung unterworfen sind, geben meinen Erfahrungen gemäss die empfindlichsten Reactionen auf diesen Körper ab. Zur Prüfung auf Spuren von Hydrobilirubin, denn nur solche hätten sich dem Mitgetheilten nach neben dem Lipochrome in dem Rindserum vorfinden können, wurden von einem concentrirten Amylalkoholauszuge des Serums drei Portionen genommen, von welchen die eine mit Salzsäure angesäuert, die zweite mit Ammoniak + Chlorzink versetzt wurde, und die dritte, in gleicher Schichten-

¹⁾ *W. Kühne*, Beiträge zur Optochemie. Unters. a. d. physiolog. Inst. der Universität Heidelberg. Bd. 1. Heft 3. 1882. Taf. 5.

²⁾ *Krukenberg*, Vergl.-physiologische Studien. II. Reihe. II. Abth. Heidelberg 1882. Taf. 3.

dicke wie die übrigen, als Controlprobe unvermischt blieb. In genau der nämlichen Weise wurden darauf die Versuchsreihen mit einer annähernd gleich stark gefärbten Lecitochrinlösung und mit einer reinen, kaum gefärbt erscheinenden neutralen Hydrobilirubinlösung (in Amylalkohol) wiederholt. Diese Versuche ergaben mit aller Evidenz, dass das Rinderblutserum auch nicht die minimsten nachweisbaren Mengen von Hydrobilirubin enthielt: der Amylalkoholauszug des Serums glich genau der Lecitochrinlösung. Beide Flüssigkeiten verblassten durch Salzsäure und veränderten auf Zusatz von Ammoniak + Chlorzink ihre Farbe nicht, während die erst in einer 2—3 ctm. dicken Schicht strohgelb erscheinende Hydrobilirubinlösung mit Salzsäure sich sehr deutlich granatroth färbte und auf Zusatz von Ammoniak + Chlorzink grün fluorescirte. Versuche, bei denen das zuvor angesäuerte Rindserum mit Amylalkohol ausgeschüttelt wurde, hatten das nämliche negative Resultat zur Folge. Ganz entgegen der Eigenschaft einer gelben Hydrobilirubinlösung, beim Stehen an der Luft nachzudunkeln, verbleichen die Auflösungen des Serumfarbstoffes nach einiger Zeit, ja sie erleiden sogar eine vollständige Entfärbung, rascher zwar am Lichte, doch auch im Dunkeln, und zwar bedurfte es dazu — wie Begleitversuche, ausgeführt mit dem Farbstoffe des Hühnereidotter, welcher zu diesem Zwecke ebenfalls in Amylalkohol gelöst wurde, lehrten — nicht längerer Zeit, als bei einer, denselben Bedingungen unterstellten Lecitochrinlösung von annähernd gleicher Farbenintensität. Hydrobilirubin war somit auch nach diesem Verfahren im Rinderblutserum nicht nachzuweisen, und das für den gegentheiligen Schluss von *Maly* geltend gemachte, von ihm jedoch nur ungenügend untersuchte spectroscopische Verhalten des Rindsserums passt ebenso gut, ja noch weit besser auf einen rein lipochromatischen Farbstoff, als auf Hydrobilirubin. Weder bei den ganz successiv erfolgenden Extraktionen des Serums mit stets neuen Amylalkoholmengen — ein Verfahren, welches mir z. B. bei den Untersuchungen der Farbstoffe von *Anthea Cereus* so werthvolle Aufschlüsse geliefert hatte —, noch bei dem ganz allmäligen Verblasen der Farbstofflösungen am Lichte traten Erscheinungen auf, welche auf ein, im Serum vorhandenes Farbstoffgemisch (etwa bei Anwesenheit von Choletelin oder anderer, durch Reactionen schwer zu erkennenden Substanzen) schliessen liessen. Stets erschienen auch in den Spectren nur die beiden Lipochrombänder, was zugleich beweist, dass die

Trennung des Serums von den Blutkörperchen ebenfalls in erwünschter Weise gelungen war¹⁾).

Weder das direct, noch das nach schwachem Salzsäurezusatz mit Amylalkohol extrahirte Serum gab mit salpetriger Salpetersäure oder mit Bronnwasser irgend eine Andeutung des Eintretens der *Gmelin'schen* Gallenfarbstoffreaction, wodurch also auch weiterhin die Abwesenheit von Gallenfarbstoffen in demselben bewiesen sein dürfte.

Prüft man den gelben Verdampfungsrückstand der Lösung des Serumfarbstoffes in Amylalkohol auf die den Lipochromen eigenthümliche Blaufärbung durch concentrirte Schwefelsäure oder durch starke Salpetersäure, so findet man diese Reaction nur stellenweise ausgeprägt; durch vorsichtige Behandlung des salbenartigen Verdampfungsrückstandes mit reinem, möglichst kalt gehaltenen Petroläther, rasches Filtriren der Farbstofflösung, Abdampfen und mehrmalige Wiederholung dieser Operationen, indem einige Male statt des Petroläthers auch Chloroform verwendet wurde, gelang es mir jedoch, auch dieses Lipochrom soweit zu reinigen, dass beide Reactionen sehr schön hervortraten und auch auf Zusatz eines Tropfens Essigsäure durch Jod-Jodkaliumlösung eine blaugrüne Färbung zu erzielen war.

Als sich gezeigt hatte, dass der nach *Kühne's* Methode mit heisser Natronlauge verseifte Amylalkoholauszug des Serums beim Schütteln mit Petroläther keinen Farbstoff an diesen abgab, und nach dem Aussalzen der Seifenlösung die mit Petroläther oder mit Aether geschüttelte Masse zu einer gleichmässigen Gallerte gestand, aus der sich die Aether auch nach Wochen nicht unterschieden, so wurde der in oben beschriebener Weise gereinigte Verdampfungsrückstand des Amylalkoholauszugs mit Aethylalkohol

¹⁾ Obschon ich anfangs ausschliesslich an reinem Serum experimentirte, überzeugte ich mich doch später, dass (nach raschem Aufkochen des Blutes) der Serumfarbstoff nicht weniger rein durch Amylalkohol aus dem Blute direct zu gewinnen ist, und dass das umständliche Absetzenlassen der Blutkörperchen deshalb für gewöhnlich umgangen werden kann, zumal etwas Hämoglobin (wahrscheinlich aber nur von postmortal zersetzten Blutkörperchen herrührend) stets im Serum gefunden wird. *Preyer* (l. c. S. 6) bemerkt speciell vom Blutserum des Rindes, Schafes, Kalbes, Pferdes und Schweines, dass dasselbe, „wenn es auch noch so sorgfältig dargestellt wird, in Schichten von 4—6 ctm. vor den Spalt eines Spectralapparates gebracht, im Spectrum die beiden, für das sauerstoffhaltige Hämoglobin charakteristischen Absorptionsstreifen zeigt.“

aufgenommen und diese Lösung der Verseifung unterworfen. Es gelang auf diese Art, der ausgesalznen Seife den Farbstoff durch Aether zu entziehen und festzustellen, dass derselbe unzersetzt geblieben war; die gelbe Aetherlösung zeigte noch die beiden Spectralstreifen, die von denen im Spectrum des Amylalkoholauszuges in Lage und Intensität nicht zu unterscheiden waren.

Was nun schliesslich noch die Behauptung *Al. Schmidt's* anbelangt, der gelbe Serumfarbstoff sei aus dem Hämoglobin künstlich darzustellen, oder, was vielleicht in diesem Satze einbegriffen liegen soll, ein Derivat des Hämoglobins, so stehen derselben doch immerhin grosse Bedenken entgegen. Soviel ich bei Kryptogamen, Monocotylen und Dicotylen auch selber darnach suchte, so ist bislang doch niemals eine Spur von Chlorophyllgrün aufgefunden worden, welches nicht mit einem gelben Lipochrome (*Anthoxanthin Hansen's*) auf's Innigste gemischt gewesen wäre, — so innig damit verschmolzen, dass man bis zu *Hansen's* bahnbrechenden Untersuchungen, beide Farbstoffe sogar für einen einheitlichen Körper ansah. Sehr ähnlich scheint es sich auch mit den Hämoglobinen zu verhalten, wenschon mit dem Unterschiede, dass diesen das beigemengte Lipochrom an färbender Kraft bei weitem nachsteht, und dass auch nicht immer echte Lipochrome, sondern Zersetzungsproducte derselben (die aber noch immer gefärbt, indess viel schwieriger zu lösen sind und kein charakteristisches Spectralverhalten mehr besitzen) mit den Hämoglobinen vergesellschaftet vorkommen. Aus Substanzen dieser Art, aus unlöslich gewordenen lipochromatischen Stoffen scheinen mir z. B. auch die gelben Schollen zu bestehen, welche man so häufig im Knochenmarke antrifft. Zahlreiche vergleichend physiologische Daten lehren jedoch, dass die Anwesenheit der Lipochrome, und zwar ganz besonders der hier in Frage kommenden chlorophanartigen Farbstoffe, weder constant an Chlorophyllgrün noch an Hämoglobin im Vorkommen und somit an diese Stoffe auch nicht in ihrem Entstehen gebunden sind. Wie die Ueberführung des Cyanokrystallins in einen Fettfarbstoff gelehrt hat, können die Lipochrome sehr mannigfach vorgebildet sein, und in den allermeisten Fällen treffen wir von gefärbten Muttersubstanzen derselben im gesammten Organismus gar nichts an. Ihr Auftreten ist an einen bestimmten Stoff zweifellos nicht gebunden, und ebenso unterliegen sie selbst weiteren proteusartigen Wechsell, welche vorerst nicht zu entziffern sind. Bald verwandeln sich dieselben in Producte, welche sich nur durch ihre Resistenz gegen Lösungs-

mittel und durch ihr uncharakteristisches Spectralverhalten (Lipochromoide) von den Lipochromen unterscheiden, bald in solche, welche zugleich noch dadurch von ihren Muttersubstanzen abweichen, dass sie (wie z. B. die gelben und rothen Farbstoffe der Papageienfedern) sich mit concentrirter Schwefelsäure oder mit starker Salpetersäure nur unvollkommen oder auch gar nicht bläuen; ferner können aus den Fettfarbstoffen auch dunkelviolette (z. B. in der Rindensubstanz der Leptogorgien), ja braunschwarze (Melanoide) Pigmente, aller Wahrscheinlichkeit nach selbst die so resistenten Melanine hervorgehen, und die cholestearinartigen Abkömmlinge¹⁾ der Lipochrome werden nicht weniger mannigfaltig als die Lipochrome selber sein. Jedenfalls ist es rathsam, über die Herkunft der Lipochrome im Blutserum wie auch in den übrigen Geweben der Wirbelthiere nur mit einiger Zurückhaltung Vermuthungen auszusprechen, welche vielleicht eine einzige neue Thatsache wieder über den Haufen wirft.

Nach den Erfahrungen, welche ich über die Veränderungen der Lipochrome bei längerer Erhaltung an ihrem natürlichen Platze (in eingetrockneten Geweben oder auch, unter physiologischen Verhältnissen, in Organen, deren Stoffwechsel ein äusserst geringer ist) oder bei längerer Aufbewahrung der isolirten Farbstoffe im festen Zustande, bisweilen selbst an Lösungen zu machen Gelegenheit hatte, kann es nicht Wunder nehmen, dass auch die Serumlipochrome ihre Eigenschaften nicht unbegrenzt beibehalten, wenn sie im trockenen Zustande verharren. So beobachtete ich denn auch an einer, unter 100° C. eingedampften, goldgelben Hydrocele wie an einer, auf dem Wasserbade getrockneten und in Folge dessen etwas missfarbig gewordenen Hydroovarialflüssigkeit, dass ein, anfänglich zweifellos vorhanden gewesenes Lipochrom weder durch siedenden, noch durch kalten Amylalkohol bei mehrwöchentlicher Einwirkung den fein pulverisirten Massen zu entziehen war. Es kommen hier Factoren in Betracht, welche nicht nur die Eigenschaften der Lipochrome verändern, deren Löslichkeit für die lipochromatischen Lösungsmittel herabsetzen, ja ganz vernichten, sondern auch an Eiweisskörpern, an der

¹⁾ Ich erinnere daran, wieviele dem Cholestearin verwandte, doch in Schmelzpunkt und specifischer Drehung davon abweichende Substanzen (Hydrocarotin *Husemann's*, Isocholesterin und Caulosterin *E. Schultze's*, Phytosterin *Hesse's*, Paracholesterin *Rodewald's*) erst in jüngster Zeit aufgefunden und wieviele derartige Körper ausserdem Ein Mal beobachtet, aber noch nicht specieller untersucht sind.

Hemialbumose und an glukosidartigen Substanzen ist der verändernde Einfluss der Zeit leicht zu beobachten; die Chondroitinsäure z. B. braucht nur 1—2 Tage lufttrocken aufbewahrt zu werden, um ihre Fällbarkeit durch Essigsäure, die, wenn das Präparat nicht eintrocknete, eine quantitative ist, vollkommen einzubüßen.

Lehrreich und biologisch nicht weniger interessant als die Serumfarbstoffe der Säugethiere — deren Studium gerade deshalb ausgedehnter betrieben werden sollte, weil dadurch Licht auf den Verbleib vieler vom Darmtractus aus resorbirten Stoffe fallen wird — sind die lymphatischen Farbstoffe der Insecten. Bestehen in Betreff der Serumfarbstoffe schon unter den Säugethieren erhebliche spezifische Differenzen, indem, wie wir sahen, das Pferdeblutserum vorwiegend Bilirubin enthält, das Rinderblutserum dagegen in wahrnehmbarer Menge ausschliesslich ein luteinähnliches Lipochrom, so treten diese an der Insectenlymphe noch weit schärfer hervor.

Ich will hier nicht die merkwürdigen Befunde an der Coleopterenlymphe¹⁾ referiren, sondern mich darauf beschränken, in aller Kürze nachzuweisen, dass die Körperflüssigkeit der Lepidopterenpuppen in gleicher Weise melanisirt als die Lymphe der Käfer, und dass die Melanose in beiden Fällen durch die gleichen Mittel zu verhindern ist. Zu den Versuchen dienten mir einige Saturniden-Chrysaliden; die Ergebnisse sind folgende:

Die gelbgrüne Lymphe der Puppen von *Saturnia Pyri*²⁾ setzt spontan wenig Gerinnsel ab, trübt sich, verschiedenen Individuen entnommen, bei 60 resp. 65° C., ein stärkeres Coagulum entsteht indess erst bei 72 resp. 73° C., und hoch in den 70er Graden, vielleicht auch wohl erst bei 80° C. verwandelt sich die Lymphe in eine käseartige Masse. Das Spectrum der Lymphe (Taf. I, Spectr. 8) weist als Eigenthümlichkeit ein deutliches Absorptionsband um D auf, daneben zwischen b und G zwei andere

¹⁾ Cf. *Krukenberg*, Ueber die Hydrophiluslymphe etc. Verhandl. d. nat.-medic. Vereins zu Heidelberg. N. F. Bd. 3. Heft 1.

²⁾ Von dem rothbraunen Pigmente des chitinösen Puppenpanzers geht nur wenig in ammoniakalisches Wasser, nichts in siedenden Alkohol über; eine den Carminsäuren ähnliche Substanz, an die vielleicht zu denken gewesen wäre, liegt hier also nicht vor. Der Fettkörper enthält wenig Harnsäure und liess mikroskopisch nur Fett, weder Leucin noch Tyrosin erkennen.

Streifen, die einem gelben Lipochrome zukommen, und in dem alkoholischen Auszuge der Lymphe, welcher das Lipochrom vollständig aufnimmt, anders lagern als in der frischen Lymphe. Mit dem alkoholischen Lymphauszuge stimmt der alkoholische Auszug des Fettkörpers spectroscopisch überein (Taf. I, Spectr. 10); nach der Verseifung war weder vor, noch nach dem Aussalzen mit Kochsalz das Lipochrom durch Petroläther in Lösung zu bringen, vollständig gelang hingegen die Extraction mit Schwefeläther (Taf. I, Spectr. 9).

Die grünlich gelbe Lymphe der Puppen von *Saturnia Pernyi* entfärbte sofort reichliche Mengen von Rosolsäure, röthete blaues Lacmuspapier und besitzt demnach (wie vielleicht die Lymphe der meisten Lepidopterenpuppen) eine saure Reaction, die auch bei der Coagulation der Eiweisskörper durch Siedehitze nicht verschwindet. Die Lymphe zeigt ebenso wie der wässrige Auszug der grünen harzartigen Ballen, welche sich in den Puppen finden, keine charakteristische Spectralverhältnisse; die Lymphe enthält den nämlichen lipochromatischen Farbstoff, der sich bei *Saturnia Pyri* findet und, wie hier mit Deutlichkeit zu sehen war, 3 Absorptionsstreifen im Spectrum (Taf. I, Spectr. 11) aufweist.

Die spontane Gerinnung erfolgt an dieser Lymphe ausnehmend rasch und mit ihr gleichen Schritt hält die melanotische Verfärbung, die so rapide eintritt, dass es durch successive Erwärmung nur unvollkommen gelingt, sich davon zu überzeugen, dass Temperaturen über 50° C. den melanotischen Vorgang inhibiren. Wurde aber die lebende Puppe 1 Stunde 5 Min. einer Temperatur von 55° C. ausgesetzt, so verfärbte sich auch in diesem Falle die Lymphe beim Oeffnen des Thieres nicht mehr. Wie bei allen übrigen Insecten wird das Lipochrom durch die Melanose aber auch hier nicht verändert, selbst aus fast schwarz gewordener Lymphe lässt sich dasselbe leicht durch Alkohol extrahiren.

Während die reine oder mit destillirtem Wasser gemischte Lymphe sich bei Berührung mit dem Sauerstoff der Luft so äusserst schnell bräunt, behält dieselbe nach dem Sättigen mit Chlor-natrium oder Magnesiumsulfat wie auch auf Zusatz von Natron-lauge ihre ursprünglich zeisiggrüne Färbung bei, obschon zwar nur in den mit Bittersalz und destillirtem Wasser versetzten Portionen geringe Trübungen durch Eiweissgerinnsel bemerkbar sind, die übrigen Proben dagegen völlig klar bleiben; einen beschleunigenden Einfluss auf die Melanose übt Alkohol aus, wahrschein-

lich schon durch das ausfallende Eiweiss. — Beim Erwärmen trat eine Trübung in der reinen Lymphe erst bei 68° C. ein, bei 70° C. wurde dieselbe bedeutend stärker und bei 72° C. schied sich ein flockiges Gerinnsel ab.

Die bräunlich gelbe, schwach alkalisch reagirende Lymphe der Puppen von *Callosamia Promethea* schwärzte sich sehr bald an der Luft, schied auf Wasserzusatz kein Eiweiss ab und zeigte im Hämoskop, bei allmählig zu- und abnehmender Schichtendicke untersucht, kein deutliches Absorptionsband (Taf. I, Spectr. 7); das darin vorhandene Lipochrom liess sich erst durch Alkohol-extraction zur Anschauung bringen. Bei 61° C. trübte sich die ganz successiv erwärmte Lymphe, eine starke lehmfarbige Ausscheidung erfolgte bei 70° C.: Erscheinungen, welche die Filtrate wegen veränderter Reaction immer wieder zeigten, während eine vollständige Coagulation erst in der Mitte der 70er Grade eintrat.

Die Chrysalidenlymphe von *Platysamia Cecropia* zeigte in mehreren Versuchsreihen folgende Coagulationen:

1. Trübung bei 60 resp. 61° C.; Gerinnselbildung meist bei 63—65° C., in einem Versuche erst bei 67° C.
2. Trübung bei 68° C. und bei 70° C. flockige, rein weisse Ausscheidung, gleich beträchtlich wie im ersten Falle.
3. Trübung bei 84° C. und bei 88° C. eine weniger feste und weniger bedeutende Ausscheidung als gegen Anfang der 70er Grade.

Bei fortgesetzter Erwärmung bis 100° C. trat kein neues Gerinnsel mehr auf.

Die reine oder mit destillirtem Wasser verdünnte Lymphe verfiel der Melanose nach 7 Minuten; ein spontanes Gerinnsel entstand in der reinen Lymphe nicht, wohl aber eine geringe Eiweissfällung nach Wasserzusatz. Natronlauge, Sättigen mit Kochsalz oder Bittersalz verhinderten die Bräunung, nur Natronlauge erzeugte einen gallertigen Niederschlag, beim Sättigen mit den Neutralsalzen blieb die Lymphe klar. Alkohol bewirkte Fällung des Eiweisses und sofortige Bräunung.

Die Lymphe der *Cecropia*-Chrysaliden verdankt ihre grüne Farbe und den rothen Reflex einem sehr unbeständigen Pigmente, dessen Spectrum durch ein Absorptionsband um B ausgezeichnet ist (Taf. I, Spectr. 5). Erwärmen auf 66° C., Ammoniak, anorganische wie organische Säuren (z. B. Essigsäure) zerstören den Farbstoff, der Streifen um B verschwindet aus dem Spectrum und

die Färbung der jetzt goldgelb erscheinenden Lymphe rührt ausschliesslich von demselben Lipochrome her, welchem wir in der Lymphe bei sämmtlichen übrigen Saturnidenpuppen begegnet sind.

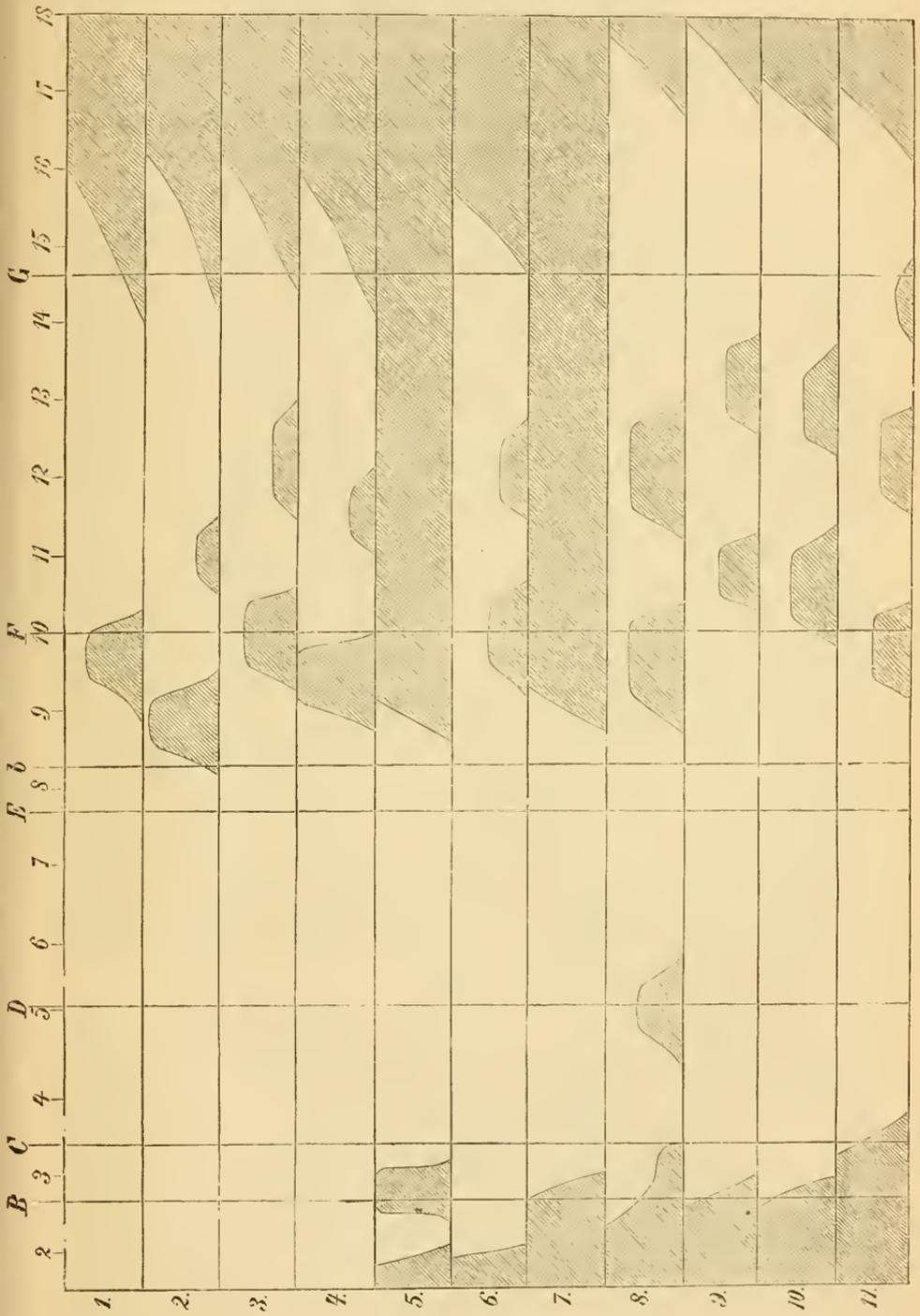
Die gelbgrüne, bisweilen auch bräunlichgelbe Lymphe der Puppen von *Telea Polyphemus* zeigt nur die Spectralbänder des gelben Lipochromes, gerinnt spontan nicht, ist aber ebenfalls der Melanose unterworfen, welche indess ausbleibt, wenn die Puppen ca. eine Stunde auf 50° C. erwärmt werden. Die Lymphe trübte sich schwach bei 56° C., stärker bei 62° C., wurde in der Mitte der 60er Grade undurchsichtig und lehmfarben; ein käsiges Gerinnsel schied sich aber erst bei nahezu 72° C. aus.

In Hinsicht auf das Verhalten des Farbstoffes im Rinderblutserum sind mehrere Erscheinungen, denen wir an den Chrysalidenlymphem begegneten, bemerkenswerth. Von diesen hebe ich besonders hervor: 1. Das constante Auftreten eines gelben Lipochromes, während betreffs der übrigen lymphatischen Farbstoffe erhebliche specifische Differenzen zu bestehen scheinen. 2. Die leichte Extractionsfähigkeit des Lipochromes in der Insectenlymphe durch Aethylalkohol u. dgl. m. 3. Das (trotz dieses leichten Ueberganges des Farbstoffes in Alkohol) so unterschiedliche Spectralverhalten der Lymphe und der alkoholischen Farbstofflösung (vgl. Taf. I, Spectr. 8 u. 10), und 4. Die Identität des Lipochromes der Lymphe mit dem des Fettkörpers.

Erklärung der Spectren auf Taf. I.

1. Hydrobilirubin aus salzsaurer wässriger Lösung mit Amylalkohol ausgeschüttelt.
2. Serum aus geschlagenem Rindsblut durch Absetzenlassen der Blutkörperchen gewonnen.
3. Farbstoff des Rinderblutserums in Amylalkohol gelöst.
4. Derselbe in Chloroform gelöst.
5. Lymphe der Puppen von *Platysamia Caeeropia* (von gelber bis gelbgrüner Färbung.)
6. Dieselbe auf 70° C. erwärmt.
7. Bräunlich gelbe Chysalidenlymphe von *Callosamia Pro-methea*.
8. Gelbgrüne Lymphe der Puppen von *Saturnia Pyri*.
9. Lipochrom des Fettkörpers von derselben Chysalide, nach der Verseifung in Aether gelöst.
10. Derselbe Farbstoff, dem Fettkörper oder der Lymphe durch Aethylalkohol direct entzogen.
11. Grünlich gelbe Lymphe der Chrysaliden von *Saturnia Pernyi*.

Taf. I.



ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Jenaische Zeitschrift für Naturwissenschaft](#)

Jahr/Year: 1885

Band/Volume: [NF_12_Supp_1](#)

Autor(en)/Author(s): Krukenberg Carl Friedrich Wilhelm

Artikel/Article: [Zur Kenntniss der Serumfarbstoffe. 52-69](#)