



**Over de door V. Arnold, onder den naam van neutrale
haematine, beschreven kleurstof: door Karel Hendrik Lodewijk
van Klaveren**

<https://hdl.handle.net/1874/253447>

A 40192
1901

Med. 21 Juni 19

K. H. L. VAN KLAVEREN.

Over de door V. Arnold, onder
den naam van Neutrale Haematine,
beschreven kleurstof.

UTRECHT,
C. H. E. BREIJER,
1901.

A. qu.
192

Over de door V. Arnold, onder den naam van
Neutrale Haematine, beschreven kleurstof.

Over de door V. ARNOLD, onder den naam van
— Neutrale haematine, beschreven kleurstof. —

PROEFSCHRIFT

ter verkrijging van den graad van

Doctor in de Geneeskunde,

AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT,

na machtiging van den Rector-Magnificus

Dr. W. KAPTEYN,

Hoogleeraar in de Faculteit der Wis- en Natuurkunde,

VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAT DER UNIVERSITEIT,

tegen de bedenkingen van

DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE

te verdedigen

op Vrijdag 21 Juni 1901 des namiddags ten 3 ure,

DOOR

KAREL HENDRIK LODEWIJK VAN KLAVEREN.

geboren te ROTTERDAM.



UTRECHT. — C. H. E. BREIJER.

Aan mijn Vader en de
nagedachtenis mijner Moeder.

Gaarne maak ik van deze gelegenheid gebruik om U, Hooggeleerde PEKELHARING, Hooggeachte Promotor, dank te zeggen voor de groote hulpvaardigheid mij door U bij het samenstellen van dit proefschrift betoond.

Tegenover U, Hoogleeraren en Lectoren der Medische Faculteit, zal ik mij steeds verplicht gevoelen voor het onderwijs, dat ik van U mocht genieten.

De tijd, Hooggeachte WIJNHOFF, dat ik onder Uwe leiding heb mogen werken, zal mij steeds in dankbare herinnering blijven.

HOOFDSTUK I.

Ruim een jaar geleden deelde *V. Arnold* mede, dat haematine bij neutrale reactie oplosbaar is in zouthoudenden alcohol. ¹⁾ Hij vond namelijk, dat versch gedefibrineerd bloed, met een alcoholische oplossing van kali gekookt en door glaswol gefiltreerd, bij neutralisatie de kleurstof grootendeels in oplossing hield, terwijl de bruine tint voor een roode plaats maakte.

Haematine is behalve in water, ether, chloroform, ook onoplosbaar in alcohol; dat de kleurstof hier nu wel in alcohol opgelost bleef, schreef *Arnold* toe aan de omstandigheid, dat de oplossing rijk aan een neutraal zout was, en dat bij de aanwezigheid van zulk een zout haematine wel in alcohol oplosbaar was.

Eerst door sterke verdunning met water werd de kleurstof neergeslagen. Dit neerslag, door *Arnold* als neutrale haematine beschouwd, werd op 't filter gebracht en goed met water gewasschen. Het bleek onoplosbaar te zijn in water, verdunden en absoluten alcohol, in geconcentreerde oplossingen van neutrale zouten (NaCl., Amm. sulf.) in water; oplosbaar echter, vooral bij verwarming, in een alcoholische oplossing van keukenzout of van ammoniumsulfaat.

¹⁾ Centralbl. f. d. Med. Wiss. 1899, 9 Dec., 16 Dec. en Zeitschr. f. Physiol. Chemie, Bd. XXIX, S 78.

Deze oplossing is duidelijk rood gekleurd, en geeft in het spectrum twee strepen, tusschen de strepen D en b van *Fraunhofer*.

In vergelijking met de strepen van oxyhaemoglobine zijn de strepen van „neutrale haematine” duidelijk naar de violette zijde van het spectrum verschoven.

De tweede streep van de „neutrale haematine” is veel donkerder en scherper begrensd dan de eerste.

De roode oplossing der „neutrale haematine” wordt door verwarming bruin en vertoont dan het spectrum van alkalische haematine, na afkoeling keert de roode kleur en eveneens het spectrum van „neutrale haematine” weder terug. Na toevoeging van alkali wordt de kleur ook bruin en verschijnt ook weder het spectrum van alkalische haematine.

Na toevoeging van zuur wordt de kleur evenzoo bruin en verschijnt het spectrum van zure haematine. 't Gemakkelijkst verkrijgt men „neutrale haematine” uit methaemoglobine; dit zou er op wijzen, volgens *Arnold*, dat methaemoglobine uit minder stevig gebouwde moleculen bestaat, dan oxyhaemoglobine. Voegt men bij een oplossing van methaemoglobine een zelfde hoeveelheid sterken alcohol, dan verandert dadelijk de bruine kleur van de oplossing in rood, het spectrum van de methaemoglobine verdwijnt en na korten tijd scheidt zich de „neutrale haematine” af.

Ook reeds herhaaldelijk schudden met chloroform is voldoende om uit methaemoglobine „neutrale haematine” te doen afscheiden.

Arnold is van meening, dat overal waar de bloedkleurstof in neutrale oplossing in hare componenten uiteenvalt, de kleurstof als „neutrale haematine” wordt afgescheiden. De meest kenmerkende eigenschappen van de door hem gevonden kleurstof, acht *Arnold* vooreerst

het verschil in kleur, herkenbaar met het ongewapend oog en met den spektroskoop, bij kamertemperatuur en bij verhitting en ten tweede de oplosbaarheid in zouthoudenden alcohol.

„Diese beiden Eigenschaften,” zoo drukt hij zich uit, „charakterisiren eine neutrale Hämatinlösung hinlänglich einer Oxyhämoglobinlösung gegenüber.”¹⁾

Intusschen werd al spoedig twijfel geopperd aan de juistheid van *Arnold's* opvatting. *Formánek* merkte op, dat ook uit een oplossing van oxyhaemoglobine door chloroform, althans bij een temperatuur van ongeveer 50° C., een rood neerslag verkregen wordt en dat dit als een moeilijk oplosbare oxyhaemoglobine beschouwd moet worden. Hij vond dat dit neerslag evenveel ijzer bevatte, als haemoglobine, 0,33%, en 16% N.

Op dien grond zegt deze onderzoeker, zonder de door *Arnold* op den voorgrond gestelde eigenschappen van de door hem bereide stof te bespreken: „Es unterliegt daher keinem Zweifel dass dieser Körper kein Hämatin ist”²⁾.

Hij voegt daaraan toe, dat door vermenging van een oplossing van oxyhaemoglobine met geconcentreerde keukenzoutoplossing in alcohol een oplossing verkregen wordt, die analoog is aan *Arnold's* „neutrale haematine,” de twee door dezen beschreven absorptiestrepen geeft, bij verwarming bruin wordt en dan een spectrum geeft overeenkomende met dat van alkalische haematine.

Deze kleurstof is, blijkens hetgeen in de mededeeling van *Formánek* voorafgaat, niet dezelfde als die, welke hij door behandeling van oxyhaemoglobine met

¹⁾ Zeitschr. f. Physiol. Chem. Bd. XXIX, S 85.

²⁾ Zeitschr. f. Physiol. Chemie. Bd. XXIX, S. 421.

chloroform verkreeg. Al is dus *Formánek* volkomen gerechtigd tot de uitspraak dat de laatstgenoemde stof zeker geen haematine is, toch heeft hij niet aangetoond, dat hetzelfde geldt voor de stof waaraan door *Arnold* de naam van „neutrale haematine” gegeven is.

Aan den anderen kant scheen evenwel ook *Arnold's* opvatting niet voldoende gegrondvest. Al mocht men er zich van overtuigd houden, dat de, wel in zout-houdenden alkohol, niet in water oplosbare kleurstof, die bij wisseling van temperatuur verandering van lichtabsorptie vertoont, niet als haemoglobine beschouwd mag worden, daarmede was nog niet aangetoond, dat zij recht heeft op den naam van haematine, alleen omdat zij verkregen kan worden door behandeling van de bloedkleurstof met een alkoholische oplossing van kaliloog en, bij alkalische reactie, het licht op dezelfde wijze als haematine opslorpt.

Inderdaad bleek mij bij het onderzoek, waarvan de beschrijving hier volgt, dat de door *Arnold* beschreven stof nog zeer na aan haemoglobine verwant is. Zij is niet, als haematine, een ontledingsproduct vrij van eiwit, maar een proteïde ontstaan door een eerste begin van ontleding der bloedkleurstof; haemoglobine, waarin niet zoo als in methaemoglobine slechts eene verschuiving van atoomgroepen heeft plaats gevonden, maar die reeds een, ofschoon zeer klein, gedeelte van de zoo samengestelde molecule verloren heeft.

Ik stel daarom voor aan dit product den naam te geven van *Kathaemoglobine*, om daarmede aan te duiden dat deze stof niet, als *methaemoglobine*, eenvoudig door intramoleculaire omzetting, maar door een begin van afbraak van de molecule ontstaan is.

HOOFDSTUK II.

Gelijk reeds gezegd is, bereidde *Arnold* de bedoelde stof door gedefibrineerd bloed in een alcoholische oplossing van kali te brengen en dan het mengsel te koken. Hij geeft geen voorschriften omtrent de te gebruiken hoeveelheden bloed, kalihydraat en alcohol en evenmin omtrent den tijd gedurende welken het verhitten moet worden voortgezet. Toch dient hierop bij de bereiding gelet te worden. Bij het neutraliseeren van het gekookte mengsel vertoont zich de roode, door verdunnen met water te praecipiteeren stof niet, of slechts in geringe hoeveelheid, wanneer het gehalte der vloeistof aan KOH 5 % veel te boven gaat, en het koken eenigen tijd geduurd heeft. Wanneer hiermede rekening gehouden werd, verkreeg ik geheel overeenkomstig de beschrijving van *Arnold* een oplossing, die zoolang de reactie alkalisch was, de bruine kleur met groenen weerschijn vertoonde van alkalische haematine, bij neutralisatie rood werd en nadat het neergeslagen eiwit door filtratie verwijderd was, bij verdunning met water een lichtrood, vlokkig praecipitaat gaf.

Dit praecipitaat was onoplosbaar in water, maar loste bij verwarming gemakkelijk op in zouthoudenden alcohol. Deze oplossing vertoonde de door *Arnold* beschreven absorptiestrepen en de wisseling van kleur

bij verwarming en afkoeling. Zij bevatte echter zeker niet alleen haematine, maar ook in ruime mate eiwit. Door de oplossing met azijnzuur te koken en dan met een verzadigde keukenzoutoplossing te vermengen, werd steeds een groot neerslag van eiwit verkregen.

Het was niet goed aan te nemen, dat dit eiwit van het bloedserum afkomstig zou zijn; na het koken met kali en alcohol, neutraliseeren en filtreeren, kon van dit eiwit zeker niet meer dan sporen verwacht worden in het praecipitaat door verdunning van de alcoholische oplossing met water verkregen. Evenwel werd voor alle zekerheid het onderzoek, in plaats van met gedefibrineerd bloed, met oplossingen van zuivere haemoglobine voortgezet.

De haemoglobine werd bereid op de door *Schuurmans Stekhoven* aangegeven wijze, ¹⁾ die zich voornamelijk hierdoor van andere methoden onderscheidt, dat de kleurstof aan de bloedlichaampjes onttrokken wordt, niet door toevoeging van water, maar door kneuzing van de stromata. De bloedlichaampjes worden, met behulp der centrifuge, met 1 % NaCl. uitgewassen en daarna met asbestvlokken twee uur krachtig geschud.

De bloedkleurstof lost daarbij in de zoutoplossing op, terwijl de stromata grootendeels aan de asbest blijven kleven en door filtratie verwijderd worden. Op deze wijze is het onnoodig de bloedkleurstof met ether in aanraking te brengen. De oplossing der haemoglobine wordt nu in een dialysator gebracht en in 45 % alcohol in de ijskast geplaatst. Zoodra de afzetting van haemoglobine-kristallen tegen den wand van den dialysator begonnen is (hetgeen meest na 24—48 uren het geval is) wordt de inhoud van den

¹⁾ Onderz. Physiol. Laborat. Utrecht, 4de Reeks, I, p. 67.

dialysator overgebracht in een cilindrisch glas en in de ijskast geplaatst totdat de kristallisatie geheel afgelopen is. Zoo wordt vermeden, dat de bloedkleurstof met meer alcohol in aanraking komt, dan volstrekt noodig is voor de kristallisatie. Op deze kristalbrij wordt een zijden zeefje geplaatst, dat door zijn eigen zwaarte of anders licht belast, de moederloog door de openingen doet dringen. Nadat deze moederloog verwijderd is, worden de kristallen bij een temperatuur van 37° C in zoo weinig mogelijk water weder opgelost.

Deze oplossing wordt weder in een dialysator in alcohol van 45 % geplaatst. De kristallisatie begint dan veel spoediger en nadat weder de moederloog verwijderd is, wordt de nog vochtige kristalbrij op poreuze borden gebracht. Nadat het meeste water in de borden is getrokken, worden de nog vochtige kristallen op een schaaltje gebracht en verder bij kamertemperatuur in een chloorcalcium-exsiccator gedroogd.

Van deze kristallen werd nu een zoo sterk mogelijke oplossing bereid. Op 100 c.M.³ van deze oplossing werden 200 c.M.³ 96 % alcohol en 1 à 2 c.M.³ verzadigde KOH-oplossing toegevoegd en vervolgens werd tot 60° C verhit en dadelijk geneutraliseerd en afgekoeld.

Door velerlei proeven was het mij gebleken dat door deze wijze van werken de kathaemoglobine het best en zekerst verkregen werd.

Door alcohol beneden of boven de 60 % à 70% of door meer KOH-oplossing te gebruiken werd of in 't geheel niet of slechts weinig kathaemoglobine verkregen.

Door de vloeistof eenigen tijd boven 60° C tot koken te verhitten, werd eveneens geen of weinig kathaemoglobine verkregen.

Door de afkoeling werd reeds een groot gedeelte van de kathaemoglobine neergeslagen, het overige kon door gedestilleerd water gepraecipiteerd worden.

De neergeslagen stof werd na herhaaldelijk met water gewasschen te zijn, zoodat het filtraat geheel kleurloos was, nu weder opgelost in alkohol van 60% met NaCl, onder verwarming tot 60° C.

Weder werd de stof gepraecipiteerd met H₂O en door dit nog eens te herhalen werd een zeer zuiver praecipitaat van kathaemoglobine verkregen.

Hier boven is reeds kort aangestipt dat in de kathaemoglobine-oplossing uit bloed verkregen door koken met azijnzuur en daarna toevoeging van verzadigde keukenzout-oplossing een praecipitaat verkregen was.

Ook de kathaemoglobine-oplossing verkregen uit zuivere haemoglobine en waaruit dus het eiwit van het serum geheel verwijderd was, vertoonde bij deze behandeling een duidelijk neerslag.

Salpeterzuur deed in de kathaemoglobine-oplossing een praecipitaat ontstaan, welk neerslag door koken weder oploste.

Azijnzuur en ferrocyanaalkalium gaf even als pikrinezuur een volumineus neerslag.

Verzadiging van de oplossing met ammoniumsulfaat en eveneens verzadiging met keukenzout deden ook een neerslag ontstaan.

Loste ik kathaemoglobine op in 0.2% HCl en pep-sine en digereerde ik 24 uur, zoo konden na neutralisatie de strepen van kathaemoglobine niet meer terugbekomen worden.

De door *Arnold* als haematine beschouwde stof is dus, evenals haemoglobine, een eiwitverbinding. Eerst wanneer de kaliloog in grootere concentratie of gedurende langeren tijd of bij hogere temperatuur dan

60° C. op de bloedkleurstof werkt, wordt het eiwit geheel van de haematine losgemaakt.

In de eerste plaats moest nu een antwoord gezocht worden op de vraag of bij de kort durende behandeling der haemoglobine met alcoholische kaliloog het eiwitachtig bestanddeel van de bloedkleurstof mischien voor een deel daaruit verwijderd wordt, of wellicht andere eigenschappen verkrijgt, gedenatureerd wordt.

Verschillende onderzoekers, *Preyer* ¹⁾ *Hoppe Seyler* ²⁾ *Nencki- en Sieber* ³⁾ hebben zich met de studie van het eiwitachtige bestanddeel van de bloedkleurstof bezig gehouden.

Preyer gaf den naam van „globine” aan een onoplosbare eiwitstof uit methaemoglobine verkregen, waarschijnlijk een gecoaguleerde modificatie van de globine welke *Schulz* verkreeg.

Schulz ⁴⁾ gelukte het een methode te vinden om het eiwit uit de haemoglobine los te maken zonder dit tegelijkertijd te denatureeren. Een oplossing van gekristalliseerde haemoglobine in water werd met zeer weinig sterk verdund zoutzuur behandeld. Er ontstond daardoor een neerslag dat in de geringste overmaat van zoutzuur weer oploste. In de nu bruin gekleurde oplossing zijn eiwit en haematine van elkander losgemaakt. Wanneer de zeer zwak zuur reageerende vloeistof met $\frac{1}{5}$ van haar volumen alcohol vermengd en daarna met ether uitgeschud werd, ging de kleurstof in den ether over, terwijl het eiwit in de daaronder staande vloeistof opgelost bleef. De scheiding

¹⁾ Pflüger's Archiv Bd. I. S. 414.

²⁾ Med.-Chem. Untersuchungen S. 377-378 en 545.

³⁾ Archiv. f. exper. Pathol. en Pharmak. Bd. XVIII, S 404 en Bd. XX, S 325.

⁴⁾ Zeitschr. f. Physiolog. Chem. Bd. XXIV, S. 449.

ging gemakkelijk, wanneer de oplossing althans weinig zout bevatte. Anders bleef het door het zoutzuur teweeggebrachte neerslag ook bij overmaat van zuur onopgelost. Wanneer aan zoutvrije oplossing teveel zoutzuur toegevoegd werd, ging het eiwit, na de vermenging met alcohol en ether, in een onoplosbaren vorm over.

Schulz neutraliseerde de van den bruin gekleurden ether gescheiden oplossing van het eiwit met ammoniak.

Er ontstond dan een zwak-geel gekleurd, grof vlok-kig neerslag.

Om te verhinderen dat de alcohol nu coaguleerend zou werken, filtreerde hij snel op een zuigfilter en waschte met water. Het praecipitaat loste dan, zoodra de overmaat van ammoniak weggewassen was, langzaam op.

Zoodra een merkbare hoeveelheid van het praecipitaat in het waschwater oploste, werd het praecipitaat in water, waarbij enkele droppels azijnzuur gevoegd waren, opgelost.

Het azijnzuur werd door dialyseeren verwijderd, en een neutraal reageerende, geheel heldere, zwak gekleurde oplossing verkregen.

Schulz noemde deze hier in oplossing zijnde eiwitstof „globine”.

Zij vertoonde de volgende eigenschappen: Door koken kwam geen verandering in niet al te sterk geconcentreerde oplossingen; waren de oplossingen geconcentreerd, dan werd een lichte troebelheid verkregen, welke echter na toevoeging van een weinig azijnzuur dadelijk verdween.

Door sporen van ammoniak, natriumhydroxyde en natriumcarbonaat ontstond een volumineus praecipitaat, door overmaat ontstond geen neerslag.

Had men ammoniak in overmaat toegevoegd dan deed amm. chloride het neerslag ontstaan.

Ook zoutzuur bij de globine-oplossing deed met ammoniak een neerslag ontstaan, welk praecipitaat ook niet oploste bij overmaat van ammoniak. Azijnzuur gaf geen praecipitaat.

Enkele druppels salpeterzuur gaven een groot praecipitaat. Door koken met een groote overmaat van HNO_3 loste het praecipitaat op en keerde bij afkoeling niet terug.

Had men enkele druppels HNO_3 genomen, dan loste het praecipitaat bij het koken op, maar keerde na afkoeling weder.

De werking van zoutzuur was geheel gelijk aan die van salpeterzuur.

Zwavelzuur praecipiteerde de globine eerst bij groote overmaat, het neerslag loste bij koken op, en keerde bij afkoeling niet terug. Phosphorzuur gaf geen neerslag.

Alkohol sloeg de globine uit de oplossing, wanneer zij neutraal en vrij van zout was, volkomen neer.

Ammoniumsulfaat en keukenzout praecipiteerden de globine; ammonium-chloride alleen bij alkalische reactie door ammoniak. Magnesiumsulfaat, gaf evenals amm.-chloride een neerslag, maar ook bij neutrale reactie. Door natriumphosphaat ontstond eene geringe troebelheid, door verwarming oplossend, maar bij afkoeling wederkeerend.

Azijnzuur en ferro-cyaankalium gaven een sterk praecipitaat; phosphorwolfraamzuur en phosphormolybdeenzuur bij aanwezigheid van zoutzuur eveneens.

De biureetproef gaf een duidelijke reactie. De xanthoproteïne reactie was zwak; *Millon's* en *Adamkiewicz's* eveneens.

Den door *Schulz* aangewezen weg volgend, heb ik

onderzocht of door de behandeling van de bloedkleurstof met alcoholische kaliloog, verandering in het eiwitachtig gedeelte daarvan teweeggebracht werd. Daartoe werd in de eerste plaats gekristalliseerde oxyhaemoglobine en in de tweede plaats daaruit op de boven beschreven wijze bereide kathaemoglobine opgelost in 0,1 % HCl, volgens het voorschrift van *Schulz* met alcohol vermengd, en in den scheidtrechter met ether geschud.

Vooreerst kon nu met betrekking tot oxyhaemoglobine het door *Schulz* medegedeelde in hoofdzaak volkomen bevestigd worden. In den ether loste een bruine kleurstof op, die bij het onderzoek met den spektroskoop de absorptiestrepen vertoonde van zure haematine. Na het verdampen van den ether, kon de kleurstof met behulp van ammoniak in water opgelost worden. De oplossing vertoonde dan de absorptiestreep van alkalische haematine, die na toevoeging van *Stokes'* vloeistof plaats maakte voor de beide strepen van haemochromogeen.

Uit de van den ether gescheiden oplossing in water en alcohol, kon, door neutralisatie met ammonia, de globine neergeslagen worden. Slechts in enkele opzichten, was er eenig verschil waar te nemen tusschen de door mij bereide globine en de door *Schulz* beschreven stof en wel met betrekking tot de volgende punten.

Wanneer de globine door ammonia neergeslagen, met water gewasschen, met behulp van azijnzuur in water opgelost en daarna een paar dagen tegen stroomend water gedialyseerd was, werd zij door alcohol niet neergeslagen.

Ammoniumchloride gaf, in niet te geringe hoeveelheid toegevoegd, ook bij zure reactie een praecipitaat.

Magnesiumsulfaat gaf geen neerslag bij neutrale reactie.

Natriumphosphaat in geringe hoeveelheid toegevoegd, gaf een neerslag, dat echter niet, zooals de globine van *Schulz*, bij verwarming oploste. Werd veel natriumphosphaat tegelijk toegevoegd, dan bleef de vloeistof helder; zij werd dan evenwel troebel bij kookhitte.

Afgezien van deze, zeker niet belangrijke verschillen, beantwoordde de door mij bereide globine geheel aan de beschrijving door *Schulz* van deze stof gegeven. Daarbij moet worden opgemerkt, dat ik in al mijne proeven haemoglobine uit runderbloed bereid gebruikt heb, terwijl de beschrijving van *Schulz* betrekking heeft op de bloedkleurstof van het paard en van den hond.

Wanneer nu dezelfde behandeling, met zoutzuur, alcohol en ether, in plaats van op oxyhaemoglobine, toegepast werd op de daaruit bereide stof, die door *Arnold* „neutrale haematine” genoemd werd, dan werd juist op dezelfde wijze een oplossing van haematine in ether verkregen en een oplossing van globine in verdunden alcohol. Deze globine was in geen enkel opzicht van de door splitsing van oxyhaemoglobine vrij gewordenen te onderscheiden.

Neemt men in aanmerking, dat de „neutrale haematine” door herhaald oplossen in zouthoudenden alcohol en neerslaan met water gezuiverd was, dat er dus van verontreiniging van deze stof met globine wel geen sprake kon zijn, dan is het dus duidelijk, dat de door *Arnold* beschreven stof evenzeer als haemoglobine een proteïde is en ten onrechte met den naam van haematine is bestempeld.

Uit het onderzoek van *Schulz* is gebleken, dat bij de behandeling van haemoglobine met verdund zoutzuur, haematine en globine niet de eenige splitsingsproducten zijn. Uit de analyses moest worden afge-

heid, dat er nog een of meer andere stoffen, armer aan koolstof en rijker aan stikstof, vrij moeten worden. Want haematine en globine bevatten beiden meer koolstof, dan aan de haemoglobine, waaruit zij ontstaan zijn, beantwoordt. In overeenstemming daarmee werd dan ook minder van de beide genoemde stoffen verkregen, dan met de hoeveelheid ontlede haemoglobine overeenkwam. De hoeveelheid der haematine werd bepaald door weging van de stof, die na het verdampen van den ether overbleef, en de hoeveelheid der globine door deze stof uit den verdunden alcohol neer te slaan door neutraliseeren met ammonia, onder toevoeging van chloorammonium, en het praecipitaat af te filtreeren, te drogen en te wegen. Er werd dan 9.3 % minder stof gevonden, dan verwacht moest worden uit de gebruikte hoeveelheid haemoglobine. Ook al werd nu in aanmerking genomen, dat de praecipitatie der globine waarschijnlijk met eenig verlies gepaard ging, dan kon toch niet worden aangenomen, dat dit verlies het deficit van ruim 9 % kan verklaren. Welke stoffen het zijn, die het deficit veroorzaken, kon tot dusver niet uitgemakt worden.

Geheel dezelfde uitkomsten als *Schulz* verkreeg voor de oxyhaemoglobine van het paard, vond ik in dit opzicht met betrekking tot de oxyhaemoglobine van het rund. *Schulz* vond uit 1.788 gr. oxyhaemoglobine:

haematine 0,075 gr. dus 4.2 % ,

globine 1.547 gr. dus 86.5 % ,

terwijl ik verkreeg uit: 0.594 gr. oxyhaemoglobine:

haematine 0.025 gr. dus 4.2 % ,

globine 0.517 gr. dus 87.2 % .

Bij de bepaling van *Schulz* bedroeg het deficit 9.3 % , bij mijn bepaling 8.6 % .

Het was nu de vraag, of deze verhouding veranderd werd door de behandeling van de bloedkleurstof met alcoholische kaliloog op de boven beschreven wijze.

Derhalve werd nu de hoeveelheid haematine en globine, die uit de, door herhaald oplossen in zouthoudenden alcohol en neerslaan met water, gezuiverde stof verkregen kon worden, op dezelfde wijze als bij de oxyhaemoglobine bepaald.

Drie bepalingen leverden de volgende uitkomsten:

- I. 0.545 gr. kathaemoglobine.
Haematine 0.0265 gr. dus 4.8 %
globine 0.492 gr. dus 90.2 %
Verlies: 5 %.
- II. 0.654 gr. kathaemoglobine:
Haematine 0.027 gr. dus 4.1 %
globine 0.5975 gr. dus 91.2 %
Verlies: 4.7 %.
- III. 0.684 gr. kathaemoglobine:
Haematine 0.0255 gr. dus 3.87 %
globine 600 mgr. dus 87.7 %.
Verlies 8.43 %.

De verhouding tusschen haematine en globine mogen wij dus bij oxyhaemoglobine en kathaemoglobine dezelfde noemen. Bij een eersten blik mag het schijnen alsof de voor het deficit gevonden cijfers op een verschil wijzen, maar het is duidelijk dat de onvermijdelijke fouten bij de bepaling te groot zijn, dan dat aan deze verschillen eenige waarde mag worden toegekend.

De verhouding tusschen de hoeveelheid kleurstof en de hoeveelheid eiwit was bij:

Oxyhaemoglobine, paard		20.6
rund		20.7
"		
Kathaemoglobine	I	18.6
	II	22.1
	III	23.5
		<hr/>
		64.2 gemiddeld 21.4

Wanneer daarbij nu nog in aanmerking genomen wordt, dat altijd een klein deel van de haematine niet in den ether overgaat maar met de globine gemengd blijft ¹⁾ en dat er van de globine wel altijd iets verloren gaat, dan mag, naar ik meen, uit de onbeduidende verschillen die gevonden werden niet afgeleid worden, dat bij den overgang der haemoglobine in kathaemoglobine een deel van het eiwit aan het molecule onttrokken wordt.

Gelijk boven opgemerkt werd is dit echter alleen dan het geval wanneer bij de bereiding het gehalte van den alkohol aan kaliloog niet te groot genomen wordt en de vloeistof, nadat de temperatuur op 60°C gebracht is, terstond wordt geneutraliseerd. Heeft de kaliloog gelegenheid in sterkere concentratie, bij hoogere temperatuur of gedurende langeren tijd op de bloedkleurstof te werken, dan heeft dezelfde reactie plaats als bij het koken van haemoglobine met

1) De globine wordt, gelijk ook *Schulz* meedeelt, nooit geheel kleurloos verkregen; altijd is zij eenigszins met haematine verontreinigd. In verband daarmede levert zij asch die een weinig ijzer bevat. De hoeveelheid ijzer is zoo gering dat zij geheel door de verontreiniging met haematine verklaard kan worden. Ik verkreeg:

uit 1.1285 grm. globine uit oxyhaemoglobine 0.9 mgr. Fe.: 0.08 %:

" 1.002 " " " kathaemoglobine 0.8 " " : 0.08 %:

De globine zelve mag dus inderdaad als vrij van ijzer beschouwd worden.

alkalisch water; het komt dan tot een splitsing en het vrij worden van haematine, in alkali opgelost. Dan wordt ook bij neutralisatie en verdunnen met water het vleeschkleurige, in warmen zouthoudenden alkohol oplosbare praecipitaat of niet of slechts in geringe hoeveelheid verkregen.

HOOFDSTUK III.

Uit het tot dusver medegedeelde zou het vermoeden afgeleid kunnen worden dat de door *Arnold* als „neutrale haematine” beschreven stof, misschien slechts als een modificatie van haemoglobine zou te beschouwen zijn; als een stof analoog aan methaemoglobine, niet door ontleding, maar door een verplaatsing van atoomgroepen in de molecule ontstaan.

Dit is echter niet het geval, zooals uit het verder onderzoek bleek. Een begin van afbraak van de molecule kon worden aangetoond, en daarin moge de voorgestelde benaming van kathaemoglobine haar rechtvaardiging vinden.

Door de verwarming van de bloedkleurstof met alcohol en kali wordt daaraan ijzer onttrokken.

Het is wel bekend dat de elementair-analyse der haemoglobine tot dusver niet geheel bevredigende uitkomsten heeft opgeleverd. Ik herinner slechts aan de cijfers voor het gehalte aan stikstof en aan ijzer door verschillende onderzoekers gevonden, gelijk uit het volgende staatje blijkt:

	N.	Fe.	Onderzoekers :
Oxyhaemoglobine van:			
Hond	16.17	0.43	Hoppe-Seyler.
„	15.98	0.333	Jaquet.

	N.	Fe.	Onderzoekers:
Oxyhaemoglobine van:			
Hond	16.38	0.336	Jaquet.
Rund	17.70	0.400	Hüfner.
"	—	0.336	"
Paard	17.31	0.47	Kossel.
"	17.28	0.45	Otto.
"	17.40	0.45	Bücheler.
"	17.94	0.335	Zinoffsky.
"	17.33	—	Schulz.

Deze verschillen schijnen te wijten te zijn aan de omstandigheid dat de kristallen van oxyhaemoglobine zoo moeilijk geheel zuiver te verkrijgen zijn en tevens aan de verschillende wijzen van drogen.

Intusschen is toch omtrent het gehalte aan ijzer vooral in de laatste jaren, in verschillende gevallen een zeer nauwkeurige overeenstemming verkregen:

	Fe.	Onderzoekers:
Oxyhaemoglobine van:		
Hond	0.336	Jaquet.
Paard	0.335	Zinoffsky.
Rund	0.336	Hüfner.
Hoen	0.336	Jaquet.

Ik deed een ijzerbepaling van kristallen verkregen uit het bloed van het rund, op de boven beschreven wijze, volgens *Schuurmans Stekhoven*, bereid.

De bij 110° gedroogde kristallen werden in een platinakroes verbrand.

De asch werd op het waterbad opgelost in 10 % ijzervrij zwavelzuur en nadat alles opgelost was, werd deze vloeistof in een kolfje gebracht en het ijzer met behulp van geplatineerd ijzervrij zink onder doorlei-

ding van een stroom koolzuur, op het einde onder verwarming, tot ferrosulfaat gereduceerd.

Ten slotte werd getitreerd met een kaliumperman-ganaat-oplossing, waarvan 13.6 c.c. overeenkwamen met 10.6 mgr. ijzer.

Mijne resultaten waren :

- | | | |
|-----|---|-------------------|
| I. | 2.241 gr. oxyhaemoglobine kristallen leverden | |
| | 7.3246 mgr. ijzer dus : | 0.326 % |
| II. | 1.829 gr. oxyhaem. kristallen leverden | |
| | 5.8406 mgr. ijzer, dus : | <u>0.319 %</u> |
| | | gemiddeld 0.322 % |

Van diezelfde oxyhaemoglobine kristallen werd ook kathaemoglobine bereid op de boven vermelde wijze.

Daarvan waren de resultaten :

- | | | |
|------|---------------------------------------|-------------------|
| I. | 1.018 gr. kathaemoglobine, leverden : | |
| | 2.7242 mgr. ijzer, dus : | 0.267 % |
| II. | 3.457 gr. kathaemoglobine, leverden : | |
| | 9.116 mgr. ijzer, dus : | 0.266 % |
| III. | 1.379 gr. kathaemoglobine, leverden : | |
| | 3.582 mgr, ijzer, dus : | <u>0.259 %</u> |
| | | gemiddeld 0.264 % |

Reeds vroeger bij een ijzerbepaling van kathaemoglobine uit bloed en niet uit bloedkristallen, dus waar de kathaemoglobine niet zoo zuiver verkregen werd, was gevonden : 0.242 % ijzer.

Bovendien werden eenige bepalingen gedaan, van

het gehalte aan stikstof, volgens de methode van *Kjeldahl*.

Een bij 110° gedroogde gewogen hoeveelheid stof werd in een Kjeldahl-kolfje met 10 à 15 c. c. van een mengsel van 500 c. c. sterk H₂SO₄ en 100 grm. P₂O₅ en een druppel kwik voorzichtig verhit, totdat de geheele massa wit geworden was.

De gevormde ammonia werd bij de destillatie opgevangen in 1/4 N. zwavelzuur, waaraan reeds voor het begin der destillatie methylooranje als indicator toegevoegd was.

De uitkomsten der N. analyses van de oxyhaemoglobine-kristalen waren :

0.7275 gr. oxyhaem. kristallen, leverden :	
120.9 mgr. N. dus :	16.62 %

De N. analyses van kathaemoglobine bereid uit bloed, gaven tot uitkomsten :

I. 0.204 gr. kathaemogl. leverden :	
33.07 mgr. N. dus :	16.21 %

II. 0.7995 gr. kathaemoglob. leverden :	
130 mgr. N. dus :	16.26 %

De N. analyses van kathaemoglobine, bereid uit bloedkristallen, dus zuiverder verkregen, gaven tot resultaten :

I. 0.8925 gr. kathaemoglobine leverden :	
147.7 mgr. N. dus :	16.56 %

II. 0.4845 gr. kathaemogl. leverden :	
82.9 mgr. N. dus :	17.11 %

Terwijl dus de N. analyses van kathaemoglobine

en oxyhaemoglobine vrij goed overeenstemmen, bleek het gehalte aan ijzer daarentegen aanmerkelijk te verschillen.

De onderstelling dat bij kathaemoglobine dus slechts een andere rangschikking van de atomen in de molecule had plaats gegrepen, kan niet juist zijn.

Ik heb getracht althans iets te weten te komen omtrent den aard van het ijzerhoudende bestanddeel dat aan de haemoglobine onttrokken wordt. Ofschoon ik het onderzoek heb moeten opgeven zonder veel verder gekomen te zijn, kan ik althans zooveel mededeelen dat het ijzer als een organische verbinding vrij wordt.

Ik ging hierbij op de volgende wijze te werk.

Een gewogen hoeveelheid oxyhaemoglobine-kristallen werd in water opgelost.

Deze oplossing werd op de hierboven aangegeven wijze behandeld met alkali en alcohol en tot 60° C. verhit, de oplossing werd geneutraliseerd, maar steeds werd de temperatuur op 60° C. gehouden. Deze oplossing bleef nu geheel zonder praecipitaat.

Na afkoeling en toevoeging van H₂O sloeg de kathaemoglobine neer.

Dit praecipitaat werd afgefiltreerd, het filtraat, dat een weinig gekleurd was, werd ingedampt.

De kathaemoglobine, die zich bij het indampen nu nog uit het filtraat afscheidde, werd afgefiltreerd en aan de eerst afgescheidene toegevoegd om voor de bepaling van het ijzer te dienen. Het filtraat werd verder tot droog toe verdampt en van dit residu werd eveneens een ijzerbepaling gedaan.

Wij waren uitgegaan van een gewogen hoeveelheid oxyhaemoglobine-kristallen en konden ook de verkregen hoeveelheid kathaemoglobine bepalen.

Het gehalte aan ijzer van oxyhaemoglobin en van

kathaemoglobine was bekend. De hoeveelheid gevonden ijzer in oxyhaemoglobine moest dus gelijk zijn aan de som van het ijzer van kathaemoglobine en het gevonden ijzer in het filtraat.

Wij kregen nu het volgende resultaat :

Uitgegaan van 6.1002 gr. oxyhaemoglobine
met 0.322 % ijzer, geeft dus :
19.64 mgr. ijzer.

Verkregen werd 5.7558 gr. kathaemoglobine
met 0.264 % ijzer, geeft dus :
15.19 mgr. ijzer.

Het aantal mgr. ijzer in het filtraat aanwezig bedroeg 2,34 mgr.

Dus in 't geheel werd 17,53 mgr. ijzer teruggevonden.

Dat 2.11 mgr. ijzer dus verloren gingen werd door kleine niet te vermijden verliezen bij de bereiding van kathaemoglobine voldoende verklaard.

Het filtraat was echter steeds licht gekleurd, eerst bij het indampen werd de kathaemoglobine geheel uit de oplossing afgescheiden.

Om nu de kleurstof uit het filtraat te verwijderen, zonder verwarming, verzadigde ik de oplossing met ammoniumsulfaat. Er ontstond dan geen praecipitaat of troebelheid ; alleen werd de kleurstof door den alcohol mede naar boven genomen. In den scheitrechter werd deze alcohol met de kleurstof van het kleurlooze gedeelte van het filtraat gescheiden. De in den alcohol aanwezige kleurstof bleek kathaemoglobine te zijn, daar deze stof oplostte in alcohol en zout onder verwarming. Ook in het gehalte aan ijzer stemde zij met kathaemoglobine overeen. De bruine alcoholische oplossing werd eenige dagen achtereen tegen stroomend water gedialyseerd, waardoor zoowel de alcohol als het ammoniumsulfaat verwijderd werden. De dientengevolge in den dialy-

sator neergeslagen kathaemoglobine werd op een filter verzameld, gedroogd en gewogen. Daarna werd de stof verbrand en de hoeveelheid ijzer in de asch bepaald.

0.067 gr. kathaemoglobine leverden :

0.1273 mgr. ijzer dus 0.19 %

Dat het gehalte aan ijzer hier niet nauwkeurig even groot gevonden werd als bij de boven vermelde analyses van kathaemoglobine is niet verwonderlijk. De hoeveelheid stof, hier voor de analyses beschikbaar, was zoo gering, dat kleine fouten bij het onderzoek belangrijke verschillen in de uitkomst moesten opleveren.

De door het zoutzuur uit de kathaemoglobine, naast de haematine en de globine vrijgemaakte stof bevond zich in de geheel kleurlooze, heldere vloeistof, die in den scheidtrechter van de bruine alcoholische oplossing gescheiden was. Een anorganisch ijzertzout was in deze vloeistof, ook nadat zij door indampen geconcentreerd was, op geenerlei wijze aan te toonen. Werd echter de vloeistof tot droog toe ingedampt en het residu gegloeid en met verdund zoutzuur uitgetrokken dan gaf toevoeging van rhodaankalium een sterke ijzerreactie.

Het gelukte niet deze stof verder te leeren kennen. De vloeistof waarin zij zich bevond werd, nadat eerst het grootste deel van het ammoniumsulfaat door praecipitatie met alcohol verwijderd was, met barytwater vermengd totdat er geen neerslag meer ontstond.

Het baryumsulfaat werd afgefiltreerd en de overtollige baryt met behulp van koolzuur verwijderd. Daarna werd de vloeistof, eerst op het waterbad, daarna bij kamertemperatuur in den exsiccator ingedampt.

Er scheidden zich kristallen af van ammoniumchloride, terwijl de moederloog de organische ijzerverbinding opgelost hield.

De hoeveelheid was echter zoo gering dat ik mij tot een oppervlakkig onderzoek daarvan moest bepalen.

Zooveel bleek intusschen met zekerheid dat er geen spoor was aan te toonen van een ijzertzout, terwijl met de moederloog, nadat zij gedroogd en verbrand was, toch een zeer duidelijke reactie op ijzer verkregen werd.

Deze ijzerhoudende stof is niet alleen zeer oplosbaar in water, zoodat de pogingen om haar door concentratie van de oplossing tot afscheiding te brengen, mislukten, maar zij wordt ook doorgelaten bij dialyse door perkamentpapier.

Wanneer de oplossing door middel van ammoniumsulfaat geheel van kathaemoglobine bevrijd en van de bruine alcoholische oplossing gescheiden, een paar dagen tegenover stroomend water gedialyseerd was dan kon in den inhoud van den dialysator, na tot droog toe uitdampen en verbranden, geen spoor van ijzer meer aangetoond worden.

HOOFDSTUK IV.

Arnold vond dat zijn „neutrale haematine” veel gemakkelijker uit methaemoglobine te verkrijgen was dan uit oxyhaemoglobine. Werd een oplossing van methaemoglobine met een even groot volumen alcohol vermengd, of eenige malen met chloroform geschud, of ook met ether in aanraking gebracht, dan ging de bruine kleur in een roode over; in de plaats van de methaemoglobine, bevatte de vloeistof nu de in zouthoudenden alkohol oplosbare, in water onoplosbare kleurstof.

Deze kleurstof stemt niet alleen wat haar oplosbaarheid en haar vermogen om lichtstralen op te slorpen aangaat, overeen met de stof, die uit oxyhaemoglobine door de werking van alcoholische kali-loog ontstaat, maar ook met betrekking tot het gehalte aan ijzer. Ik overtuigde mij daarvan op de volgende wijze:

Een oplossing van kristallen van oxyhaemoglobine werd met amylnitriet behandeld en deze oplossing eenige dagen gedialyseerd. Zoo was een geconcentreerde methaemoglobine-oplossing verkregen. Een gedeelte dezer oplossing werd tot droog toe verdampt, verbrand en voor een ijzerbepaling gebruikt.

Uitgaande van:

1.0735 gr. methaemoglobine, werd gevonden 3.45 mgr. ijzer, dus: 0.321 %.

Een gehalte overeenkomend dus met dat van de

door mij uit runderbloed bereide oxyhaemoglobine.

Het overige gedeelte van de methaemoglobine-oplossing werd met absoluten alkohol behandeld. De kathaemoglobine praecipiteerde. Dit praecipitaat werd afgefiltreerd en weder bij verwarming opgelost in alkohol en NaCl. en nu werd de thans heldere vloeistof met water behandeld. De kathaemoglobine sloeg dan weer neer.

In het filtraat, dat weer eenigszins gekleurd doorliep, kon ook, na behandeling met ammoniumsulfaat en scheiding van de kleurstof als boven, organisch gebonden ijzer aangetoond worden.

De ijzerbepaling van kathaemoglobine uit methaemoglobine gaf tot resultaat:

Uitgaande van:

0.545 kathaemoglobine werd gevonden: 1.45 mgr. ijzer, dus 0.266 %.

Een gehalte overeenkomend met dat van de kathaemoglobine uit oxyhaemoglobine. De afbraak van de molecule der bloedkleurstof wordt dus gemakkelijk gemaakt door die verschuiving van atoomgroepen, die bij den overgang van oxyhaemoglobine in methaemoglobine plaats vindt. Die afbraak begint met het losraken van een ijzerhoudende atoomgroep, die waarschijnlijk niet van grooten omvang is. Eerst bij heviger ingrijpen gaat de vernieling verder, wordt de kleurstof van het ijzer gescheiden en worden kleurstof en globine, ieder voor zich, verder ontleed.

Dat ijzerhoudende atoomgroepen gemakkelijk afsplinteren van de molecule der haemoglobine, is in overeenstemming met de ervaringen van talrijke onderzoekers omtrent de samenstelling der haematine. Zelfs met betrekking tot de samenstelling der gekristalliseerde haemine, loopten de uitkomsten der analyses zoozeer uiteen, dat, terwijl vroegere onderzoekers tot

het besluit kwamen, dat op 4 atomen stikstof een molecule 1 atoom ijzer bevatte, *Cloëtta* ¹⁾ en *Rosenfeld* ²⁾ 1 atoom ijzer vonden op 3 atomen Stikstof. Al naarmate de bereiding plaats vond, werd de haemine in verhouding tot het gehalte aan stikstof armer of rijker aan ijzer gevonden. De oorzaak van het verschil kan, zooals *Cloëtta* opmerkt, gelegen zijn in het losraken van een ijzerhoudend bestanddeel of ook in verontreiniging met een stof die rijk is aan stikstof.

Hij is geneigd, en *Rosenfeld* sluit zich daarbij aan, het laatste aan te nemen, maar een beslissende grond werd daarvoor niet gevonden.

Een eenigszins andere opvatting van de zaak, doet v. *Zeijnek* aan de hand, die zich aldus uitdrukt: „Aus den nicht unbeträchtlich von einander differirenden Analysen-ergebnissen mancher nach verschiedenen Methoden dargestellten Hämatine, scheint hervorzugehen dass die Zerreißung des grossen Häoglobin Molecüls unter Abspaltung des eisenhaltigen Farbcomplexes, nicht immer an der gleichen Stelle erfolgt.” ³⁾

Misschien is de zoo gegeven voorstelling wat al te eenvoudig, althans wanneer men het gezegde letterlijk opvat en aanneemt dat een molecule haemoglobine in slechts twee stukken uiteenvalt, waarbij dan de breuk in het eene geval eenigszins anders plaats vindt als in het andere. Door *Schulz* is immers aangetoond, dat bij de splitsing der bloedkleurstof niet alles in den vorm van haematine en globine teruggevonden wordt, dat er dus nog een of meer andere splitsingsproducten vrijkomen. Nu gebleken is hoe licht ijzerhoudende splinters van de molecule der haemoglo-

1) Arch. f. exp. Path. und Pharm. Bd. XXXVI, S. 349.

2) Ibid. Bd. XL, S. 137.

3) Zeitschr. f. Physiol. Chem. Bd. XXX, S. 126.

bine afvallen, hoe dit reeds geschiedt door de aanraking met alcohol of met chloroform, wanneer de kleurstof slechts vooraf in den toestand van methaemoglobine overgebracht is, zou het niet te verwonderen zijn, zoo zulk afsplinteren op groote schaal plaats vond onder de werking van agentia, die een geheele splitsing van de haemoglobine in kleurstof en eiwit teweegbrengen.

Het was te verwachten, dat de haematine, die door splitsing van de, zelve reeds niet rijk aan ijzer zijnde kathaemoglobine verkregen kon worden, minder ijzer zou bevatten dan gewoonlijk in haematine gevonden wordt. Dit vermoeden werd bevestigd, maar bovendien bleek, dat ook de uit oxyhaemoglobine door behandeling met 0.1 % HCl., alcohol en ether verkregen haematine arm was aan ijzer.

Bij de analyse van de, naar de methode van *Schulz* in ether opgelost verkregen haematine, werden de volgende uitkomsten gevonden:

Uitgaande van:

I. 16,5 mgr. haematine uit oxyhaemoglobine werd gevonden 0.7 mgr. ijzer, dus:
4,2%.

II. 109 mgr. haematine uit oxyhaemoglobine werd gevonden 4,7 mgr. ijzer, dus:
4,3%.

Uitgaande van:

I. 53,5 mgr. haematine uit kathaemoglobine, werd gevonden 1,77 mgr. ijzer dus:
3,3%.

II. 46,5 mgr. haematine uit kathaemoglobine, werd gevonden 1,71 mgr. ijzer, dus:
3,6%.

Er is dus wel eenig verschil in zoover, dat de haematine uit kathaemoglobine nog armer is aan ijzer dan de uit oxyhaemoglobine verkregene, maar ook deze laatste bevat slechts ongeveer half zooveel ijzer als gewoonlijk, bij verschillende methoden van bereiding, gevonden wordt. *Nencki* en *Sieber* ¹⁾ vonden het ijzergehalte van haematine uit runderbloed 9,35%, terwijl *Cloëtta* en *Rosenfeld* telkens in verschillende praeparaten meer dan 9,5% ijzer vonden, en *Küster* ²⁾ in haemine bereid naar de methode van *Nencki* en *Sieber* gemiddeld, 8,65%, in haemine bereid naar de methode van *Schalfjew* 9,22% vond. De onderzoekingen van den laatsten tijd ³⁾ openen het vooruitzicht, dat weldra inzicht verkregen zal worden in den bouw van de molecule der haematine. Dan zal wellicht beter dan nu zijn na te gaan door welke aanhangsels de samenstelling der haematine, bij de verschillende bereidingswijzen verkregen, gewijzigd wordt.

Dat de kleur niet in de eerste plaats van de aanwezigheid van ijzerhoudende atoomgroepen afhankelijk is, blijkt al daaruit, dat de stof een kleurstof blijft wanneer zij al het ijzer verloren heeft en in haematoporphyrine veranderd is. Maar ook de karakteristieke absorptiestrepen van de haematine zijn niet van een bepaalde hoeveelheid ijzer in de molecule afhankelijk. Want de na de splitsing door zoutzuur in ether opgeloste haematine, zoowel die uit kathaemoglobine als die welke uit oxyhaemoglobine afkomstig is, geeft de bekende absorptiestrepen juist op dezelfde wijze als zure haematine langs anderen weg bereid en veel rijker aan ijzer.

¹⁾ Arch. f. exper. Path. u. Pharm. Bd. XVIII. S. 401.

²⁾ Zeitschr. f. Physiol. Chem. Bd. XXVIII. S. 1.

³⁾ W. Küster, Zeitschr. f. Physiol. Chem. Bd. XXVIII, S. 1, Bd. XXIX. S. 185.

Nencki und *Zaleski*, *ibid.* Bd. XXX, S. 384, *Ber. D. Chem. Ges.* Jahrg. XXXIV, S. 997.

Dat in het algemeen aan het vermogen om bepaalde lichtstralen te absorbeeren geen overwegende waarde mag worden toegekend bij de beoordeeling van den aard van kleurstoffen, blijkt ook bij het onderzoek der kathaemoglobine, die in alkalische oplossing de absorptie-streep van haematine geeft en na toevoeging van Stokes' vloeistof de beide strepen van haemochromogeen vertoont, ofschoon toch de stof, gelijk boven is aangetoond, veel nader staat bij haemoglobine dan bij haematine.

Met betrekking tot de haematine leveren niet alleen de uitkomsten der elementair—analyse het bewijs dat het spektroskopisch onderzoek niet voldoende is om de stof te karakteriseeren, maar hetzelfde blijkt ook hieruit, dat niet alle haematine geschikt is voor de bereiding van haemine.

Wanneer haemine naar *Schalfejew's* methode bereid met ammonia ontleed werd, dan konden uit de zoo verkregen haematine, met behulp van ijsazijn en een weinig keukenzout volkomen karakteristieke kristallen van *Teichmann* verkregen worden; maar uit de haematine naar de methode van *Schulz* uit oxyhaemoglobine of uit kathaemoglobine bereid, heb ik noch met ijsazijn, noch met aceton en zoutzuur de vorming van haeminekristallen kunnen bewerkstelligen.

Ik meen uit mijn onderzoek het volgende te mogen afleiden.

De stof door *Arnold* beschreven onder den naam van „neutrale haematine” is een proteïde, in samenstelling nog slechts weinig van haemoglobine verschillend.

Zij onderscheidt zich van de haemoglobine vooral door een geringer gehalte aan ijzer.

Het ijzer, dat bij het ontstaan dezer kathaemoglobine van de bloedkleurstof losgemaakt wordt, bevindt zich in een in water oplosbare organische verbinding, die bij dialyse door perkamentpapier niet tegengehouden wordt.

Onder den naam van haematine moet een groep van stoffen worden verstaan, die wel een kern met elkaar gemeen hebben, maar overigens, bepaaldelijk wat het gehalte aan ijzer aangaat, onderling belangrijke verschillen vertoonen.

STELLINGEN.

I

De molecule van haemoglobine bevat meer dan 1 atoom ijzer.

II.

De albumosen uit verschillend eiwit ontstaan, worden door een ferment in 't spijsverteringskanaal weer opgebouwd tot éézelfde soort van eiwit (plasteïne) geschikt voor resorptie.

III.

Bij elektrische prikkeling van den nervus opticus is het alleen de richting van de stroom, die bepaalt of er een lichtverschijnsel wordt waargenomen.

IV.

In de papillaecircumvallatae van den mensch komen regelmatig gangliëncellen voor.

V.

Er bestaat een onderling verband tusschen laryngospasmus, tetanie, eclampsie en epilepsie.

—
VI.

De behandeling van coma diabeticum met groote giften NaHCO_3 is zeer aan te bevelen.

VII.

De bacillus pertussis Eppendorf is waarschijnlijk de oorzaak van tussis convulsiva.

VIII.

De behandeling van epilepsie met broomzouten onder beperking van de opneming van chloride n. verdient de aandacht.

IX.

In het eerste stadium van de gonorrhoea acuta zijn zoowel de eenvoudige adstringentia als de antiseptische adstringentia gecontraïndiceerd; de eenvoudige antiseptica geïndiceerd.

X.

De behandeling der breuken door alcohol-injecties verdient afkeuring.

XI.

Bij het willekeurig openen der ooglidspleet gaat de bulbus naar voren en beneden door contractie van den musc. levator palpebrae sup.; bij het sluiten wijkt het oog terug (zoowel door opheffing van de contractie

—

van den musc. levator als door contractie van den musc. orbicularis.

XII.

De urine van iedere gravida behoort geregeld onderzocht te worden.

XIII

De behandeling van vaginaal- en cervicaal-katarrhen met irrigaties van een suikeroplossing met gist is aan te bevelen.

XIV.

Het verschijnsel van agglutinatie wordt teweeggebracht door een verbinding van een agglutineerbare en een agglutineerende stof en zout.

XV.

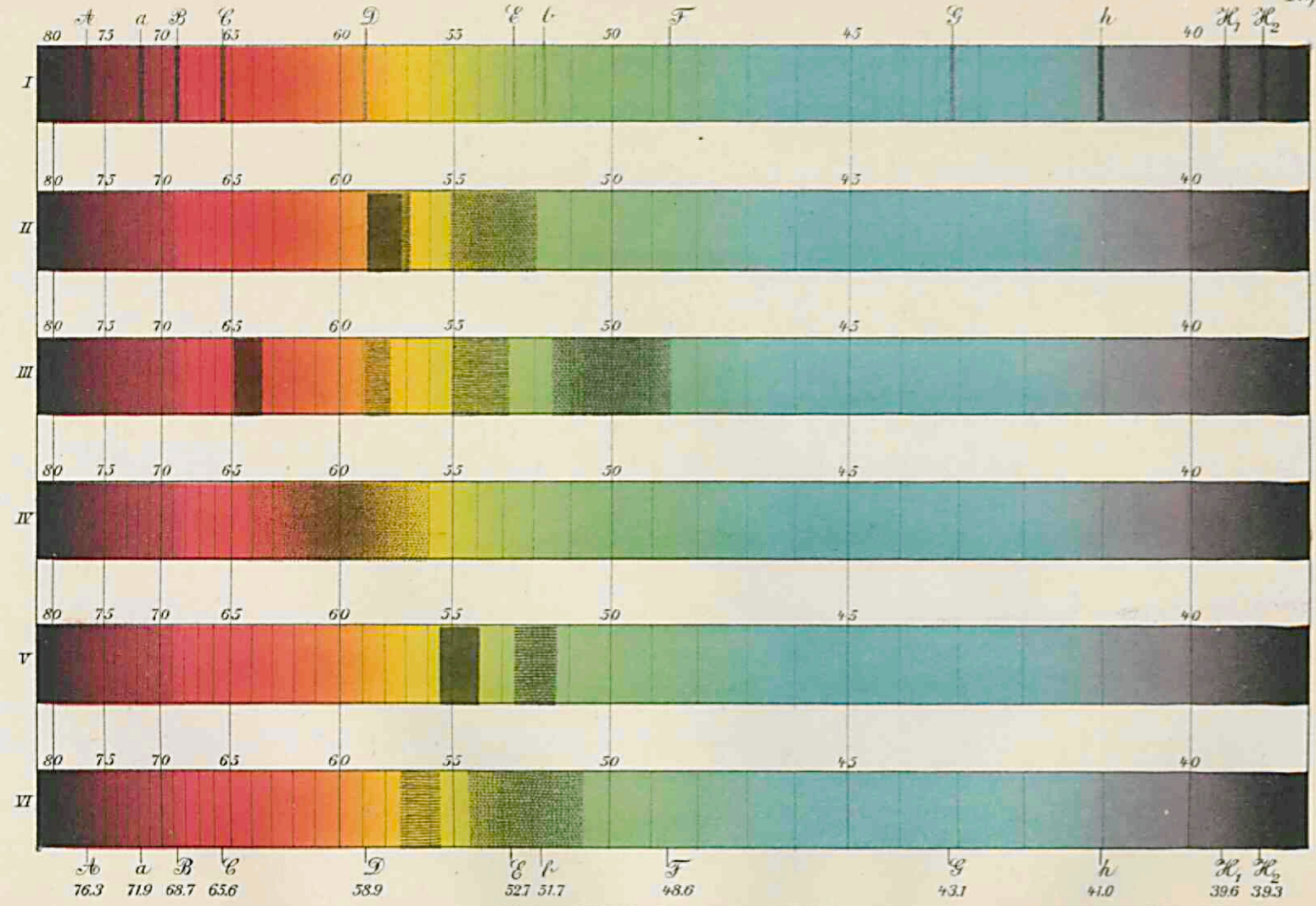
Bij schilderwerk behoort verf gebruikt te worden, die physische en chemische eigenschappen heeft, waardoor de bacteriën er niet op kunnen blijven leven.

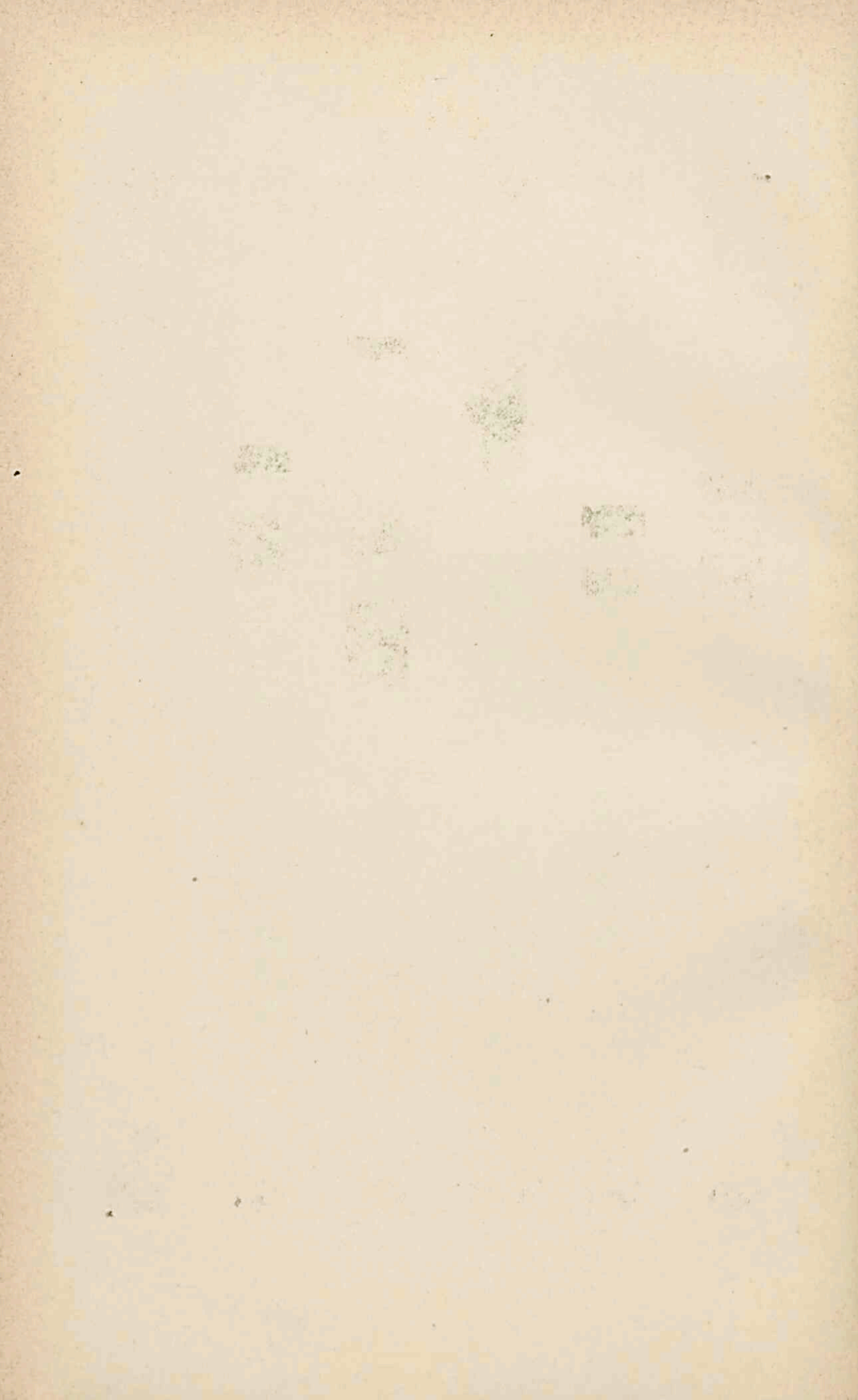
XVI.

Het zoude wenschelijk zijn, dat elke gemeente wettelijk verplicht was een goede barak voor infectieziekten steeds in gereedheid te houden.

Verklaring der plaat.

- II. Oxyhaemoglobine.
 - III. Zure haematine in ether.
 - IV. Alkalische haematine.
 - V. Haemochromogeen.
 - VI. Kathaemoglobine.
(Neutrale haematine van Arnold).
-





A.

1