

Sobre o bi-iodeto de cobre.

Ensaíos de farmacodinamica

pelo

DR. A. FONTES

(Assistente)

Ueber Kupferjodid.

Pharmakodynamische Untersuchungen

von

DR. A. FONTES

(Assistent).

Reimpresso das MEMORIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
Tomo V. - Fac. III. - 1913

Sondarabdruck aus den MEMORIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
Band. V. - Heft III. - 1913

RIO DE JANEIRO—MANGUINHOS

1913

FIOCRUZ 18

Sobre o bi-iodeto de cobre.

Ensaio de farmacodinamica

pelo

DR. A. FONTES

(Assistente).

Ueber Kupferjodid.

Pharmakodynamische Untersuchungen

von

DR. A. FONTES

(Assistent).

Reimpresso das « MEMORIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ »
Tomo V. — Fac. III. — 1913

Sondarabdruck aus den « MEMORIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ »
Band. V. — Heft III. — 1913

RIO DE JANEIRO—MANGUINHOS

1913

Sobre o bi-iodeto de cobre.

Ensaio de farmacodinamica

pelo

DR. A. FONTES

(Assistente).

Ueber Kupferjodid.

Pharmakodynamische Untersuchungen

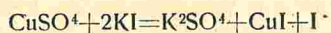
von

DR. A. FONTES

(Assistent).

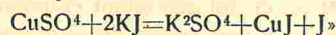
O corpo em questão (CuI^2) só pôde existir em dissolução que, sendo concentrada pela evaporação do veiculo deixa precipitar o iodeto de cobre, ficando parte do iodo em liberdade ($\text{CuI}+\text{I}$). Entretanto, em solução conveniente é relativamente estavel, conservando-se bem durante mezes. Resiste á ação dos acidos fortes.

As condições nas quais se fórma este hidrosol são por demais interessantes e foram referidas por TRAUBE na comunicação em que apresentou esse composto cuprico. Assim, misturando uma solução de sulfato de cobre a 1 % e outra de iodeto de potassio sob o mesmo título, determinar-se-á por dupla decomposição a formação de iodeto de cobre, sulfato de potassio e iodo livre:



Die chemische Verbindung CuJ^2 kann nur geloest bestehen; wird dieselbe durch Eindampfen konzentriert, so faellt Kupferjodid aus, wobei ein Teil des Jods in Freiheit gesetzt wird ($\text{CuJ}+\text{J}$). Doch besitzt sie in geeigneter Loesung eine relative Stabilitaet und haelt sich selbst Monate lang ganz gut. Gegen die Einwirkung starker Saeuren ist sie resistent.

Die Verhaeltnisse, unter denen dieses Hydrosol zu Stande kommt, sind aeusserst interessant. In seiner Mitteilung darueber aeussert sich TRAUBE bei Vorzeigung der Verbindung, wie folgt: «Mischt man eine 1-prozentige Loesung von Kupfersulfat mit einer 1-prozentigen Loesung von Jodkalium, so bewirkt man durch eine doppelte Zersetzung die Bildung von Kupferjodid, Kaliumjodid und freiem Jod:



Pensa OSTWALD que se pode representar o fenomeno como se o ion cuprico perdesse uma carga positiva e neutralizasse deste modo a carga negativa do ion iodo; o ion cuproso assim produzido forma logo com um outro ion iodo o iodeto cuproso que se deposita.

O ion cuproso (Cu^+) é, pois, monovalente e como tal funciona nessa reação.

Se, porém, se empregam os dois sais, CuSO_4 e KI (ou NaI) em diluições adequadas, poderá funcionar o ion cuprico como divalente (Cu^{++}) e então combinar-se-á pela sua segunda valencia com o ion iodo livre, correspondendo á ligação CuI_2 . É o que se consegue pela adição de H_2O , em quantidade suficiente para que o iodo livre desapareça na solução, o que se reconhece pelo amido solúvel. A formação do bi-iodeto de cobre poderá ser explicada pela dissolução do iodeto cuproso (CuI), formando combinação com o acido iodídrico, representavel pelo acido cupro-iodídrico $\text{Cu}(2\text{HI})$, semelhantemente ao que succede com o cloreto cuproso (CuCl) em solução no HCl , ou pela iodação direta do sal cuproso que se consegue pela agua iodada, a quente (cerca de 80°C) junto á ação de grande excesso de iodeto cuproso. Este deve ser junto á solução aquosa do iodo até que ela se descobre. Pela adição de agua suficiente, consegue-se fazer desaparecer o iodo livre restante e certa quantidade do iodeto cuproso se transforma em bi-iodeto que permanece em solução. A reação assim se dá em virtude do aumento de carga eletrolítica produzida pelo excesso do ion cuproso o que origina a formação do ion cuprico, de carga eletrolítica mais energica. As soluções que usámos eram preparadas pela iodação direta do CuI , pelo iodo metalico. Juntava-se depois tanta agua destilada quanta fosse necessaria para desaparecimento do I livre, o que era reconhecido pela ausencia de reação com a solução de amido.

Dosagem da solução.

100 cc. de solução foram evaporados em B.M. e o residuo depois de seco entre 100°

OSTWALD meint: «On peut se représenter le phénomène comme si l'ion cuivrique perdait une charge positive et neutralisait ainsi la charge négative de l'ion iode; l'ion cuivreux ainsi produit forme aussitôt, avec un autre ion iode, de l'iodure cuivreux qui se dépose». (OSTWALD, *Éléments de Chimie inorganique*, traduit par LAZARD, II, S. 258).

Das Cuproion (Cu^+) ist also einwertig und zwar auch bei dieser Reaktion.

Kommen aber beide Salze, CuSO_4 und KJ (oder NaJ) in entsprechenden Verdünnungen zur Anwendung, so kann das Cuproion als zweiwertig (Cu^{++}) funktionieren und mit dieser 2ten Valenz das freie Jodion binden, entsprechend der Formel CuJ_2 . Durch einen genuegenden Zusatz von H_2O gelingt es, das freie Jod in der Loesung zum Verschwinden zu bringen, was durch Staerkekleister nachgewiesen wird. Die Entstehung des Kupferjodids kann entweder als Loesung des Kupferjoduers (CuJ) gedacht werden, welches mit Jodwasserstoffsaeure eine Verbindung eingeht, die man als Kupferjodwasserstoffsaeure $\text{Cu}(2\text{HJ})$ auffassen kann, entsprechend dem, was beim Kupferchloruer (CuCl) in HCl -Loesung stattfindet, oder als direkte Jodierung des Kupfersalzes, erhalten durch den Kontakt ungefaehr 80°C warmen Jodwassers bei grossem Ueberschuss an Kupferjoduer. Dieses soll solange der waessrigen Jodloesung zugesetzt werden, bis sie ganz farblos wird. Durch genuegenden Wasserzusatze bringt man den Rest von freiem Jod zum Verschwinden, waehrend ein Teil des Kupferjoduers sich in Kupferjodid umsetzt und in Loesung bleibt. Diese Reaktion kommt zustande, weil durch den Ueberschuss an Cuproionen eine Erhoehung der elektrolytischen Ladung bewirkt wird, welche ihrerseits die Entstehung der elektrolytisch energischeren Cuproionen veranlasst.

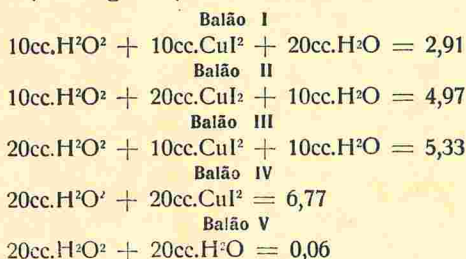
Die von uns angewandten Loesungen wurden durch direkte Jodierung des CuJ mittelst metallischen Jodes erhalten. Dann wurde die zum Verschwinden des freien Jods noetige Menge von Aqu. dest. zugesetzt, was

e 150° C. foi pesado sob a forma de CuI. Foi ele igual a 0,0475 gr. Calculado o sal cuprico correspondente obteve-se como resultado 0,0792 gr de CuI² que se aproxima sensivelmente do resultado obtido por TRAUBE (1884.) que foi igual a 0,0789 gr.

Reações gerais.

O CuI² resiste aos ácidos fortes, precipita pela ação das bases. A água oxigenada, quando juntada a ele em doses que variam de 0,3 a 1 cc. de solução a 1/10%, o que equivale ao volume de 0,00003 a 0,00001 de H²O₂, o decompõe, pondo o I em liberdade. A ação do bi-iodeto de cobre sobre a água oxigenada neutra á 1 % (*Perhydrol*) resulta da seguinte serie :

Posto em contato durante 2 horas á 36°,5 centigrados, e na ausencia de luz.



A luz o decompõe lentamente. O oxigênio do ar atmosférico não o decompõe, ainda mesmo sujeitando a solução em questão a uma corrente de ar que por ele borbulhe por, 24 horas.

Ação da solução cuprica sobre a hematia

Se se faz um preparado de sangue fresco entre lamina e laminula e se, por capillaridade se põe em contato com ele, a solução em questão, verifica-se que as hemátias se descoram rapidamente á proporção que a solução vai entrando em contato com elas; os estromas globulares que quasi não se alteram em sua forma, continuando discoides, se apresentam transparentes, sendo só reconhecidos pela sua refrinencia. A hemoglobina desaparece.

A solução de CuI² (0,094%) será isotônica com o sangue humano?

Fizemos para verificar isso as seguintes experiencias :

am Fehlen der Staerkereaktion erkannt wurde.

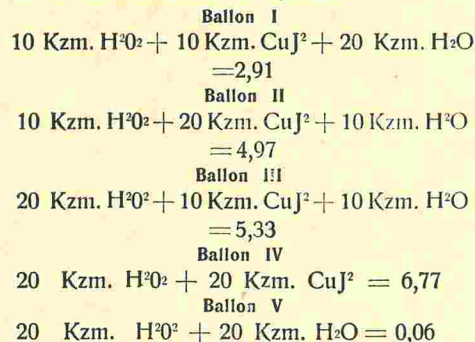
Quantitative Analyse der Loesung.

100 ccm. Loesung wurden im Wasserbade eingedampft, der Rueckstand bei einer Temperatur von 100°–150° C. getrocknet und als CuJ gewogen. Das Gewicht betrug 0,0475 gr. Bei der Berechnung des respektiven Cuprisalzes bekam ich als Resultat 0,0792 gr. CuJ², welches dem Resultate TRAUBE'S (0,0789 gr.) sehr nahe kommt.

Allgemeine Reaktionen des CuJ².

CuJ² wird von starker Saeure nicht angegriffen, dagegen durch Basen gefaellt. Zusatz von Wasserstoffsperoxyd, in Mengen von 0,3–1 ccm. einer 0,1% Loesung (einem Volumen von 0,00003–0,00001 H²O₂ entsprechend), zersetzt es, wobei Jod in Freiheit gesetzt wird. Die Wirkung des Kupferjodides auf neutrales H²O₂ zu 1% (*Perhydrol*) ist aus nachfolgender Versuchsreihe zu erkennen.

Bei Lichtabschluss und 36,5° bleiben waehrend 2 Stunden in Kontakt :



Bei Belichtung tritt eine allmaechliche Zersetzung ein. Der atmosphaerische Sauerstoff ist ohne Einfluss, selbst wenn man 24 Stunden lang einen Luftstrom durch die Loesung treibt.

Wirkung der Kupferloesung auf die roten Blutkoerperchen.

Bringt man einen Tropfen frischen Blutes zwischen Objekttraeger und Deckglaeschen durch Kapillaritaet mit obiger Loesung in Beruehrung, so bemerkt man, wie sich die Blutkoerperchen rasch entfaerben, sobald sie mit der Loesung in Beruehrung kommen; das in seiner Form fast unveraenderte Stroma bleibt rund, wird aber durchsichtig und nur durch seine Lichtbrechung erkennbar; das Haemoglobin verschwindet.

Zur Beantwortung der Frage, ob die Kupferjodidloesung (0,094 %) fuer Menschenblut isotonisch ist, haben wir folgende Untersuchungen angestellt :

Experiencia	Sangue humano	Soro do mesmo sangue	CuI ² (0,94‰)	Resultado	Relação entre o líquido fisiológico e a solução de CuI ²	Observações
1.	1 gota		1 gota	0	1 : 1	<p>As gotas eram medidas por pipetas gêmeas. As gotas eram examinadas ao microscópio entre lâmina e lâminula. Empregava-se como veículo diluidor o soro do sangue e não o sangue em natureza para que as hemátias, por uma diminuição relativa de seu número pudessem ser mais facilmente observadas.</p> <p>"O" significa não ter havido alterações nas hemátias</p> <p>-- = dissolução completa.</p>
2.	1 gota		2 gotas	--	1 : 2	
3.	1 gota	1 gota	1 gota	0	2 : 1	
4.	1 gota	3 gotas	2 gotas	pequeno descoloramento das hemátias que conservam contudo sua forma	2 : 1	

Ver-such	Menschen-blut	Serum desselben Blutes	CuI ² (0,94‰)	Resultat	Verhaeltnis der Kochsalzloesung zur CuI ² -Loesung	Bemerkungen
1.	1 Tropfen		1 Tropfen	0	1 : 1	<p>Die Tropfen wurden durch genau entsprechende Pipetten gemessen und mikroskopisch untersucht.</p> <p>Als Verdünnungsflüssigkeit wurde statt Blut nur Serum benutzt, damit die Blutkörperchen in Folge relativer Verminderung ihrer Zahl leichter beobachtet werden konnten.</p> <p>"O" bedeutet, dass keine Veränderung an den Erythrozyten zu sehen waren.</p> <p>-- = Komplette Auflösung.</p>
2.	1 Tropfen		2 Tropfen	--	1 : 2	
3.	1 Tropfen	1 Tropfen	1 Tropfen	0	2 : 1	
4.	1 Tropfen	3 Tropfen	2 Tropfen	Geringe Entfärbung der morphologisch unveränderten Blutkörperchen.	2 : 1	

A solução em questão não altera a forma das hemátias, quando empregada em partes iguais ao sangue (1ª experiência.) Quando empregada no dobro do volume do sangue, ela se mostrou hemolítica (2ª experiência). A ação hemolítica não dependia aí da quantidade absoluta do sal como poderia decorrer da experiência 2 e sim da quantidade do veiculo, como se vê pelas experiências 3 e 4 que guardam a mesma relação de 2:1. O composto em questão não se mostrava veneno para a hematia *considerada morfolojicamente*, pois que em determinada concentração ele não altera sua forma.

A contraprova foi tirada do seguinte modo: se a uma solução de CuI^2 se juntava 0,8% de NaCl tornava-se essa solução isotônica. Verifica-se então que não se dá mais a precipitação da hemoglobina. Os globulos vermelhos se reúnem no fundo do frasco, conservando sua forma. Ajetando-se a emulsão de globulos e levando-se-a ao espectroscopio as faixas de oxihemoglobina não sofrem alteração. Decorre pois que a ação do sal sobre a hemoglobina só se exerce após a dissolução desta á custa da agua destilada que serve de veiculo ao sal cuprico. Isso ainda nos foi demonstrado pela experiência que instituímos com hemátias de carneiro lavadas. As hemátias eram destruidas e a hemoglobina precipitada quando se juntavam globulos lavados na proporção de 5% á solução de CuI^2 . Se se fazia a mistura de emulsão de tais globulos, sob o mesmo titulo, em agua fisiológica, com a solução de CuI^2 a redução de hemoglobina era mais ou menos fraca de acordo com a quantidade de agua fisiológica que se juntava á solução de CuI^2 .

Não se dava hemolise quando se tornava isotônica a solução de CuI^2 pela adição de NaCl .

As hemátias se reuniam no fundo do frasco, por fenomeno analogo á aglutinação. *Transvasado o liquido e substituido por agua destilada dava-se a hemolise, sendo a hemoglobina muito lentamente reduzida pelos ultimos vestijios de bi-iodeto que havia ficado aderente ao tubo, o que nos mostrou mais uma vez que a ação do CuI^2 sobre a hemoglobina só se dava após sua saída da hematia.*

Em traços gerais essas conclusões se deduzem ainda da seguinte tabela, organizada

Man konnte demnach die betreffende Loesung als dem untersuchten Blute isotonisch betrachten, wenn sie mit demselben zu gleichen Teilen gemischt wurde (1ste Untersuchung).

Wurde eine doppelte Menge benutzt, so wirkte sie haemolytisch (2te Untersuchung). Doch haengt in diesem Falle die haemolytische Wirkung nicht vom absoluten Salzquantum ab, wie es aus der Untersuchung 2. hervorzugehen scheint, sondern von der Flussigkeitsmenge; dies geht aus Untersuchung 3 und 4 (welche dasselbe Verhaeltnis 2 : 1 zeigen) hervor. Diese Verbindung hat also keine toxische Wirkung auf die Morphologie der Erythrozyten, denn in einen bestimmten Konzentrationsgrade veraendert sie deren Form keineswegs. Als Gegenprobe wurde eine CuI^2 -Loesung durch Zutat von 0,8% NaCl isotonisch gemacht; Praecipitation des Haemoglobins wurde dann nicht mehr beobachtet; die Blutkoerperchen senkten sich zu Boden, behielten aber ihre Form bei. Schuetzelt man eine Blutkoerperchenemulsion und untersucht sie spektroskopisch, so aendern sich die Baender des Oxyhaemoglobins nicht. Es folgt daraus, dass das Salz nur dann seine Wirkung auf das Haemoglobin entfaltet, wenn sich dieses in dem destillierten Wasser aufgeloeset hat, welches dem Kupfersalz als Vehikel dient. Diese Tatsache wurde noch durch einen anderen Versuch bewiesen, welcher mit gewaschenen Hammelblutkoerperchen vorgenommen wurde. Die Erythrozyten wurden naemlich zerstoert und das Haemoglobin gefaellt, wenn man der CuI^2 -Loesung 5 % gewaschener Blutkoerperchen zusetzte. Bei Mischung einer in Kochsalzloesung gemachten gleichwertigen Blutkoerperchenemulsion mit CuI^2 -Loesung trat eine mehr oder minder starke Reduktion des Haemoglobins ein, je nach der Menge der zugesetzten Kochsalzloesung. *Es fand keine Haemolyse statt, wenn die CuI^2 -Loesung durch Zutat von NaCl isotonisch gemacht wurde.* Die Erythrozyten sammelten sich am Boden des Roehrchens an, aehnlich wie bei der Agglutination. Wurde die Flussigkeit abgegossen und durch Aqua dest. ersetzt, so stellte sich Haemolyse ein: hierbei wurde das Haemoglobin ganz allmaehlich reduziert und zwar durch die letzten Reste des an den Waenden zurueckbleibenden Kupferjoduers; das ist ein weiterer Beweis da fuer, dass das Kupferjodid nur dann eine Wirkung auf das Haemoglobin ausueben kann, wenn dieses aus den Erythrozyten ausgetreten ist.

Im grossen und ganzen folgen dieselben Schluesse aus nachfolgender Tabelle, auf

com diferentes grãos de concentração não só da solução de CuI^2 como da de água fisiológica preparada com NaCl .

Grãos de concentração de solução de CuI^2 :

Sol. A = CuI^2 a 0,13413 o/o. Esta solução foi preparada por iodação direta do CuI e dosada pelo residuo de evaporação de 100 cc.

$$\text{Sol. B} = \frac{\text{A}}{2}$$

$$\text{C} = \frac{\text{B}}{2}$$

$$\text{D} = \frac{\text{C}}{2}$$

Solução de CuI^2 (1 cc.)	Veículo isotonsante $\text{H}_2\text{O} + \text{NaCl}$ 1 cc.	Índice de hemolise. (Hemafias de carneiro lavadas e emulsionadas em água fisiológica 1:20.) 0,5 cc.	Resultados
1 cc. de D	1 cc. de H_2O	0,5 da emulsão de hemafias	hemolise
1 cc. de C	1 cc. de solução fis. a 0,5 o/o	« « « « «	hemolise
1 cc. de B	1 cc. de solução fis. a 0,75 o/o	« « « « «	hemolise
1 cc. de A	1 cc. de solução fis. a 0,85 o/o	« « « « «	hemolise e pequena redução de hemoglobina.
1 cc. de A	1 cc. de solução fis. a 0,95 o/o	« « « « «	hemolise e redução mais forte de hemoglobina.
1 cc. de A	1 cc. de solução fis. a 1,80 o/o	« « « « «	não houve hemolise nem redução imediata, verificadas após centrifugação.

welcher verschiedene Konzentrationen von CuJ^2 -Loesung und von physiologischer Kochsalzloesung verzeichnet sind.

Titer der CuJ^2 -Loesung:

Loesung A = 0,13413 o/o CuJ^2 -Loesung, welche durch direkte Jodierung des CuJ erhalten und deren Titer aus dem Ruckstande von 100 ccm. berechnet wurde.

$$\text{Loesung B} = \frac{\text{A}}{2};$$

$$\text{Loesung C} = \frac{\text{B}}{2};$$

$$\text{Loesung D} = \frac{\text{C}}{2}.$$

CuJ^2 -Loesung 1 cc.	Isotonisches Vehikel $\text{H}_2\text{O} + \text{NaCl}$ 1 cc.	Index d. Haemolyse (Gewaschene u. in Kochsalzloesung 1:20 emulsierte Hammelblutkoerperchen 0,5 cc.)	Resultate
D	H_2O	Blutk.-Emulsion	Haemolyse.
C	0,5 o/o Kochsalzloesung	« « « « «	«
B	0,75 o/o	« « « « «	«
A	0,85 o/o	« « « « «	Haemolyse und geringe Haemoglobinreduktion.
A.	0,95 o/o	« « « « «	Haemolyse und staerkere Reduktion des Haemoglobins.
A.	1,80 o/o	« « « « «	Weder Haemolyse, noch unmittelbare Reaktion des Haemoglobins, nach dem Zentrifugieren beobachtet.

Por essa tabela vemos que se torna necessario elevar a dose de NaCl a 1,80 %, isto é, a cerca do dobro da quantidade empregada na solução fisiologica normal, entre nós usada, afim de que misturada a igual volume de solução A pudesse constituir um estado de equilibrio, entre a concentração salina e a hematia.

Vemos por outro lado que, a despeito da elevação sempre ao dobro da quantidade de CuI^2 o grão de hemolise não acompanhava essa concentração.

Outrotanto não sucedia com a redução de hemoglobina que era dependente, na sua intensidade, do grão da concentração de CuI^2 .

Verificou-se tardiamente que no tubo onde não houvera hemolise a hemoglobina se reduzira, ao cabo de 3 horas de contato, o que pode ser atribuido á dissociação electrolitica do NaCl. Em realidade, uma solução de CuI^2 isotonisada por NaCl ao cabo de algum tempo deixa depositar CuI e nessas condições os ions I e Cl poderão agir, independentemente ou combinados ao ion H, sobre a hematia.

Ação do CuI^2 sobre a hemoglobina.

Se se trata uma solução concentrada de oxiemoglobina pelo CuI^2 em solução diluida obtem-se precipitação incompleta do pigmento hematico.

Separando-se por centrifugação a parte liquida do deposito, aquela revela ao exame espectral o espectro de *metemoglobina*.

O deposito dissolvido em agua alcalinizada pela soda apresenta o espectro de *hematina alcalina*, que pela adição do sulfureto de amonio, reduzir-se-á ao estado de *hemocromojeno*.

Pela ação de corrente de ar obter-se-á o espectro da *hemoglobina reduzida*, depois o da *metemoglobina*.

Por oxidação convenientemente feita pelo H_2O_2 (não empregar em excesso) obter-se-á, finalmente, o espectro da oxiemoglobina. E' o que resulta da seguinte tabela:

Aus der vorstehenden Tabelle geht also hervor, dass das Chlornatrium auf 1,8 % (also fast das Doppelte des Prozentsatzes) erhöht werden muss, damit bei einer Mischung mit dem gleichen Volumen der Lösung A ein Gleichgewichtsverhältnis der Salzlösung und der Erythrozyten zustande kommt.

Andererseits ersieht man, dass, trotz der stetig verdoppelten Menge von CuJ^2 , die Intensität der Haemolyse mit der Konzentration nicht gleichen Schritt hielt. Anders verhielt es sich mit der Haemoglobinreduktion, deren Intensität vom Konzentrationsgrade der CuJ^2 -Lösung abhing. Erst später ergab sich, dass das Haemoglobin des Röhchens, in welchen keine Haemolyse stattgefunden hatte, reduziert worden war (nach 3-stündigen Kontakte), wahrscheinlich in Folge einer elektrolytischen Dissoziation des Chlornatriums. In Wirklichkeit lässt eine durch Chlornatrium isotonisch gemachte Kupferjodidlösung nach einiger Zeit CuJ ausfallen, sodass die Jod- und Chlorionen unabhängig oder in Verbindung mit dem Wasserstoffion auf die Erythrozyten wirken können.

Einwirkung des Kupferjodids auf Haemoglobin.

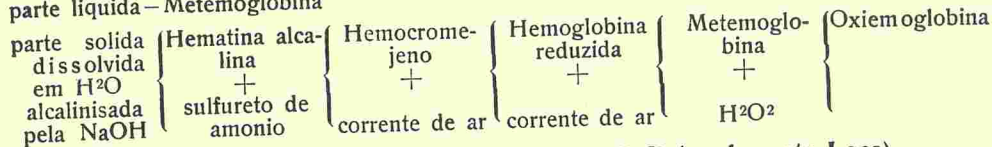
Behandelt man eine konzentrierte Oxyhaemoglobinlösung mit verdünnter CuJ^2 -Lösung, so erhält man eine unvollständige Präzipitierung des Pigmentes der Blutkörperchen. Bei spektroskopischer Untersuchung der abzentrifugierten Flüssigkeit zeigen sich die Absorptionsbänder des *Methaemoglobins*. Eine, durch Natronlauge alkalisch gemachte, wässrige Lösung des Rückstandes zeigt im Spektroskop die Bänder des *alkalischen Haematins*, welches durch Zusatz von Ammoniumsulfat auf *Haemochromogen* reduziert wird. Beim Durchleiten von Luft zeigt das Spektroskop zuerst *reduziertes Haemoglobin*, dann *Methaemoglobin*.

Durch zweckentsprechende Oxydation mittelst H_2O_2 (nicht zuviel!) erhält man schliesslich das *Oxyhaemoglobinspektrum*. Das ergibt sich auch aus nachfolgender Tabelle:

Oxiemoglobina (solução concentrada) + CuI² (solução diluída).

Precipitação incompleta
Centrifugação e exame ao espectroscópico.

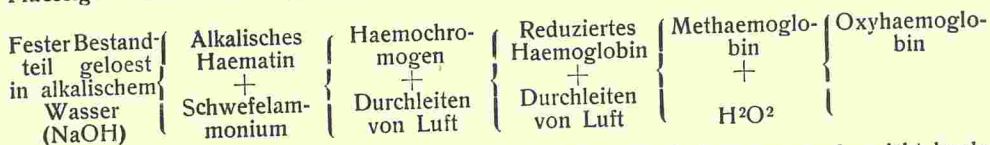
parte líquida — Metemoglobina



Oxyhaemoglobin (konzentrierte Loes.) + CuJ² (verduennte Loes).

Inkomplette Praecipitierung.
Zentrifugierung und spectroscopische Bestimmung.

Fluessiger Teil: Methaemoglobinspectrum



Esses fenomenos não são apreciáveis quando se injeta a solução na veia do coelho pois, que o sangue examinado ao espectroscópico mostra as faixas de absorção da oxiemoglobina sem alteração alguma.

Ação sobre os leucocitos.

Sobre os leucocitos exerce o sal ação fixadora. Se se faz um preparado de sangue espalhado em lamina e se se deixa atuar a solução de CuI², as hematias se dissolvem e os leucocitos fixados se deixam corar pelos corantes de anilina (tionina fenicada).

Sobre os albuminoides do soro do sangue exerce o CuI² ação precipitante.

Quanto aos fermentos do sangue, foi investigada a ação do bi-iodeto de cobre sobre o fibrin-fermento e sobre a catalase.

Se a solução é misturada em partes iguais com o sangue em natureza, *este não coagula imediatamente*. Entretanto, se se deixa gotear sangue em um tubo que contenha a solução de CuI² a coagulação se dá instantaneamente e se acompanha de precipitação de hemoglobina.

Se se junta 1 parte de sangue, 1 parte de soro do proprio sangue e 2 partes de solução cuprica, as hematias se mostram conservadas e o coagulo se forma em condições normais: *o fermento da fibrina não é, pois, destruido*.

Reconhece-se *tambem que a catalase não é destruida*, mesmo após precipitação da hemoglobina e coagulação do sangue, porque, se se adiciona à mistura algumas gotas de H²O² esse corpo se decompõe, pondo em liberdade o iodo que azulece o amilo.

Diese Erscheinungen werden nicht beobachtet, wenn die Loesung einem Kaninchen intravenoes injiziert wird; das Blut zeigt spektroskopisch die Absorptionsstreifen des Oxyhaemoglobins, ohne irgend welche Ver-aenderung.

Wirkung auf die Leukozyten.

Auf die weissen Blutkoerperchen wirkt das Kupferjodid fixierend. Wird ein Blutstropfen auf einem Objekttraeger ausgestrichen und mit CuJ²-Loesung uebergossen, so werden die roten Blutkoerperchen zerstoert, die weissen aber fixiert, sodass sie sich durch Anilinfarbstoffe (Karbolthionin) faerben lassen.

Die Albuminoide des Blutserums werden durch CuJ² gefaellt.

Hinsichtlich der Bluttermente beschaernten sich die Untersuchungen auf den Einfluss des CuJ² auf Fibrinferment und Katalase. Werden gleiche Mengen frischen Blutes und Loesung mit einander vermengt, *so tritt nicht sofort Gerinnung des Blutes ein*. Dagegen kann man das Blut sofort, unter Austallen des Haemoglobins, zur Gerinnung bringen, wenn man es tropfenweise in ein Roehrchen mit Kupferjodidloesung fallen laesst. Mischt man 1 Teil Blut, 1 Teil Serum desselben Blutes und zwei Teile der Kupferloesung, so behalten die Erythrozyten die urspruengliche Gestalt und die Gerinnung kommt, wie gewoehnlich, zustande: *das Fibrinferment wird somit nicht zerstoert. Auch die Katalase wird nicht zerstoert* und zwar weder nach Faellung des Haemoglobins, noch nach Gerinnung des Blutes, denn bei Zusatz einiger Tropfen

Sobre esse fermento a ação do CuI^2 pode ser melhor estudada pelas seguintes series, onde foi investigada por dosagem rigorosa a quantidade em peso, do oxigenio do peridrol que era decomposto pela ação catalitica do sangue.

Em 4 balões de ERLÉNMEYER, contendo cada um 10 cc. de sangue ao 1/1000, em agua fisiologica esterilizada (a 8,5 : 1000) ajuntaram-se: a dois balões 10 cc. de solução de CuI^2 , aos outros dois 10 cc. de agua distilada esterilizada.

A cada balão foram adicionados, posteriormente, 20 cc. de solução de peridrol a 1 %.

Titulo da solução de peridrol empregada: 20 cc. = 80,8 de KMnO^4 a 3.7195 : 1000.

Resultado da titulação:

Sangue a 1/1000	Peridrol a 1 %	CuI^2	H_2O	Resultado
<i>1ª Serie</i>				
Balão I 10 cc.	20 cc.	10 cc.		12,36
" II 10 cc.	20 cc.	10 cc.		12,44
" III 10 cc.	20 cc.		10 cc.	14,60
" IV 10 cc.	20 cc.		10 cc.	14,40
<i>2ª Serie</i>				
Balão I b 10 cc.	20 cc.	10 cc.		14,62
" II b 10 cc.	20 cc.		10 cc.	15,10
" III b	20 cc.		20 cc.	0,16
" IV b	20 cc.	10 cc.	10 cc.	3,30

H_2O^2 zersetzt sich dasselbe unter Freiwerden von Jod und Blaeuung der Staerke.

Die Einwirkung von CuJ^2 auf diases Ferment, ist am Besten aus nachfolgenden Serien zu ersehen, wo durch genaue Dosierung das Gewicht des Sauerstoffs bestimmt wurde, welcher aus dem durch die katalytische Wirkung des Blutes zersetzten Perhydrol frei wurde.

Zwei ERLÉNMEYER' schen Ballons mit je 10 Kzm. einer Blutloesung von 1/1000 in sterilisierter physiologischer Kochsalzloesung von 0,85 % erhielten einen Zusatz von 10 Kzm. CuJ^2 , waehrend zwei anderen gleichen Inhaltes 10 Kzm- Aq. dest. zugesetzt wurden. Hierauf wurde den vier Ballons je 20 Kzm. einer Perhydrolloesung von 1% zugefuegt.

Titer der verwandten Perhydrolloesung: 20 Kzm. = 80,8 KMnO^4 zu 3,7195 Promille. Resultat der Titrierung:

Blutloesung 1/1000	Perhydrol 1 %	CuJ^2	H_2O	Resultat
<i>Serie I</i>				
Ballon I 10 Kzm.	20 Kzm.	10 Kzm.		12,36
" II 10 "	20 "	10 "		12,44
" III 10 "	20 "		10 Kzm	14,60
" IV 10 "	20 "		10 "	14,40
<i>Serie II</i>				
Ballon I b 10 "	20 "	10 "		14,62
" II b 10 "	20 "		10 "	15,10
" III b 10 "	20 "		20 "	0,16
" IV b 10 "	20 "	10 "	10 "	3,30

Dessas experiencias se conclue que o CuJ^2 decompõe o peridrol, que a catalase do sangue não é destruida por esse composto cuprico, que ele tem um pequeno poder impediante sobre a ação catalitica do sangue, pois que se assim não fosse, as ações dele e da catalase sobre o peridrol deveriam ser somadas.

Ação da solução de CuJ^2 sobre os animais.

O corpo químico em questão era perfeitamente tolerado por cobaias, coelhos, ratos e cães, quando injetado por via venosa ou cardíaca. As cobaias de cerca de 300 grs. de peso suportavam perfeitamente a injeção de 5 cc. da solução em questão por via intracardiaca. Coelhos de 1 quilo suportavam 10 a 20 cc. por injeção na veia marginal da orelha sem apresentarem indisposição grave. Outrotanto succedia aos cães. Ratos de cerca de 20-30 grs. suportavam bem injeções repetidas de 2 cc., sob a pele, sem indisposição imediata.

No entanto, a via hipodermica mostrou-se sempre impropria por determinar a solução em questão uma zona de necrose, mais ou menos extensa, que chegava á formação de ulcera, de cicatrização bastante lenta. Isso sómente não se deu no cão.

A solução não era tolerada por via peritoneal; nos casos experimentados os animais morreram sempre no decurso das primeiras 24 horas que se seguiam á injeção.

Em virtude de razões teoricas referentes á bio-química dos tecidos tuberculizados (UNNA JNR. & GOLODETZ, WEISS) e dos resultados experimentais obtidos pela escola de FINKLER (Prof. Graefin VON LINDEN) e dos resultados clinicos apresentados por MEISSNER e STRAUSS fui levado a pensar que a associação do iodo ao cobre poderia ser de grande vantajem no tratamento da tuberculose e das infeções micoticas.

Na verdade as condições impostas:

- a) facil solubilidade,
- b) rigorosa dosagem,
- c) pequena toxidez,

Aus diesen Versuchen folgt, dass das CuJ^2 das Perhydrol zersetzt; dass die Katalase durch diese Kupferverbindung nicht zersetzt wird; dass sie auf die katalytische Wirkung des Blutes etwas hemmend wirkt, weil sonst ihre Wirkung sich mit derjenigen der Katalase auf das Perhydrol summieren muesste.

Wirkung der CuJ^2 -Loesung auf Tiere.

Meerschweinchen, Kaninchen, Ratten und Hunde vertrugen ohne Schaden die Injektion von CuJ^2 , intravenoes oder ins Herz. Fuer Meerschweinchen von ungefaehr 300 gr. Gewicht war die Injektion von 5 ccm. der erwaehten Loesung ins Herz ganz unschaedlich. Kaninchen von 1 Kilo Gewicht wiesen keine schweren Schaedigungen auf, wenn 10-20 ccm. der Loesung in eine Ohrvene injiziert wurden. Das Gleiche wurde bei Hunden beobachtet. Wiederholte subkutane Injektionen von 2 ccm. hatten bei Mausem von 20-30 gr. Gewicht keine unmittelbaren Beschwerden zur Folge.

Ganz ungeeignet erwies sich aber die subkutane Injektion, da die Injektionsfluesigkeit eine mehr oder weniger ausgedehnte Zone von Nekrose hervorrief, welche bis zur Geschwuerbildung ging, mit ziemlich langsamer Narbenbildung; die Hunde bildeten davon die einzige Ausnahme.

Intraperitoneale Injektion wurde nicht ertragen; der Tod der Tiere erfolgte stets binnen 24 Stunden.

Theoretische Betrachtungen ueber die Biochemie tuberkuloeser Gewebe (UNNA JR. & GOLODETZ, WEISS), experimentelle Resultate aus der FINKLER schen Schule (Prof. Graefin VON LINDEN), sowie die klinischen Erfolge von MEISSNER u. STRAUSS brachten mich auf den Gedanken, dass die Verbindung von Jod mit Kupfer von grossem Vorteil fuer die Behandlung der Tuberkulose und mykotischer Krankheiten sein koenne. Denn tatsaechlich erfuellte das Kupferjodid folgende Anforderungen:

- a) grosse Loeslichkeit,
- b) genaue Dosierbarkeit,
- c) geringe Giftigkeit,

d) grande instabilidade, que facultasse a facil dissociação dos seus ions positivos e negativos,

seriam preenchidas pelo bi-iodeto de cobre.

Na pratica, no entanto, mostrou-se esse sal de absoluta ineficacia nos referidos processos morbidos, como decorre das experiencias que fiz sobre ratos e cobaias infetadas com esporotricose os primeiros e com tuberculose as segundas.

E' o que demonstram as seguintes experiencias:

Ratos infectados com esporotricose.

I. 5 ratos infetados com esporotricose no peritoneo. Suportaram 10 cc. da soluçao sob a pele, distribuidos sobre o periodo de um mez.

5 ratos infetados no peritoneo (Testemunhas). Não houve diferenças apreciaveis na marcha da infeçao e na duração dela.

5 ratos infetados por picada na base da cauda: Suportaram 10 cc. da soluçao sob a pele distribuidos sobre o periodo de um mez.

5 ratos testemunhas: Não houve diferença apreciavel na marcha da infeçao, nem na duração dela.

As injeções eram espaçadas por causa das zonas de necrose formadas nos pontos de injeção.

II. 5 Cobaias, inoculadas com tuberculose humana, por via sub-cutanea, não apresentaram a menor modificação no decurso do processo infetuoso, a despeito das injeções do corpo em questao em doses maximas de 5 cc. por via cardiaca.

Resumo:

O CuI^2 prepara-se sob a forma de hidrosol cuja dosagem pode ser rigorosa. De suas propriedades quimicas já estudadas por TRAUBE é mais notavel a sensibilidade desse corpo ao oxigeno nascente. Basta em verdade 0,00001 de H^2O^2 para que o CuI^2 se decomponha desprendendo-se I. Inversamente ele decompõe a agua oxigenada em soluçao neutra a 1 % (*Perhydrol* MERCK).

d) grosse Instabilitaet, welche eine rasche Dissoziaton von positiven und negativen Ionen gestattet.

Trotz dieser vorteilhaften Eigenschaften hat sich jedoch das Kupfersalz fuer die Therapie der erwahnten Krankheiten als absolut wirkungslos herausgestellt, wie folgende Versuche mit infizierten Ratten (Sporotrichose) und Meerschweinchen (Tuberculose) gezeigt haben.

Resultate:

Mit Sporotrichosis infizierte Ratten:

I. 1. 5 mit Sporotrichosis intraperitoneal infizierte Ratten: 10 ccm. der Loesung, im Verlauf eines Monats subkutan injiziert, wurden gut ertragen.

2. Kontrollversuche: 5 intraperitoneal infizierte Ratten: Kein Unterschied des Verlaufes und Dauer der Infektion erkennbar.

3. 4 Ratten, an der Basis des Schwanzes durch Stich infiziert: 10 ccm. der Loesung, im Verlauf eines Monats subkutan injiziert, wurden gut ertragen.

4. 5 Kontrollratten: Kein deutlicher Unterschied in Dauer und Verlauf der Infektion wahrzunehmen.

Die Injektionen mussten wegen der an den Injektionsstellen entstehenden Nekrosen in groesseren Zwischenraeumen vorgenommen werden.

II. 5 mit *Tuberculosis humana* infizierte Meerschweinchen (subkutane Injektion) zeigten, trotz ins Herz gemachter Einspritzung von Kupferjodidloesung in hoechsten Dosen (5 ccm.), gar keine Beeinflussung.

Zusammenfassung.

Kupferjodid wird als Hydrosol hergestellt und gestattet eine genaue Dosierung. Von den chemischen Eigenschaften, deren Studium schon TRAUBE gemacht hat, ist die auffallendste die Sensibilitaet fuer Sauerstoff *in statu nascendi*, denn es genuegt schon ein Zusatz von 0,00001 H^2O^2 , um eine Zersetzung, mit Freiwerden von Jod, herbeizufuehren. Der Luftsauerstoff zersetzt es nur sehr langsam;

O oxigênio do ar atmosférico só o decompõe muito lentamente. As soluções se conservam bem por 6 meses em vidro escuro. Mesmo em 24 horas, uma corrente de ar não o altera.

A ação hemolítica desse hidrosol depende principalmente da H²O destilada que entra em sua composição. Em uma solução isotônica pelo NaCl, a ação hemolítica diminui proporcionalmente ao aumento de concentração de NaCl, ainda mesmo que se aumente a concentração em CuI².

A concentração em CuI² só tem influência manifesta sobre o fenômeno da precipitação da hemoglobina, sobre a qual ele age como redutor.

Tem ação fixadora sobre os leucócitos, e aglutinante sobre as hemácias.

Não destrói o fermento da fibrina nem a catalase do sangue. Precipita os albuminóides do soro, pelo menos *in vitro*. *In vivo*, esses fenômenos não são aparentes. Foi possível a aplicação do CuI² por via venosa, sem que isso tivesse determinado acidentes nos animais experimentados (cão, cobaia, coelho, rato).

Por via peritoneal não era suportado pelo coelho, nem pela cobaia, morrendo os animais dentro das primeiras 24 horas.

Por via subcutânea não era tolerado facilmente por cobaias e ratos. Formava-se sempre escara no ponto da inoculação. O cão tolerava bem as inoculações subcutâneas.

Mostrou-se esse hidrosol ineficaz na esporotricose e tuberculose experimentais.

Ao terminar, deixo aqui consignado ao distinto colega Dr. ANTONIO PINTO JNR. os meus agradecimentos pelo valioso curso prestado em toda a parte experimental por ele acompanhada com a maior dedicação e boa vontade.

Manguinhos, Agosto 1913

in Lösung und in einem dunklen Glase aufbewahrt, haelt es sich waehrend einer Zeit von 6 Monaten. Auch 24-stuendiges Durchleiten von Luft zersezst es nicht.

Die haemolytische Wirkung dieses Hydrosols haengt in erster Linie, von dem dest. Wasser ab. Die haemolytische Kraft einer durch Chlornatrium isotonischen Loesung nimmt im Verhaeltnis zur steigenden NaCl-Konzentrierung stetig ab, selbst wenn die Konzentration der CuJ²-Loesung gesteigert wird. Der Konzentrationsgrad der Kupferjodidloesung uebt nur auf die Faellung des Haemoglobins einen deutlichen Einfluss aus; dasselbe wird durch CuJ² reduziert.

Die weissen Blutkoerperchen werden fixiert und die roten agglutiniert. Es zerstoert weder das Fibrinferment, noch die Katalase des Blutes. Serumalbuminoide werden gefaellt, wenigstens *in vitro*; *in vivo* kann man dies nicht beobachten.

Die intravenose Injektion von CuJ² ging glatt von statten, ohne irgend einen schaedlichen Einfluss auf die Tiere (Hunde, Meerschweinchen, Kaninchen u. Ratten) erkennen zu lassen.

Die intraperitoneale Injektion hatte beim Kaninchen und Meerschweinchen binnen 24 Stunden den Tod zur Folge.

Auch die subkutane Injektion war bei Meerschweinchen und Ratten keineswegs guenstig, denn es entstanden immer Geschwueere an den Injektionsstellen. Hunde ertrugen die subkutanen Injektionen ohne Nachwirkungen.

Das Hydrosol erwies sich bei experimenteller Sporotrichose und Tuberkulose ganz wirkungslos.

Zum Schlusse bezeuge ich meinem geehrten Kollegen, Dr. ANTONIO PINTO JR., meinen verbindlichsten Dank fuer seine werthvolle Mitarbeit bei den Experimenten, welche er mit groessten Eifer verfolgte.

Manguinhos, Agosto 1913.

GOLODI
& UN
JNR.

LINDEN,
FIN V.

MEISSNE
STRAUS

OSTWALI

TRAUBE,
RITZ

WEISS

BIBLIOGRAFIA.**Litteratur.**

- GOLODETZ, L. 1912 Ueber Peroxydase und Katalase innerhalb der Zelle.
& UNNA P, Berl. klin. Wochenschr. Jahrg. 49, N. 24.
JNR.
- LINDEN, GRAE- 1912 Congresso de Roma.
FIN V.
- MEISSNER & 1912 Beitrage zur Klinik der Tuberkulose Bd. XXIII, N. 2.
STRAUS
- OSTWALD, W. 1904 Eléments de chimie inorganique, trad. de l'allemand par
LAZARD, L.
- TRAUBE, MO- 1884 Ueber Kupferiodid.
RITZ Berichte d. Deut. Chem. Ges., Bd. I p. 1064.
- WEISS 1912 Ueber die biochemische Grundlage der besonderen Disposition
des Lungengewebes zur tuberkuloesen Erkrankung.
Wiener klin. Wochenschr. N. 19.
-