

Zur Kenntnis der Porphyrinbildung.

I. Mitteilung.

Von

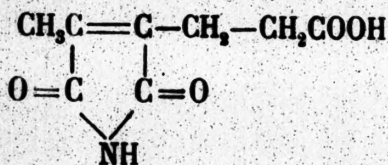
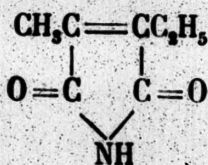
Hans Fischer und F. Meyer-Betz.

(Aus der II. medizinischen Klinik zu München.)
(Der Redaktion zugegangen am 18. September 1912.)

Im Urin kommt unter mancherlei pathologischen Verhältnissen ein Porphyrin, gewöhnlich Hämatoporphyrin genannt, vor, und es unterliegt kaum einem Zweifel, daß es ein Umwandlungsprodukt des Blutfarbstoffs ist.

Die Reindarstellung dieses interessanten Körpers aus Urin ist bis jetzt nicht geglückt, dagegen hat Nencki auf chemischem Wege zwei Porphyrine krystallisiert erhalten, die er als Hämatoporphyrin und Mesoporphyrin unterschied. Spektroskopisch sind nach Nencki beide Körper identisch, so daß schwer einzusehen ist, warum in der Literatur ziemlich allgemein die Identität des Urinporphyrins gerade mit dem Hämatoporphyrin und nicht z. B. mit dem Mesoporphyrin angenommen wird.

Jedenfalls ist es unseres Erachtens keineswegs sicher, welches Porphyrin im Urin vorliegt, und wir haben inzwischen in Ermangelung eines Hämatoporphyrinpatienten das Studium der künstlichen Porphyrine begonnen. Zuerst wurde das Mesoporphyrin untersucht und das Nencki-Zaleskische Verfahren so ausgearbeitet, daß man mit Sicherheit zu einem einheitlich krystallisierten Präparat gelangt. Dieses haben wir der Oxydation und Reduktion unterworfen. Bei der Oxydation erhielten wir



Methyläthylmaleinimid¹⁾ und Hämatinsäure.

¹⁾ Im Juli hat Küster, Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 45, S. 1935, publiziert, daß man bei der Oxydation einer Lösung, die Mesoporphyrin enthalten hat, Methyläthylmaleinimid und Hämatinsäure bekommt. Er schließt hieraus, daß im Hämin 2 Vinylgruppen vorhanden sind.

Die Reduktion führten wir mit 2 g aus und haben uns überzeugt, daß hierbei dieselben Spaltprodukte wie bei der Reduktion des Hämins entstehen; in analysenreinem Zustand wurden in Anbetracht der geringen Menge nur Hämopyrrol und Phonopyrrolcarbonsäure isoliert. Da jedoch auch Phyllopyrrol, sowie das Oxim der uns vom Bilirubinabbau¹⁾ bekannten isomeren Phonopyrrolcarbonsäure beobachtet wurde, so ist es sehr wahrscheinlich, daß das Mesoporphyrin nicht ein Spaltprodukt des Hämins ist.²⁾ Somit scheint das Mesoporphyrin ein einfaches Reduktionsprodukt des des Eisens beraubten Hämins zu sein, und es ist vielleicht nicht ausgeschlossen, daß die Entstehung des Porphyrinspektrums lediglich durch die Eliminierung des komplex gebundenen Eisens bedingt ist. Als Stütze für diese Anschauung möchten wir anführen, daß nach Zaleski das komplexe Eisensalz des Mesoporphyrins nicht mehr das Porphyrinspektrum, sondern das Häminspektrum gibt, weiterhin gelangt man durch Reduktion des Hämins mit Natriumamalgam nach erfolgter Reoxydation an der Luft ebenfalls zu einem eisenfreien Körper, der ein dem Hämatoporphyrin ähnliches Spektrum gibt. (Wir haben auf spektroskopische Messungen verzichtet, weil wir den Körper nicht krystallisiert erhalten haben.)

Fragen wir uns nun, wie das Mesoporphyrin zum Hämatoporphyrin und Hämin steht, so haben Nencki und Zaleski bereits festgestellt, daß man vom Hämin wie Hämatoporphyrin durch Reduktion zum Mesoporphyrin gelangt. Da das Hämatoporphyrin durch ein Mehr von zwei Sauerstoffatomen gegenüber dem Mesoporphyrin ausgezeichnet ist, und man nach Zaleski vom Mesoporphyrin aus nicht mehr zum Hämatoporphyrin gelangt, so scheinen bei der Mesoporphyrinbildung aus Hämatoporphyrin zwei alkoholische Hydroxylgruppen, die sich durch Wasseranlagerung an zwei Doppelbindungen des Hämins gebildet haben, reduziert zu werden. Hierdurch erklärt sich einerseits,

¹⁾ Berichte, Bd. 45, S. 1979. Vgl. auch Piloty und Thannhauser, Liebigs Annalen, Bd. 390, S. 191.

²⁾ Zur völligen Sicherstellung der Befunde wird der Versuch selbstverständlich mit einer größeren Menge Mesoporphyrin wiederholt.

daß bei der Oxydation des Mesoporphyrins Methyläthylmaleinimid gefunden wird, andererseits, daß es uns auf keine Weise geglückt ist, aus Hämatoporphyrin, auch nicht nach vorausgegangener Reduktion mit Natriumamalgam, Methyläthylmaleinimid zu erhalten, ebensowenig übrigens wie aus mit Natriumamalgam reduziertem Hämin.

Letzterer Befund erscheint auffallend. Denn man erhält bei der Oxydation des mit Natriumamalgam reduzierten Bilirubins Methyläthylmaleinimid. Dies Verhalten steht in einem gewissen Gegensatz zu dem des Hämins (vgl. oben), und aus diesem Grunde erscheint uns der Schluß Küsters, daß im Hämin Vinylgruppen sich befinden, nicht sicher.

Wir sehen also einen charakteristischen Unterschied zwischen den beiden bis jetzt bekannten krystallisierten Porphyrinen. Auf biologischem Wege ist es uns gelungen, einen weiteren Unterschied zu finden. Hausmann¹⁾ hat bekanntlich entdeckt, daß mit Hämatoporphyrin subcutan injizierte weiße Mäuse im strahlenden Licht unter prägnanten Symptomen rasch zugrunde gehen, während im Dunkeln gehaltene Kontrollen keinerlei Krankheitserscheinungen zeigen. Es handelt sich bei dieser Giftwirkung um eine photobiologische Sensibilisation, die zuerst von Tappeiner und seiner Schule bei fluoreszierenden Körpern nachgewiesen wurde.

Wir haben nun mit den beiden Porphyrinen vergleichende Versuche angestellt. Hiernach scheint das Mesoporphyrin eine geringfügige Giftwirkung zu haben, aber sensibilisierend wirkt es nicht im geringsten. Dies gilt jedoch nur für reinstes krystallisiertes Mesoporphyrin, während unreine Präparate zweifelhafte Resultate ergeben, in dem Sinne, daß die Mäuse nach kurzer Belichtung zugrunde gehen, allerdings nicht unter dem typischen Bild. Dies ist auch der Grund, weshalb wir die Mesoporphyrindarstellung so ausführlich beschrieben haben (s. unten). Dagegen hatte das aus Hämin durch Reduktion mit Amalgam und nachfolgender Oxydation dargestellte (also ein Weg, wie er auch mutatis mutandis im Organismus denkbar wäre) Porphyrin die gleiche Wirkung, wie das Hämatoporphyrin.

Zum Schluß möchten wir noch kurz hervorheben, daß es uns vor allen Dingen prinzipiell wichtig erscheint, festzu-

¹⁾ Biochem. Zeitschrift, Bd. 30, S. 276.

stellen, ob das Porphyrin des Urins einem Oxydationsprozeß (z. B. Hämatoporphyrin), Reduktionsprozeß (z. B. Mesoporphyrin) oder auch etwa nur der Eliminierung des Eisens aus dem Hämin seine Entstehung verdankt. Eine Frage, die natürlich nur durch Reindarstellung des Urinporphyrins entschieden werden kann.

Bei der Darstellung des Mesoporphyrins sind wir im wesentlichen den Angaben von Nencki und Zaleski gefolgt; wir geben aber der bessern Übersicht halber die ganze Vorschrift.

Darstellung des Mesoporphyrins.

5 g Hämin werden mit 30 ccm Jodwasserstoff (spez. Gew. 1,96) und 75 ccm Eisessig in einem Erlenmeyer-Kölbchen auf siedendem Wasserbad bis zur völligen Lösung erwärmt, was bei häufigem Umschütteln $\frac{1}{4}$ Stunde erfordert. Jetzt wird die Lösung mit 10 ccm Wasser versetzt, wobei sie einen mehr rötlichen Ton annimmt. Man trägt nun innerhalb 10 Minuten in kleinen Stückchen ca. 3 g Jodphosphonium ein, wodurch allmählich eine Aufhellung der Flüssigkeit und ein Umschlagen der Farbe aus dem anfänglichen dunkeln Rotgelb in Blaurot eintritt. Die Reaktion ist beendet, sobald die gelbe Nüance aus der Flüssigkeit verschwunden ist, oder wenn (nach Zaleski) Verdünnen des Reaktionsgemisches mit der gleichen Menge Wasser keinen Niederschlag mehr hervorruft. Ist das der Fall, wird die Reaktion durch Abkühlen des Gemisches unterbrochen und dieses, mit der gleichen Menge Wassers versetzt, in dem es sich vollkommen klar löst. Beim nun folgenden Eingießen in 1000 ccm H_2O entsteht dann ein ziemlich reichlicher, rötlich flockiger Niederschlag in der blauroten Flüssigkeit. Ohne von diesem abzufiltrieren, stumpft man mit 10%iger Natronlauge bis zu essigsaurer Reaktion ab, wobei ein neuer Niederschlag entsteht, während die Flüssigkeit nur mehr hellgelb gefärbt ist. Der Niederschlag wird abgesaugt und mit Wasser gewaschen. Das klare Filtrat riecht deutlich nach Hämopyrrol. Das Rohprodukt löst man in 300 ccm 1%iger Natronlauge, verdünnt mit Wasser auf 1000 ccm und fällt das gelöste Mesoporphyrin mit Essigsäure wieder aus. Der Niederschlag wird abgesaugt, ausgewaschen und dann sofort umkrystallisiert.

Zum Umkrystallisieren zerreibt man das Rohprodukt in einer Porzellanschale mit im ganzen 400 ccm 2,5%iger Salzsäure in Portionen unter mäßigem Erwärmen auf freier Flamme. Das Ganze wird in 400 ccm kochende 2,5%ige Salzsäure eingetragen und endlich nochmals fast bis zum Sieden erhitzt. Dann wird rasch filtriert. Bei richtigem Arbeiten bleibt auf dem Filter nur ein geringer schwarzroter Rückstand zurück. Das Filtrat wird auf zwei Porzellanschalen (um möglichst schnelles Eindampfen zu erreichen) verteilt und auf stark siedendem Wasserbad eingeengt. Dabei bedeckt sich seine Oberfläche erst mit einer matten Haut, die unter dem Mikroskop sich als aus amorphen Massen bestehend erweist. Es wird nun wiederum filtriert und dies noch einige Male wiederholt, bis die fortgesetzte mikroskopische Kontrolle der oberflächlichen Abscheidung statt der amorphen Massen die feinen, teils wirt durcheinander liegenden, teils in Rosetten angeordneten Nadeln des Mesoporphyrins frei von amorphen Schollen anzeigt. Die Oberfläche der Flüssigkeit bedeckt sich dann in Zeit von etwa $\frac{1}{2}$ —1 Stunde mit einer kupferrot schimmernden Haut vollkommen reiner Krystalle, die mehr und mehr an Dicke zunimmt und endlich leichte Falten bildet. Ist dies erreicht, so werden die Schalen vom Wasserbad genommen und bleiben über Nacht stehen, wodurch sich die Krystallabscheidung noch weiter vermehrt. Am Morgen wird abgesaugt, und das Produkt mit 10%iger HCl, in der die Krystalle fast unlöslich sind, nachgewaschen. Trocknen im Vakuum über Schwefelsäure.

Ausbeute 1,3 g reines Produkt.

Zur Erzielung einer guten Ausbeute ist genauestes Einhalten der Vorschrift und rasches Arbeiten notwendig. Sehr wesentlich ist das Lösen des nach Abstumpfen der Jodwasserstoffsäure erhaltenen Niederschlags in verdünnter Natronlauge und das Wiederfällen mit Essigsäure. Eine gesonderte Verarbeitung des sofort nach Eingießen in Wasser erhaltenen Niederschlags bietet keinerlei Vorteile. Wenn auch nach einiger Übung der Beginn der reinen Krystallisation makroskopisch leicht erkannt werden kann, so ist die mikroskopische Kontrolle doch

durchaus notwendig, wenn man ein reines nicht mit amorphen Schollen verunreinigtes Produkt erhalten will. Allzu starkes Einengen schadet, da dann ein Teil der Krystallisation offenbar wieder in Lösung geht. Aus den Mutterlaugen werden, wenn der Zeitpunkt, in dem das Einengen unterbrochen wurde, richtig getroffen ist, nur unbedeutende Mengen einer II. Krystallisation oder nur mehr amorphe Massen erhalten.

Der Zusatz von Jodphosphonium nach der Reduktion mit Jodwasserstoffsäure ist für die Mesoporphyrinbildung nicht notwendig, sondern er dient lediglich zur Reduktion des abgeschiedenen Jods. Man erhält das Porphyrin ebenfalls, wenn man nach einstündigem Erhitzen der Häminjodwasserstoffsäurelösung den Jodwasserstoffsäure im Vakuum rasch abdestilliert, den Rückstand mit Wasser versetzt, die ausgefallene Schmiere mit Alkohol löst, sofort nach der Lösung konzentrierte Thiosulfatlösung bis zum Verschwinden der Jodreaktion gegen Stärkepapiertest zugibt und die alkoholische Lösung dann vollkommen mit Wasser ausfällt. Man saugt den Niederschlag ab, wäscht ihn jodfrei und krystallisiert das erhaltene körnige Rohprodukt entsprechend der oben gegebenen Vorschrift mit 2,5%iger HCl um, wobei man ebenfalls eine vollkommen reine Krystallisation von Mesoporphyrin erhält.

Reduktion des Mesoporphyrins mit Jodwasserstoffsäure und Jodphosphonium.

2 g reinstes salzsaures Mesoporphyrin wurden in einem Gemisch von 40 ccm Eisessig und 20 ccm Jodwasserstoff (spez. Gew. 1,96) gelöst und im kochenden Wasserbad $1\frac{1}{2}$ Stunden erhitzt. Nach ca. $\frac{1}{2}$ Stunde fängt die feurigrote Lösung an einen Stich ins gelbliche zu bekommen. Nach $1\frac{1}{2}$ Stunden wurden 5 ccm Wasser zugegeben und innerhalb 15 Minuten ca. 5 g Jodphosphonium in kleinen Stückchen eingetragen. Es tritt Aufhellung, aber keine Entfärbung ein. Die Lösung zeigt nicht mehr das Mesoporphyrinspektrum, sondern nur noch einen Streifen im Grünblau. Der Eisessigjodwasserstoff wird durch Destillation im Vakuum entfernt und der sirupartige Rückstand

mit verdünnter Sodalösung aufgenommen und sodaalkalisch 5 mal ausgeäthert. Die konzentrierte ätherische Lösung gibt beim Versetzen mit 0,7 g Pikrinsäure eine erste Krystallisation (Ausbeute 0,6 g) vom unscharfen Schmelzpunkt 109—112°. Nach einmaligem Umkrystallisieren aus Alkohol wurde F. P. 118—120° erreicht und die Analyse bestätigte, daß Hämopyrrolpikrat vorlag.

0,1495 g im Vakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet ergaben bei 17° und 720 mm Druck 21,6 ccm N.

Berechnet für: N = 15,81% Gefunden: 15,89%.

Das Filtrat von der ersten Krystallisation wurde nochmals mit 0,7 g Pikrinsäure versetzt und das nach Abkühlung im Eis entstandene Pikrat abgesaugt. Ausbeute 0,5 g, Schmelzpunkt unter 100°. Nach einmaligem Umkrystallisieren aus 22 ccm Alkohol kam eine geringe Menge verunreinigten Hämopyrrolpikrats zur Abscheidung (F. P.: ca. 108° unscharf). Die Mutterlauge wurde nach Entfernung des Alkohols mit Natronlauge von der Pikrinsäure befreit und die ätherische Lösung der Pyrrole mit Diazobenzolsulfosäure ausgekuppelt. Der Äther hinterläßt beim Verdunsten eine geringe Menge eines grünlichen öligen Rückstands, in dem vereinzelte Krystalle vom Typus des Phyllopyrrols sich fanden. Es wurde versucht, das Phyllopyrrolpikrat zu fassen, aber die vorhandene Menge war hierzu zu gering.

Die sodaalkalische Mutterlauge wurde schwach kongosauer gemacht und durch 6 malige Extraktion mit Äther erschöpft. Beim Verdunsten des Äthers hinterbleibt eine rote, vollkommen krystallisierte Masse (1 g), die beim Lösen mit Äther den Farbstoff zum größten Teil hinterläßt. Dieser war nicht wägbare. Die ätherische Lösung wurde mit 1 g Pikrinsäure versetzt, worauf sofort das schön gelbe Pikrat der Phonopyrrolcarbonsäure ausfällt. (Ausbeute 1 g, Zersetzungspunkt 153°.) Aus Alkohol umkrystallisiert schmolz das Präparat bei 158—160° C. und die Analyse bestätigte die Reinheit.

0,2075 g Substanz im Vakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet gaben bei 17° und 719 mm Druck 26,6 ccm N.

Berechnet für: N = 14,13% Gefunden: 14,1%.

Die Endmutterlauge wurde mit im ganzen 18 ccm 50%iger H_2SO_4 dreimal ausgezogen, die schwefelsaure Lösung durch 4 maliges Extrahieren mit Äther vom Rest der Pikrinsäure befreit. Nach Entfernen des Äthers im Vakuum wurde die schwefelsaure Lösung auf 20% H_2SO_4 gebracht und bei ca. 50° mit einer konzentrierten Natriumnitritlösung behandelt. Nach eingetretener Aufhellung wurde 5 mal mit Äther extrahiert.

Nach Abdampfen des Äthers sah man neben den für das Oxim der Phonopyrrolcarbonsäure charakteristischen Kugeln deutlich die rosettenartig angeordneten wetzsteinähnlichen Kristalle des uns vom Bilirubinabbau her bekannten isomeren Phonopyrrolcarbonsäureoxims.

Daß ein Gemisch vorlag, geht auch daraus hervor, daß selbst nach Umkrystallisieren aus Wasser (wobei in der Regel das in geringerer Menge befindliche Oxim in Lösung bleibt) der Schmelzpunkt (ab 225° Sintern, gegen 232° totale Zersetzung) des Oxims der reinen Phonopyrrolcarbonsäure nicht erreicht wurde.

Oxydation des Mesoporphyrins mit Bleisuperoxyd in schwefelsaurer Lösung.

2 g reines krystallisiertes Mesoporphyrin wurden in stark verdünnter Natronlauge unter Schütteln auf der Maschine gelöst, die Lösung mit Essigsäure gefällt, abgesaugt und mit Wasser gewaschen. Das Produkt wurde auf Ton abgepreßt, dann über Nacht im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet. Ausbeute 1,5 g.

Diese wurden in 100 ccm 20%iger H_2SO_4 klar gelöst und in die Lösung am Rührwerk 30 g Bleisuperoxyd in kleinen Portionen während einer halben Stunde eingetragen, wobei sie sich allmählich vollkommen entfärbte. Das Rühren wird noch weitere 8 Stunden fortgesetzt, dann läßt man die Flüssigkeit sich absetzen. Vom Bleischlamm wird abgesaugt, das Filtrat 6—8 mal ausgeäthert und die ätherische Lösung im Vakuum fast bis zur Trockene eingedampft. Der hinterbleibende, teilweise krystallisierte Rückstand wird in dünner Sodalösung aufgenommen und 6 mal mit Äther ausgeschüttelt. Nach Abdunsten des Äthers hinterblieben schon fast vollkommen rein Nadeln, die nach Geruch und Beschaffenheit Methyläthylmaleinimid sein mußten.

Ausbeute 0,28 g. Aus Wasser und Alkohol umkrystallisiert, schmolz das Präparat bei 68° , und die Analyse bestätigte, daß Methyläthylmaleinimid vorlag.

0,1583 g Substanz gaben 14,4 ccm N bei 16° und 720 mm Druck.

Berechnet: N = 10,07%

Gefunden: N = 10,06%

Der wässrige Anteil wird mit Schwefelsäure bis zur kongosauren Reaktion versetzt und ebenfalls 6 mal ausgeäthert. Nach Abdunsten des Äthers hinterbleiben die typischen Krystalle der Hämatinsäure (Ausbeute 0,3 g). Nach Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther schmolz das Präparat bei 114° ; der Mischschmelzpunkt mit analysierter Hämatinsäure ergab keine Depression.

Reduktion von Hämin mit Natriumamalgam und nachfolgende Oxydation mit Bleisuperoxyd in schwefelsaurer Lösung.

1 g umkrystallisiertes Hämin werden in 20 ccm $n/10$ -Natronlauge und 15 ccm H_2O gelöst und mit 22 g 3%igem Natriumamalgam versetzt. Die Reduktion läßt man erst unter Abkühlung in fließendem Wasser und Schütteln, dann auf der Schüttelmaschine bei gewöhnlicher Temperatur sich vollziehen. Nach einer Stunde ist eine klare, hellgelbe Lösung entstanden, die sich an der Luft rasch wieder bräunt und nach einigem Stehen einen flockigen Niederschlag von Eisenhydroxyd abscheidet. Im Gefäß negativer Druck.

Überläßt man in diesem Stadium die Lösung der Oxydation an der Luft, so scheidet sich bald Eisenhydroxyd ab und man erhält nach Filtration und Ausfällen mit warmer Essigsäure einen Körper, der nach Aussehen und spektroskopischem Verhalten dem Hämatoporphyrin sehr ähnlich ist. Krystallisationsversuche führten nicht zum Ziel.

Die reduzierte Lösung wird nun tropfenweise unter stetigem Rühren im Laufe von $5/4$ Stunden in eine Mischung von 25 g Bleisuperoxyd und 50 ccm 50%iger Schwefelsäure eingetragen. Hiernach wird noch weitere 8 Stunden gerührt. Man läßt die Flüssigkeit über Nacht stehen, saugt ab, äthert 6 mal

aus, nimmt den hellgelben sirupartigen Rückstand in verdünnter Sodalösung auf und äthert ihn erst 6mal sodaalkalisch, dann kongosauer aus. Aus dem sauren Anteil krystallisierte Hämatinsäure aus, aus dem alkalischen wurde in geringer Menge ein krystallisierter Körper erhalten, der aber nicht Methyläthylmaleinimid ist (F. P. über 100°) und dessen nähere Untersuchung noch nicht beendigt ist.

In der gleichen Weise wurde auch Hämatoporphyrin reduziert und dann oxydiert, ohne daß es gelang, Methyläthylmaleinimid zu fassen, dagegen Hämatinsäure.

Auch hier erhält man im basischen Anteil in geringer Menge einen krystallisierenden Körper, der ähnlich wie Methyläthylmaleinimid riecht, aber nicht identisch mit diesem ist.

Tierversuche.

Unsere Versuche sind fast sämtlich mit Sonnenlicht ausgeführt worden. Um die Einwirkung der Hitze auszuschalten, wurden die Glasgefäße, in denen sich die Mäuse befanden, in eine größere Glaswanne, die mehrere Zentimeter hoch mit gekühltem Wasser gefüllt wurde, gesetzt.

Um uns über die Krankheitserscheinungen zu orientieren, die bei hämatoporphyrin-injizierten Mäusen unter Lichtwirkung auftraten, haben wir zunächst unter gleichen Bedingungen wie Hausmann (Bogenlampe von 40 Ampère, 80 cm Abstand, Wasserfilter) Versuche mit reinem Hämatoporphyrin angestellt. Eine nähere Mitteilung der Versuche erübrigt sich, da wir durchaus mit den Beobachtungen Hausmanns übereinstimmende Resultate erhielten. Das wütende Beißen und Kratzen, die Lichtscheu und vor allem die große allgemeine Unruhe der Tiere sind sehr charakteristisch. Die Dunkelkontrollen blieben am Leben. Bei der Sektion der zugrunde gegangenen Tiere fand sich, wie Hausmann dies ebenfalls beschrieben hat und O. Neubauer¹⁾ zuerst beim Kaninchen feststellte, die Gallenblase stark mit einem rotschimmernden Inhalt erfüllt, der das Hämatoporphyrin-Spektrum gab, ebenso war

¹⁾ Schmiedebergs Archiv, Bd. 43, S. 456.

in den obersten Darmabschnitten (Duodenum) Hämatoporphyrin spektroskopisch nachweisbar.

Versuche mit unreinem Mesoporphyrin. 1. 6. 1912.

3 Mäuse erhielten 10 Uhr vorm. 0,01, 0,005, 0,003 g Mesoporphyrin subcutan. Gleichzeitig wurden 3 Kontrollen angesetzt: 1) erhielt 0,01 g Mesoporphyrin und kam sofort ins Dunkle, 2) erhielt 0,01 Hämatoporphyrin, 3) wurde nicht injiziert.

2) und 3) wurden zusammen mit den 3 Mesoporphyrin-Mäusen dem klaren Sonnenlicht ausgesetzt.

Die Hämatoporphyrin-Maus zeigte kurz nach Verbringen ins Sonnenlicht das typische Kratzen und sich Beißen usw. Schon 10⁵⁵ Uhr wurden vorübergehend Krämpfe beobachtet, 11⁴⁵ Uhr war sie moribund, 12²⁰ Uhr trat der Tod ein.

Die Mesoporphyrinmäuse zeigten kurz nach Verbringen in die Sonne große Unruhe, starkes Beißen und Kratzen. Die Lichtscheu war nicht sehr ausgesprochen. Die Unruhe usw. hielt bei allen etwa 1 Stunde an, dann saßen sie ruhiger da. Um 1 Uhr waren die beiden mit 0,01 g und 0,005 g injizierten Mäuse sehr matt. Die mit 0,003 g injizierte zeigte keinen deutlichen Befund. 1 Uhr — 1³⁰ Uhr unbelichtet. 1³⁰ Uhr, die mit 0,005 g injizierte Maus ist moribund, 2 Uhr tot. 3 Uhr keine Sonne mehr. 3³⁰ Uhr, die mit 0,01 g injizierte Maus moribund; 5³⁰ Uhr exitus letalis. Die mit 0,003 g injizierte Maus blieb am Leben.

Normalkontrolle vollkommen wohl.

Die Dunkelkontrolle blieb bis zum Morgen des 3. 6. im Dunkeln, ohne Krankheitserscheinungen gezeigt zu haben. Sie kam am 3. 6. 11¹⁵ Uhr ins Sonnenlicht, zusammen mit einer Normalmaus. Belichtung dauerte bis 1 Uhr. Sie zeigte keinerlei prägnante Symptome, war am Ende der Belichtung matt und wurde 3 Uhr nachmittags tot aufgefunden. Normalkontrolle o. B.

Versuch mit demselben Präparat. 31. 5. 12.

3 Mäuse erhielten 9³⁰ Uhr vorm. Mesoporphyrin in gleichen Dosen wie bei Versuch I und kamen sofort ins Sonnenlicht. Sämtliche zeigten während der ersten Stunde große Un-

ruhe, Beißen und Kratzen, 10⁴⁵—11 Uhr war nur vorübergehend Sonnenschein. 11⁴⁵ Uhr hatte das Beißen und Kratzen aufgehört, die Maus mit 0,01 g war sehr matt. Von 12 Uhr an standen die Mäuse bei bedecktem Himmel im diffusen Licht. Von 2 Uhr an schien die Sonne wieder intermittierend, die Mäuse waren wieder unruhiger, zeigten wieder Beißen und Kratzen.

3 Uhr sämtliche Mäuse machen schwer kranken Eindruck.

5 Uhr. Sonne hat intermittierend geschienen. Sämtliche Tiere noch immer matt, besonders die mit 0,01 g injizierte Maus. Diese wurde 7²⁰ Uhr vollkommen apathisch und war andern Morgens tot. Von den andern beiden war die mit 0,005 g injizierte noch sehr matt, die mit 0,003 g hatte sich erholt. Sie blieben weiterhin im diffusen Licht. Am 8. 6. wurde die stärker injizierte tot gefunden, die dritte blieb lebend.

Ebenso verlief ein III. und IV. Versuch.

Ganz ähnlich ein weiterer, bei dem ebenfalls 0,01 g injiziert, das Tier danach erst 24 Stunden im Dunkeln gehalten, dann der Sonne ausgesetzt wurde. Die Rötung der Ohren und das Ödem des Schwanzes war deutlich, trotzdem erholte es sich wieder vollkommen, nachdem es 2 Stunden der Sonne ausgesetzt gewesen war.

Versuch mit reinstem krystallisiertem Mesoporphyrin.

Suspension von 0,05 reinstem Mesoporphyrin in 5 ccm $n/10$ -NaOH (vollkommene Lösung tritt erst ein, wenn 1 ccm der Suspension mit 2 ccm Wasser verdünnt wurde). 28. 8. 12.

3 Mäuse wurden mit 1,0, 0,5, 0,2 ccm der Lösung injiziert und kamen dann sofort (12⁴⁵) ins helle Sonnenlicht. Eine weitere mit 1,0 ccm derselben Lösung injizierte Maus kam sofort ins Dunkle. Während der ersten Stunde waren die Tiere etwas unruhig, zeigten auch etwas Beißen und Kratzen, von 2 Uhr an saßen sie aber ruhig da, ohne besondere Krankheitserscheinungen zu zeigen. Erst um 4 Uhr wurde die Bestrahlung, die bei wolkenlosem Himmel außerordentlich intensiv gewesen war, unterbrochen. Die belichteten Tiere waren danach sämtlich etwas matt, sie zeigten auch um 5 Uhr noch keine rechte Freßlust, während die Dunkelkontrolle vollkommen wohl war.

8 Uhr abends noch immer keine Freßlust, die mit 1,0 ccm injizierte Maus macht sehr matten Eindruck, sie war 1 Uhr nachts moribund und wurde am 29. 8., 8 Uhr vorm. tot gefunden. Die beiden andern Mäuse waren durchaus frisch. Sie blieben bei wechselndem, meist trübem Wetter dauernd am diffusen Licht, ohne weitere Erscheinungen zu zeigen, und waren am 10. 9., wo der Versuch beendet wurde, frei von Krankheitserscheinungen.

Die Dunkelkontrolle wurde am 4. 9. morgens tot aufgefunden.

Ein weiterer Versuch verlief analog, nur ging von den injizierten Mäusen keine zugrunde.

Versuch mit Porphyrin,

erhalten durch Reduktion von Hämin mit Natriumamalgam und Oxydation an der Luft. 6. 7. 1912.

Je 2 Mäuse erhalten 0,01, 0,005 und 0,002 g der Substanz in Alkali gelöst subcutan, die eine Reihe kommt 9⁴⁰ Uhr ins klare Sonnenlicht, die andere Reihe sofort nach der Injektion ins Dunkle. 10 Minuten nach Verbringen ins Licht zeigten die Tiere das vollausgeprägte Bild der Hämatorporphyrin-Sensibilisierung. Lichtscheu, Kratzen und Beißen, große Unruhe. Später trat bei den stark injizierten auch deutliche Rötung der Ohren ein. Um 12 Uhr wurden sie ruhiger, 12³⁰ Uhr machte die mit 0,01 g injizierte schwerkranken Eindruck. Die Belichtung dauerte bis 1 Uhr. 1³⁰ Uhr war die mit 0,01 g injizierte sehr elend, 2 Uhr moribund, 2³⁰ Uhr tot. Die andern beiden machten jetzt ebenfalls schwerkranken Eindruck, 3¹⁵ Uhr moribund, sie gingen 3⁴⁰ Uhr und 4¹⁰ Uhr (0,002) ein.

Die Sektion zeigte bei allen, daß der Farbstoff zum größten Teil an Ort und Stelle liegen geblieben war. Im oberen Dünndarm konnte Porphyrin spektroskopisch nachgewiesen werden, die Gallenblasen waren dagegen klein. Milzschwellung.

Die Dunkelkontrollen dieses Versuchs blieben bis zum Morgen des 9. 7. vor Licht geschützt und wurden dann weiter bei diffusem Licht gehalten, sie waren vollkommen gesund gewesen, zeigten jetzt aber ausgesprochene Lichtscheu, sonst keinerlei Krankheitserscheinungen und waren eine Woche später wieder vollkommen lebhaft.