

Zur Kenntnis der Porphyrinbildung.

II. Mitteilung.

Über Porphyrinogen und seine Beziehungen zum Blutfarbstoff und dessen Derivaten.

Von

H. Fischer, E. Bartholomäus und H. Röse.

(Aus der II. Medizinischen Klinik zu München.)

(Der Redaktion zugegangen am 9. März 1913.)

Vor kurzem teilten wir mit,¹⁾ daß es durch Einwirkung von Eisessigjodwasserstoff auf Hämin in Gegenwart von Jodphosphonium bei gewöhnlicher Temperatur gelungen ist, ein farbloses Derivat zu erhalten, das nach seinen Eigenschaften ein Porphyrinogen ist und deshalb diesen Namen trägt.

Daß der Körper in sehr naher Beziehung zum Mesoporphyrin steht, deuteten wir in der genannten Abhandlung schon an, indem aus dem Porphyrinogen durch Behandeln mit Natriummethylat neben Phyllopyrrol ein schön krystallisiertes Porphyrin erhalten wurde, das in allen Eigenschaften mit Mesoporphyrin übereinstimmt. Die Analyse hat nun in der Tat bestätigt, daß Mesoporphyrin vorliegt und, da das wasserstoffärmere Mesoporphyrin seine Entstehung nur einem Oxydationsprozeß verdanken kann, so haben wir Ferricyankali in alkalischer Lösung auf Porphyrinogen einwirken lassen. Auch hierbei erhält man Mesoporphyrin, wenn auch nicht in besonders guter Ausbeute. Dagegen erhält man es in recht guter Ausbeute durch Oxydation mit Hilfe des Luftsauerstoffs in alkalischer Lösung.

Besonders hervorzuheben ist die oben erwähnte oxydierende Wirkung des Natriummethylats, die zum erstenmal in der Pyrrolreihe beim Behandeln der Bilirubinsäure mit diesem

¹⁾ Berichte d. Deutsch. chem. Ges., Bd. 46, S. 511 (1913).

Reagens beobachtet wurde.¹⁾ Auffallenderweise erzielt man durch Einwirkung von Natriumäthylat auf Porphyrinogen diese Oxydationswirkung nicht. Der Einwand, daß das eventuell intermediär entstehende Mesoporphyrin durch das Natriumäthylat zerstört werde, ist hinfällig, denn Mesoporphyrin ist gegen Natriumäthylat, wie wir uns überzeugten, durchaus resistent. Es scheint so, als ob die oxydierende Wirkung durch den Methylalkohol hervorgerufen wird.

Bei den Alkoholat- wie bei den Oxydationsversuchen des Porphyrinogens wurde das Mesoporphyrin stets in Form seines leuchtend rot gefärbten Natriumsalzes abgeschieden, aus dem man durch Umkrystallisieren aus heißer 2 $\frac{1}{2}$ %iger Salzsäure das salzsaure Salz des Mesoporphyrins sofort rein erhält. Denselben Kunstgriff, nämlich die Abscheidung des Mesoporphyrins als Natriumsalz, wenden wir jetzt auch bei der Darstellung aus Hämin an. Hierdurch ist die Darstellung des Mesoporphyrins ganz erheblich vereinfacht, und man erhält direkt ein absolut reines Präparat.

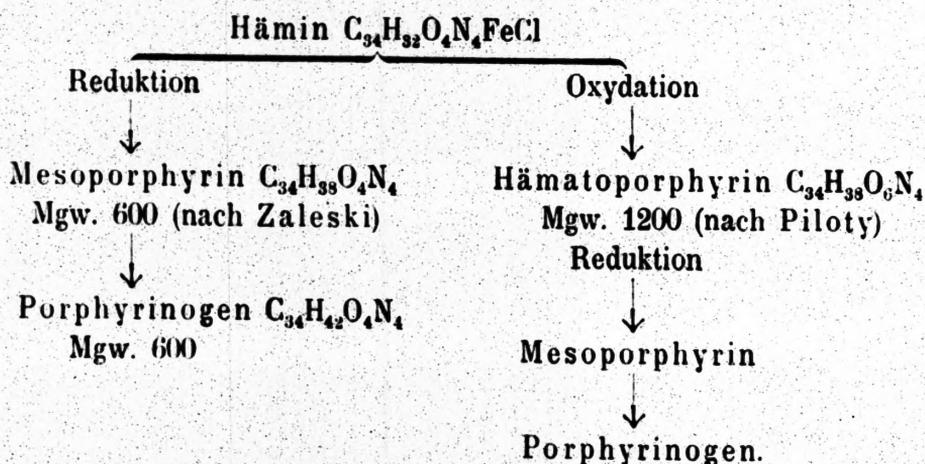
War durch die obengenannten Versuche der oxydative Übergang des Porphyrinogens in Mesoporphyrin absolut sicher gestellt, so haben wir trotzdem nach Übergängen von Mesoporphyrin und Hämatoporphyrin zum Porphyrinogen gesucht und diese auch gefunden. Aus Hämatoporphyrin und Mesoporphyrin erhält man mit Hilfe von Eisessigjodwasserstoff leicht das Porphyrinogen; die Ausbeute ist jedoch nicht besser als bei der Darstellung direkt aus Hämin. Als Gegenstück zur leichten Gewinnung des Mesoporphyrins aus Porphyrinogen durch Oxydation mit Luftsauerstoff führen wir die glatte Reduktion des Mesoporphyrins zum Porphyrinogen durch Natriumamalgam an.

Es liegt nahe, diese Reduktion in Parallele zu setzen mit der des Bilirubins zum Hemibilirubin. Indessen ist es nach den bisherigen Befunden nicht wahrscheinlich, daß der Reaktionsmechanismus der gleiche ist. Der prinzipielle Unterschied besteht darin, daß das Porphyrinogen durch Oxydation wieder in seine Muttersubstanz übergeführt wird, hier also

¹⁾ Berichte d. Deutsch. chem. Ges., Bd. 46, S. 439 (1913).

das echte Verhältnis zwischen Leukobase und Farbstoff besteht, während das Hemibilirubin sich nicht mehr in Bilirubin zurückverwandeln läßt, vielmehr bei der Oxydation in einen neuen Farbstoff «Urobilin» (Pyrrolharz) übergeht.

Auch durch Zinkstaub bei Gegenwart von Eisen und Alkali erhält man das Porphyrinogen sowohl aus Hämatoporphyrin wie aus Mesoporphyrin. Folgende Tabelle gibt Auskunft über die Beziehungen der einzelnen Blutfarbstoffderivate zueinander.



So ist der Zusammenhang zwischen Hämin, den Porphyrinen und Porphyrinogen einwandfrei festgestellt, und es handelt sich nun um die elementare Zusammensetzung des Blutfarbstoffs und seiner Derivate. In der oben erwähnten Mitteilung haben wir für das Porphyrinogen 33 Kohlenstoffatome angenommen; wir wurden hierzu veranlaßt durch seine Analysen, die weit besser auf C_{33} paßten; dazu stimmen auch zahlreiche Analysen anderer Blutfarbstoffderivate früherer Autoren (z. B. Nencki und Zaleski) besser auf C_{33} als auf C_{34} , und auch sehr viele unserer eigenen Analysen des Meso- und Hämatoporphyrins sind besser mit der Formel C_{33} vereinbar.

Inzwischen wurden nun zahlreiche Analysen des Porphyrinogens der verschiedenartigsten Entstehungsweisen ausgeführt, und die Mehrzahl stimmt besser auf C_{34} . Jedenfalls scheint zurzeit kein Grund zu bestehen, die Formel C_{34} des Blutfarbstoffs abzuändern. Auch sind wir der Ansicht, daß ebenso wie beim Gallenfarbstoff, wo sich ja auch ähnliche

Differenzen zwischen Bilirubin und Hemibilirubin ergeben haben, die Frage nach der Zusammensetzung schneller und sicherer durch den weiteren Abbau entschieden wird.

Über die Molekulargröße des Hämins sind wir nicht orientiert. Piloty¹⁾ nimmt es aus seinen Molekulargewichtsbestimmungen des Hämatoporphyrins zu 1200 an, aber es erscheint nicht ausgeschlossen, daß das Hämatoporphyrin bei der Temperatur des siedenden Pyridins sich polymerisiert oder anhydriert. Tatsächlich geht ja dieser Körper sehr leicht bei höherer Temperatur (Nencki, Küster) in unlösliche sauerstoffärmere Modifikationen über. Im Schwefelsäureexsikkator getrocknetes Hämatoporphyrin z. B. löst sich leicht in konzentrierter Salzsäure, während nur das im Trockenschrank bei höherer Temperatur getrocknete Hämatoporphyrin die von Piloty²⁾ geschilderte Schwerlöslichkeit in Salzsäure besitzt. Wir glauben, daß die Molekulargröße des Blutfarbstoffs die gleiche ist, wie die des Mesoporphyrins und Porphyrinogens (600), und stützen diese Ansicht besonders auf das Resultat der totalen Reduktion des Mesoporphyrins und Porphyrinogens, die qualitativ und quantitativ durchaus der des Hämins gleicht, insbesondere gelang es, bei der Reduktion des Mesoporphyrins einwandfrei Phyllopyrrol nachzuweisen, sodaß für Mesoporphyrin das Hervorgehen der drei Basen Hämo-, Krypto- und Phyllopyrrol aus zwei Pyrrolkernen gesichert ist. Allerdings haben wir Kryptopyrrol selbst nicht isoliert, jedoch zeigt die Basenfraction nach Entfernung des Phyllopyrrols ein mit der des Hämins durchaus übereinstimmendes Verhalten.

Bei der Oxydation geben Porphyrinogen und Mesoporphyrin Methyläthylmaleinimid und Hämatinsäure, während Hämatoporphyrin und Hämin, auch wenn beide mit Natriumamalgam zur Farblosigkeit reduziert sind, das Methyläthylmaleinimid nicht liefern. Diese Befunde stehen am besten im Einklang mit der Küsterschen Auffassung von Vinylgruppen im Hämin. Die Vinylgruppen würden dann wohl durch Jodwasserstoff, aber nicht durch Amalgam zu Äthylresten reduziert (Küster). Da

¹⁾ Liebigs Annalen, Bd. 388, S. 319 (1912).

²⁾ Liebigs Annalen, Bd. 377, S. 328.

wasserstoff bzw. Chlorwasserstoff an Vinylgruppen statthat, weil ein quantitativer Austausch des Halogens, besonders des Chlors, unter dem Einfluß der kalten Natronlauge hier kaum denkbar ist. Dagegen wird wohl die Anlagerung von Chlorwasserstoff bzw. Bromwasserstoff an α -ständige Methingruppen erfolgen; denn hier dürfte das angelagerte Halogen mindestens eben so leicht austauschbar sein gegen Hydroxyl, wie die Oxydation von Methylengruppen zu Methingruppen beim Übergang von Porphyrinogen in Mesoporphyrin schon durch den Sauerstoff der Luft erfolgt. Übrigens tauscht das Diphenylbrommethan nach Nef (Liebig's Annalen 298, S. 232) auch durch 14tägiges Behandeln mit kaltem Wasser das Halogen gegen Hydroxyl aus.

Tierversuche.

Wie Hausmann zuerst feststellte, besitzt das Hämatoporphyrin sensibilisierende Wirkung, d. h. weiße Mäuse, denen Hämatoporphyrin subcutan beigebracht ist, zeigen im Licht typische Krankheitserscheinungen, während die im Dunkeln gehaltenen Kontrollen normal bleiben. H. Fischer¹⁾ und Fr. Meyer-Betz stellten dann fest, daß Mesoporphyrin keine sensibilisierende Wirkung besitzt, mithin im charakteristischen Gegensatz zum Hämatoporphyrin steht.

Wir haben nun gefunden, daß für derartige Sensibilisierungsversuche Meerschweinchen geeigneter sind. Die Beobachtung ist an größeren Tieren leichter, Verletzungen sind so gut wie ausgeschlossen. Weiterhin sind Mäuse außerordentlich hinfällig gegen Einspritzung von Flüssigkeiten, die nicht deutlich alkalisch sind, und die Reaktion ist bei stark gefärbten Lösungen oft nicht leicht festzustellen. Ein besonderer Vorteil (wir benutzten nur vorwiegend weiße Tiere, aber nie Albinos, ein vollständig schwarzes Tier wurde interessanterweise überhaupt nicht sensibilisiert) ist der, daß bei Meerschweinchen das typische Sensibilisierungsbild nach kurzer Belichtung (ca. 1 Stunde Sonnenlicht) intensiv auftritt, um dann beim Aufenthalt im Dunkeln langsam abzuklingen. Nach ca. 4—5 Stunden sind die Tiere wieder vollständig normal; bei erneuter Belichtung am folgenden Tag

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 82, S. 98 (1912).

entwickelt sich wieder (ohne neue Injektion) das gleiche Krankheitsbild, das nach längerem Aufenthalt im Dunkeln wieder verschwindet. So dient das gleiche Tier als Kontrolle für sich selbst und die Versuche sind infolgedessen besonders überzeugend. In dieser Weise haben wir nun zwischen den beiden Porphyrinen und dem Porphyrinogen vergleichende Untersuchungen an Meerschweinchen gemacht, und es hat sich folgendes ergeben:

1. Hämatoporphyrin hat die stärkste Wirkung; es macht schwere Krankheitserscheinungen.

2. Mesoporphyrin hat in der Mehrzahl der Fälle keine Spur sensibilisierend gewirkt, in einem Falle schwach und in einem deutlich sensibilisierend. Krankheitserscheinungen jedoch sind nicht zutage getreten, die Lichtscheu fehlte, im Dunkeln verschwanden die Symptome sehr schnell. Auch in dem letzten Fall erreichte die Sensibilisierung nicht annähernd die des Porphyrinogens.

3. Porphyrinogen wirkt intensiv sensibilisierend, und zwar in allen untersuchten Fällen. Schwere Krankheitserscheinungen wie beim Hämatoporphyrin haben wir jedoch nicht beobachtet.

Wir schließen aus diesen Versuchen, daß das Porphyrinogen im Organismus des Meerschweinchens wohl kaum in Mesoporphyrin übergeführt wird, sondern daß es, falls es nicht als farblose Substanz direkt sensibilisierende Eigenschaften besitzt, in ein noch unbekanntes Porphyrin umgewandelt wird. Für die letztere Auffassung spricht, daß die sensibilisierende Wirkung niemals bei der ersten Belichtung, also direkt nach der Injektion aufgetreten ist, sondern immer erst bei der zweiten Belichtung nach 24 Stunden, während beim Hämatoporphyrin schon bei der ersten Belichtung, allerdings erst nach ca. $\frac{1}{2}$ Stunde die ersten Symptome auftraten. Bei der zweiten Belichtung reichten dann schon wenige Minuten zur starken Sensibilisierung aus.

Gerade wegen der verschiedenartigen individuellen Wirkungen des Mesoporphyrins scheint es uns nicht unwahrscheinlich, daß dieses das im menschlichen Urin bei Porphyrinurie vorkommende ist und nicht Hämatoporphyrin, das ja so schwere Krankheitssymptome macht. Klarheit über diese Verhältnisse kann natürlich, wie schon früher betont, nur die Reindarstellung des Porphyrins aus Urin schaffen.

Auch ist die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, daß verschiedene Porphyrine im Urin vorkommen, auch die Ausscheidung des Porphyrinogens wäre denkbar. Allerdings haben wir keine Angaben in der Literatur darüber gefunden, ob Hämatorporphyrinurine nachdunkeln.

Experimenteller Teil.

Porphyrinogen aus Hämin.

5 g Hämin, 5 g Jodphosphonium, 50 ccm Eisessig und 25 ccm Jodwasserstoffsäure (spez. Gew. 1,96) werden im zugeschmolzenen Rohr geschüttelt. Nach kurzer Zeit ist Lösung eingetreten unter Auftreten des «sauren» Hämatorporphyrinspektrums. Nach einigen Tagen wird der Röhreninhalt gelbstichig, und nach 10—11 Tagen ist die ursprünglich tief rote Lösung durchsichtig und nur noch schwach braun gefärbt. Jetzt unterbricht man den Versuch und gießt in die sechsfache Menge Wasser, wobei eine milchige Trübung entsteht. Durch Zusatz von 65 ccm 33%iger Natronlauge verschwindet die Reaktion auf Kongorot, und der durch 5maliges Ausschütteln erhaltene, filtrierte, mit Natriumsulfat oberflächlich getrocknete Chloroformextrakt wird in 400 ccm niedrig siedenden Petroläther gegossen. Von dem sich flockig abscheidenden, schwach jodhaltigen Niederschlag (Körper II) wird abfiltriert und im Vakuum eingedampft. Es hinterbleibt in kugeligen Krystallaggregaten ein schwach rötlich gefärbter Körper, der durch zweimaliges Auswaschen mit Äther nahezu farblos erhalten wird in einer Ausbeute bis zu 38% der Theorie. Zur völligen Reinigung wird er aus Methylalkohol umkrystallisiert. Derbe Prismen, die keinen scharfen Schmelzpunkt besitzen, ab 190° tritt Sintern unter scheinbarer Zersetzung ein. Zu den Elementaranalysen und den Molekulargewichtsbestimmungen wurde bei 60° im Vakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet.

0,1681 g Substanz gaben 0,4353 g CO₂ und 0,1205 g H₂O.

0,1616 » » » 0,4193 » » » 0,1135 » »

0,1592 » » » 0,4166 » » » 0,1142 » »

0,1340 » » » 0,3519 » » » 0,0950 » »

0,1712 g Substanz gaben 15,6 ccm Stickstoff bei 13° und 718 mm.
 0,1641 „ „ „ 15,6 „ „ „ 19° „ 708 „
 0,1658 „ „ „ 15,3 „ „ „ 22° „ 721 „

$C_{33}H_{42}O_4N_4$ (558). Ber.: C 70,92, H 7,58, N 10,04

$C_{34}H_{42}O_4N_4$ (570). „ „ 71,53, „ 7,42, „ 9,83.

Gef.: C 70,62, 70,76, H 8,02, 7,86, N 10,17, 10,21

„ „ 71,37, 71,62, „ 8,02, 7,93, „ 9,96.

0,4030 g Substanz gaben in 10,4 g Aceton eine Siedepunktserhöhung von 0,11°. Mol.-Gew. 602.

0,5286 g Substanz gaben in 7,52 g Aceton eine Siedepunktserhöhung von 0,202°. Mol.-Gew. 546.

Titration: Der Körper wurde in Alkohol in der Hitze gelöst (Dunkelfärbung); unter Anwendung von Phenolphthalein als Indikator trat schon nach einigen Tropfen $\frac{1}{10}$ -n-Natronlauge der Umschlag nach Rot ein. Gegen Lackmus war die ursprüngliche Lösung deutlich sauer, ob im Alkohol eine Umwandlung irgend welcher Art erfolgt ist, müssen wir vorläufig dahingestellt sein lassen.

Der Körper ist außerordentlich luft- und ganz besonders lichtempfindlich. In Wasser, Petroläther, Benzol, Äther, Chloroform ist er schwer, in Methyl- und Äthylalkohol mäßig, in Aceton leicht löslich. In unreinem Zustand dagegen löst sich die Substanz in fast allen genannten Lösungsmitteln spielend. In 50%iger Schwefelsäure und verdünnter Salzsäure ist sie schwer, in konzentrierter Salzsäure leicht löslich. In Soda löst sie sich ohne sichtbare Kohlensäureentwicklung, in Bicarbonat kaum. Das Natriumsalz ist relativ schwer löslich (vgl. unten). Die Ehrlichsche Aldehydreaktion ist negativ, jedoch entsteht sehr schnell, besonders im Sonnenlicht oder bei Gegenwart von Eisenchlorid, eine intensive Rotfärbung, die jedoch auch durch Salzsäure allein hervorgerufen wird. Die saure Lösung zeigt im Spektroskop drei Streifen, im Orange, Grün und Blauviolett. Bei Zusatz von Alkali schlägt die rote Farbe der Lösung in Gelb um, und spektroskopisch sind jetzt vier Streifen zu konstatieren, im Rot, Gelbgrün, Grün und Blauviolett.

Als Nebenprodukt der Gewinnung des Porphyrinogens

konnten Hämopyrrol-pikrat-Gemisch (Schmp. 112—116°) und Phonopyrrol-carbonsäure-pikrat (Schm. 157—158°) isoliert werden.

Porphyrinogen aus Hämatoporphyrin. 5 g Hämatoporphyrin wurden mit 50 ccm Eisessig, 25 ccm Jodwasserstoffsäure (spez. Gew. 1,96) und 5 g Jodphosphonium 10 Tage im zugeschmolzenen Rohr unter öfterem Umschütteln liegen gelassen. Die Lösung zeigte noch das saure Porphyrinspektrum. Der Röhreninhalt wurde in Wasser gegossen, mit 70 ccm 33%iger Natronlauge versetzt und mit Chloroform viermal ausgeschüttelt. Hierbei blieb ein großer Teil unveränderten Hämatoporphyrins (ca. 1,2 g) zurück. Die Chloroformlösung wurde in Petroläther gegossen, von dem sich ausflockendes Produkt abfiltriert und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde mit wenig Äther übergossen, der die schmierigen Anteile herauslöst, und mit Petroläther nachgewaschen. Ausbeute 0,4 g. Zur Analyse wurde aus 5 ccm Methylalkohol umkrystallisiert und das Porphyrinogen in fast farblosen Krystallen erhalten. Es sintert bei 192° plötzlich zusammen. Im Vakuum bei 60° über P_2O_5 getrocknet.

0,1580 g Substanz gaben 0,4124 g CO_2 , 0,1139 g H_2O .

0,0915 » » » 8,7 ccm H bei 15°, 716 mm Druck.

C 71,18 H 8,07 N 10,51.

Die Reduktion von Mesoporphyrin mit Eisessigjodwasserstoff und Jodphosphonium in der Kälte führt auch zum Porphyrinogen. Jedoch ist die Ausbeute minimal (1 g : 0,05) und zwar deshalb, weil die Reduktion offenbar nicht zu Ende geht; denn auch nach 10 Tagen war der Inhalt der Röhre nicht entfärbt und zeigte noch das saure Porphyrinspektrum. Überhaupt macht es den Eindruck, als ob die Reduktion des Hämins zum Porphyrinogen nicht über die Stufe des Mesoporphyrins ginge, wenigstens tritt bei der Reduktion des Hämins in der Kälte in der geschilderten Weise schon nach kurzer Zeit der Urobilinstreifen, der dem Mesoporphyrin nicht zukommt, auf. Wenn man in diesem Stadium (am 2. Tage) den Versuch unterbricht, so gelingt es wohl Mesoporphyrin nachzuweisen. Die Ausbeute erreicht aber nicht annähernd die beim Nenckischen Verfahren erzielte.

Relativ sehr glatt dagegen gelingt die Reduktion des Mesoporphyrins zum Porphyrinogen mittels Natriumamalgam, jedoch ist es notwendig, die angegebenen Mengenverhältnisse genau einzuhalten, weil sonst das schwerlösliche Natronsalz des Mesoporphyrins ausfällt und der Versuch mißlingt.

Porphyrinogen aus Mesoporphyrin mit Amalgam. 3 g salzsaures Mesoporphyrin wurden mit 180 ccm n_{10} -Natronlauge und 1200 ccm Wasser durch Schütteln auf der Maschine in Lösung gebracht, alsdann 120 g 3%iges Natriumamalgam auf einmal zugegeben und über Nacht weiter geschüttelt. Die ursprüngliche rote Farbe der Lösung war nach dieser Zeit in gelb umgeschlagen. Von dem Quecksilber, auf dem noch wenig unverbrauchtes Amalgam schwamm, trennte man im Schütteltrichter ab. Die Lösung wurde essigsauer gemacht und ca. 8 mal mit Chloroform ausgeschüttelt. Der Chloroformextrakt wurde in Petroläther gegossen, von dem ausgeflockten Körper (0,8 g) abfiltriert und im Vakuum zur Trockene eingedampft. Der in kugeligen Gebilden auskrystallisierte Rückstand wurde hintereinander mit Äther und Petroläther ausgewaschen und nach dem Trocknen im Vakuum (Ausbeute 1,2 g) aus Methylalkohol umkrystallisiert. Der so in fast farblosen, mikroskopischen Prismen erhaltene Körper stimmte in allen seinen Eigenschaften mit dem aus Hämin erhaltenen Porphyrinogen überein. Zur Analyse wurde im Vakuum bei 60° zur Gewichtskonstanz getrocknet.

0,1455 g Substanz gaben 0,3810 g CO_2 und 0,1063 g H_2O

0,1422 » » » 0,3722 » » » 0,1052 » »

0,1873 » » » 17,6 ccm N 20° , 720 mm Druck.

$\text{C}_{33}\text{H}_{42}\text{O}_4\text{N}_4$. Ber.: C 70,92, H 7,58, N 10,04

$\text{C}_{34}\text{H}_{42}\text{O}_4\text{N}_4$. » » 71,53, » 7,42, » 9,83

Gef.: » 71,41; 71,39 » 8,17; 8,28 » 10,21.

Porphyrinogen aus Mesoporphyrin mit Zinkstaub und Eisen in alkalischer Lösung. 5 g salzsaures Mesoporphyrin wurden mit 200 ccm n_{10} -Natronlauge auf dem Wasserbad erwärmt. Unter weiterem Erhitzen gab man abwechselnd konzentrierte Natronlauge und eine Mischung von 50 g Zinkstaub und 10 g feinstem Eisenpulver in kleinen Portionen zu. Drohendes Überschäumen verhindert man durch Aufspritzen von wenig

Alkohol. In der Lösung, sowie in dem Schaum befand sich ein beträchtlicher Teil des leuchtend roten Mesoporphyrinnatrium-salzes, das sich durch seine Schwerlöslichkeit der Reaktion entzieht. Nach etwa 3 Stunden wurde abgesaugt und das Filtrat mit Eisessig angesäuert, wobei eine erhebliche Abscheidung (ca. 1,5 g) (wahrscheinlich Mesoporphyrin) eintrat. Die angesäuerte Flüssigkeit wurde mit Chloroform ausgeschüttelt, der Extrakt in Petroläther gegossen, von den sich ausscheidenden amorphen Flocken filtriert und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Ausbeute 0,25 g. Aus Methylalkohol umkrystallisiert sinterte das Präparat bei 192°. Zur Analyse im Vakuum bei 60° über P₂O₅ getrocknet.

0,1070 g Substanz gaben 0,2790 g CO₂ 0,0776 g H₂O.

C 71,11 H 8,15.

Totale Reduktion mit Eisessig-Jodwasserstoff. 1,4 g Porphyrinogen wurden mit 28 ccm Eisessig übergossen; auf Zusatz von 14 ccm Jodwasserstoff (spez. Gew. 1,96) trat Lösung ein. Das Gemisch wurde nun 2 Stunden lang im siedenden Wasserbade erhitzt; nachdem Jodphosphonium bis zur Entfärbung zugesetzt war, wurden die Säuren im Vakuum abdestilliert. Der Rückstand löste sich glatt in Wasser, er wurde sodaalkalisch dreimal ausgeäthert.

Der ätherische Auszug (ca. 30 ccm) wurde mit 1 g fester Pikrinsäure versetzt. Sofort trat Pikratbildung ein, die durch Stehen in Eiswasser vervollständigt wurde. Das entstandene Pikrat wurde nach einigen Stunden abgesaugt, ausgewaschen und aus 15 ccm heißem Alkohol umkrystallisiert. Ausbeute: 0,4 g. Die Substanz zeigte starke Aldehydreaktion und schmolz unter vorherigem Sintern bei 114—115°, sie zeigte also den Schmelzpunkt eines Gemisches von Hämo- und Kryptopyrrol. Daß das Pikrat eines Dimethyläthyl-pyrrols vorlag, ergab die Stickstoffbestimmung.

0,2080 g Substanz gaben 29,9 ccm Stickstoff bei 17° und 726 mm.

C₁₄H₁₆N₄O₇. Ber.: 15,91 N. Gef.: 15,96 N.

Die ätherischen und alkoholischen Mutterlaugen wurden gemeinsam auf Phyllopyrrol untersucht, doch konnte dieses

nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden, weil die angewandte Substanzmenge zu gering war.

Die oben erwähnte, sodaalkalische Mutterlauge wurde bei schwach kongosaurer Reaktion siebenmal ausgeäthert. Der ätherische Auszug (ca. 30 ccm) wurde mit 1 g fester Pikrinsäure versetzt. Das sofort sich ausscheidende Pikrat wurde in Eis gestellt und nach einigen Stunden abgesaugt, mit Äther ausgewaschen und aus 25 ccm heißem Alkohol umkrystallisiert. Ausbeute: 0,5 g. Die Aldehydreaktion des Pikrats war stark positiv. Es zeigte den Schmelzpunkt des Pikrats der unreinen Phonopyrrolcarbonsäure (157—158°); die Stickstoffbestimmung stimmte auf das Pikrat einer Dimethylpyrrol-propionsäure.

0,1969 g Substanz gaben 25,1 ccm Stickstoff bei 16° und 725 mm.

$C_{15}H_{16}O_9N_4$. Ber.: 14,15 N. Gef.: 14,21 N.

Die vereinigten ätherischen und alkoholischen Mutterlaugen dieser Fraktion wurden von der Pikrinsäure befreit und in der üblichen Weise mit Natriumnitrit oxydiert. Die hierbei erhaltenen Krystalle (0,2 g) bestanden zur Hauptsache aus den knolligen Aggregaten des Oxims der Phonopyrrolcarbonsäure, dazwischen waren wenig wetzsteinartige Krystalle des Oxims der Isophonopyrrolcarbonsäure zu sehen. Das durch Umkrystallisieren des Gemisches aus 7 ccm Wasser erhaltene Oxim schmolz bei 231—232°.

Bleisuperoxyd-oxydation. 1,3 g Porphyrinogen wurden mit 40 ccm 50%iger Schwefelsäure übergossen, es erfolgte langsam gelbe Lösung, die nicht vollständig war. Ohne Rücksicht hierauf wurde mit 60 ccm Wasser verdünnt und allmählich unter Umrühren bei gewöhnlicher Temperatur mit 30 g Bleisuperoxyd in kleinen Portionen versetzt, hierauf wurde noch einige Zeit gerührt und über Nacht stehen gelassen. Alsdann wurde abfiltriert, ausgeäthert und der ätherische Auszug abgedunstet. Der erhaltene Rückstand wurde in sodaalkalischem Wasser gelöst, filtriert und ausgeäthert. In den Äther ging das Methyläthylmaleinimid, das durch Verdunsten des Äthers und Umkrystallisieren aus Wasser und

Alkohol in den bekannten Krystallen vom Schmelzpunkt 69—70° erhalten wurde. Der Mischschmelzpunkt mit synthetischem Produkt ergab keine Depression. Die sodaalkalische Lösung wurde angesäuert und ausgeäthert. Die so erhaltenen Krystalle wurden durch Schmelz- und Mischschmelzpunkt identifiziert als Hämatinsäure.

Einwirkung von Natriummethylat. Je 1,25 g Porphyrinogen wurden in einer Röhre mit einer Lösung von 1,8 g Natrium in 25 ccm Methylalkohol 5—6 Stunden lang auf ca. 230° erhitzt. Der Röhreninhalt zeigte rote Farbe und geringen Druck. Es wurde mit Wasserdampf abgetrieben, wobei das destillierende Pyrrol schon im Kühler erstarrte; das Destillat wurde nach dem Kühlen mit Eis abgesaugt und im Vakuumexsikkator getrocknet. Aus 2,5 g Porphyrinogen wurden so 0,2 g Phyllopyrrol vom Schmelzpunkt 67—68° erhalten.

0,1142 g Substanz gaben 10,7 ccm Stickstoff bei 14° und 722 mm.

$C_9H_{13}N$. Ber.: 10,22 N. Gef.: 10,25 N.

Bei einem anderen Ansatz wurde das Destillat ausgeäthert und das Pyrrol in das Pikrat verwandelt. Schmelzpunkt 102° (unscharf).

0,1894 g Substanz gaben 26,7 ccm Stickstoff bei 21° und 725 mm.

$C_{15}H_{18}O_7N_4$. Ber.: 15,30 N. Gef.: 15,38 N.

Die ungelöste Substanz im Destillationskolben bestand aus dem Natriumsalz des untenbeschriebenen Porphyrins. Hier von wurde abfiltriert und das Filtrat auf Trimethylpyrrolpropionsäure verarbeitet. Obgleich die Fraktion nicht unbedeutend war, konnte das Pikrat der erwähnten Säure nicht gefaßt werden.

Einwirkung von Natriumäthylat. Beim Erhitzen von 1 g Porphyrinogen mit einer Lösung von 1,4 g Natrium in 20 ccm absoluten Alkohols während 5—6 Stunden auf ca. 230° war der Röhreninhalt im Gegensatz zu den Methylatversuchen kaum gefärbt. Das Reaktionsprodukt wurde in der beim Methylatversuch angegebenen Weise verarbeitet. Bei einem Ver-

sich konnte eine geringe Menge Pikrat (0,1 g aus 1 g Porphyrinogen) vom Schmelzpunkt 83—84° bei der Basenfraktion erhalten werden. Bei einem größeren Ansatz wurde das Pikrat jedoch nur in öligem Zustand erhalten und machte den Eindruck eines Gemisches. Infolgedessen wurde von weiteren Versuchen Abstand genommen.

Mesoporphyrin aus Porphyrinogen.

I. Mittels Natriummethylat.

Das bei der Wasserdampfdestillation des Methylatversuchs im Kolben verbleibende Gemisch wurde abfiltriert und mit heißer 2,5%iger Salzsäure übergossen, kurz aufgeköcht und filtriert. Im Filtrat beginnt sofort die Abscheidung des salzsauren Mesoporphyrins, das zur Analyse bei gewöhnlicher Temperatur im Vakuum über P_2O_5 und Kaliumhydroxyd bis zur Gewichtskonstanz getrocknet wurde.

0,1779 g Substanz gaben 0,4130 g CO_2 und 0,1032 g H_2O . — 0,2822 g Substanz gaben 22,2 ccm Stickstoff bei 14° und 716 mm. — 0,2026 g Substanz gaben 0,0950 g $AgCl$ (nach Liebig).

$C_{33}H_{40}O_4N_4Cl_2$. Ber.: C 63,13, H 6,43, N 8,93, Cl 11,31.

$C_{34}H_{40}O_4N_4Cl_2$. Gef.: C 63,84, H 6,26, N 8,76, Cl 11,11.

Gef.: C 63,31, H 6,49, N 8,73, Cl 11,60.

II. Durch Luftoxydation.

0,2 g Porphyrinogen werden mit 8 ccm Wasser und 3 ccm 33%iger Natronlauge angerieben. Hierbei scheidet sich das Natriumsalz ab, das beim Verdünnen auf 80 ccm glatt in Lösung geht. Beim kurzen Durchleiten von Luft, besonders im Sonnenlicht, tritt Opaleszenz auf und sehr bald beginnt die Abscheidung des leuchtend rot gefärbten Natriumsalzes des Mesoporphyrins, die nach 24 Stunden beendet ist. Das Salz wird abfiltriert und in der oben angegebenen Weise in das salzsaure Salz (0,1 g) verwandelt. Dieses zeigt auch biologisch dieselben Eigenschaften wie das durch direkte Reduktion des Hämins erhaltene Mesoporphyrin (vgl. unten).

0,1535 g Substanz gaben 0,3597 g CO_2 und 0,0908 g H_2O .

0,1815 „ „ „ 0,0794 „ AgCl .

0,2039 „ „ „ 0,4730 „ CO_2 und 0,1204 g H_2O .

Gef.: C 63,91, 63,27, H 6,62, 6,61, Cl 10,82.

Zur Oxydation ist nicht unbedingt Alkali nötig, auch in alkoholischer Lösung läßt sich das Porphyrinogen in Mesoporphyrin überführen.

III. Mittels methylalkoholischer Kalilauge.

0,6 g Porphyrinogen und 6 g KOH werden in 20 ccm Methylalkohol gelöst und 4 Stunden lang auf 200—210° erhitzt. Auch hierbei erhält man bei gleicher Verarbeitung das salzsaure Mesoporphyrin in relativ guter Ausbeute.

Beträchtlich schlechter wird die Ausbeute, wenn man den Methylalkohol durch Äthylalkohol ersetzt oder das Porphyrinogen in alkalischer Lösung mittels Ferricyankali oxydiert.

Darstellung von Mesoporphyrin.

Piloty¹⁾ wie H. Fischer und F. Meyer-Betz²⁾ haben gleichzeitig Verbesserungen der Nencki-Zaleskischen Mesoporphyrindarstellung gegeben, die beide zu guten Mesoporphyrinpräparaten führen. Der Nachteil beider Methoden besteht jedoch darin, daß zum Umkrystallisieren sehr große Mengen Salzsäure nötig sind, besonders bei der Pilotyschen Vorschrift. Die erhaltenen Präparate sind nur rein bei fortgesetzter mikroskopischer Kontrolle, weil sich sehr leicht amorphe Massen abscheiden.

Nun gibt das Mesoporphyrin ein in verdünnter Natronlauge unlösliches Natronsalz und diese Tatsache wurde zu einer prinzipiellen Verbesserung der Methode benutzt.

Demgemäß lösen wir den beim Abstumpfen der Reduktionsflüssigkeit mit Natronlauge erhaltenen Niederschlag in sehr wenig stark verdünnter Natronlauge und fällen mit einem geringen Überschuß von konzentrierter Lauge das leuchtend

¹⁾ Berichte d. Deutsch. chem. Ges., Bd. 45, S. 2495 (1912).

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 82, S. 99 (1912) (unbeschadet der Ausbeute läßt sich hier die Menge der Jodwasserstoffsäure und des Eisessigs auf die Hälfte reduzieren).

rote Natronsalz des Mesoporphyrins aus. Nach halbstündigem Stehen wird abfiltriert, mit 1%iger Natronlauge ausgewaschen und in einem Erlenmeyerkolben Niederschlag samt Filter mit kochender 2,5%iger Salzsäure übergossen. (Bei Anwendung von 10 g Hämin ca. 500 ccm Salzsäure.) Von dem minimalen Rückstand und dem Filter filtriert man möglichst schnell ab, da sich sonst ein großer Teil des salzsauren Salzes schon vorher abscheidet.

Das salzsaure Mesoporphyrin krystallisiert aus dem Filtrat sofort in den bekannten feinen verfilzten Nadelchen, die teilweise zu Kugeln vereinigt sind, frei von amorphen Flocken bzw. Schollen aus. Es ist vollkommen rein. Die Ausbeute beträgt ca. 32% der angewandten Substanzmenge. Für die Analyse trocknet man im Vakuum über Phosphorpentoxid und Ätzkali zur Gewichtskonstanz.

0,1859 g Subst. gaben 0,4284 g CO₂ und 0,1079 g H₂O.
 0,1662 » » » 13,1 ccm N bei 16°, 720 mm Druck.
 0,1998 » » » 0,0911 g AgCl.

C₃₃H₄₀N₄O₄Cl₂ Ber.: C 63,13 H 6,43 N 8,93 Cl 11,31.
 C₃₄H₄₀N₄O₄Cl₂ » C 63,84 H 6,26 N 8,76 Cl 11,11.
 Gef.: C 62,85 H 6,49 N 8,72 Cl 11,28.

Auf dieselbe Weise wurde auch Hämatoporphyrin in Mesoporphyrin übergeführt mit einer Ausbeute von 36%. Zum Umkrystallisieren des Mesoporphyrins schlägt man zweckmäßig den Umweg über das Natronsalz ein.

Totale Reduktion des Mesoporphyrins mit Eisessig-Jodwasserstoffsäure. 15 g salzsaures Mesoporphyrin wurden mit 300 ccm Eisessig und 150 ccm Jodwasserstoffsäure (spez. Gew. 1,96) im siedenden Wasserbade erhitzt. Nach kurzer Zeit trat Lösung ein und allmählich ging die Farbe durch freiwerdendes Jod von rot nach braun über. Nach 1½ Stunden reduzierte man dieses mit Jodphosphonium, wobei die Lösung durchsichtig wurde und eine gelbrote Farbe annahm. Das Säuregemisch wurde nun im Vakuum abdestilliert und der in Wasser glatt lösliche Rückstand sodaalkalisch mit Dampf behandelt, mit dem ein farbloses nach Hämopyrrol

riechendes Öl übergig. Es wurde mit Äther aufgenommen und mit 10 g Pikrinsäure in das Pikrat verwandelt. Dieses aus 200 ccm Alkohol umkrystallisiert, schmolz bei 113—115°. Ausbeute 5,2 g.

Die alkoholische Lauge wurde mit Äther verdünnt und der Alkohol durch 5 maliges Ausschütteln mit Wasser entfernt. Diese Lösung vereinigte man mit der ätherischen Rohpikrat-Mutterlauge und entzog ihr die Pyrrole durch mehrmaliges Ausschütteln mit 25%iger Salzsäure. Die salzsauren Auszüge wurden durch 3 maliges Ausäthern von der Pikrinsäure befreit, sodaalkalisch gemacht und mit Äther ausgeschüttelt. Die ätherische Lösung wurde mit Diazobenzolsulfosäure bis zum Verschwinden der Aldehydreaktion ausgekuppelt und hierauf der Äther im Vakuum eingedampft. Bei der Dampfdestillation des Rückstandes ging eine kleine Menge Phyllopyrrol über, das im Kühler zu weißen Plättchen erstarrte. Es wurde mit 0,3 g Pikrinsäure in das Pikrat übergeführt und dieses in 3 ccm Alkohol gelöst. Beim Stehen in Eis krystallisierte ca. 0,05 g Phyllopyrrolpikrat vom Schmelzpunkt 106—107° aus. Der Mischschmelzpunkt gab keine Depression.

2 g des obigen umkrystallisierten Hämopyrrolpikrates¹⁾ wurden mit 50%iger Schwefelsäure nach der bekannten Vorschrift zerlegt, und die auf das Doppelte verdünnte schwefelsaure Lösung mit Natriumnitrit oxydiert. Dabei schied sich ein Oxim aus, das nach einmaligem Umkrystallisieren aus Wasser den Schmelzpunkt 208° zeigte, also offenbar noch ein Gemisch der beiden Oxime war. Im Vakuum über P₂O₅ getrocknet.

0,1915 g Subst. gaben 31,8 ccm N bei 19°, 727 mm Druck.

C₇H₁₀O₂N₂. Ber.: N 18,18. Gef.: N 18,31.

Die Dampfdestillationsmutterlauge wurde mit Schwefelsäure angesäuert und ausgeäthert. Beim Versetzen mit 10 g Pikrinsäure krystallisierte aus dem Äther 8,2 g Pikrat der Phonopyrrolcarbonsäure aus. Der Rest (3,2 g) wurde durch Eindampfen der Mutterlauge und Verreiben des Rückstandes mit Alkohol gewonnen.

¹⁾ Analysen der Pikrate des Hämopyrrols und der Phonopyrrolcarbonsäure, siehe I. Mitteilung, Diese Zeitschr., Bd. 82, S. 101 (1912).

Gegen Erhitzen auf 220—230° mit Methylat und Äthylat zeigte sich das Mesoporphyrin sehr resistent. Alkalisches mit Dampf destilliert ging nur bei dem Äthylatversuch eine Spur vermutlich eines Pyrrolöles über, das sich aber nicht in ein Pikrat verwandeln ließ. Im übrigen wurde das Mesoporphyrin unverändert in Form seines salzsauren Salzes in sehr guter Ausbeute (aus 1 g ca. 0,6 g) wieder gewonnen.

Einwirkung von Eisessig-Chlorwasserstoff auf Hämin.

2,5 g Hämin wurden im zugeschmolzenen Rohr mit 50 ccm bei 0° mit Salzsäure gesättigtem Eisessig $\frac{1}{2}$ Stunde lang im siedenden Wasserbade unter häufigem Umschwenken erhitzt. Hierbei ging das Hämin mit schön roter Farbe in Lösung, diese zeigte das saure Hämatoporphyrin-Spektrum. Eventuell muß man, um vollständige Lösung zu erzielen, nach dem Erhitzen noch einige Zeit gut umschütteln. Alsdann wurde die klare Lösung in 400 ccm Wasser gegossen, filtriert und das Filtrat mit 30 ccm Natronlauge versetzt. Der entstandene Niederschlag wurde abgesaugt, ausgewaschen, mit 100 ccm Wasser angerieben und mittels 4 ccm 33%iger Natronlauge in Lösung gebracht. Von dem Eisenhydroxyd wurde abfiltriert, dieses ausgewaschen und im Filtrat mittels Essigsäure das Porphyrin gefällt, das abgesaugt und gut ausgewaschen wurde. Es wurde dann sofort, ohne zu trocknen, mit 60 ccm 0,7%iger Salzsäure ca. 10 Minuten lang angerieben, abfiltriert, mit ca. 30 ccm der gleichen Salzsäure nachgewaschen und das Filtrat nach dem Versetzen mit 10 ccm konzentrierter Salzsäure im Vakuum über Schwefelsäure stehen gelassen. Beim Stehen über Nacht krystallisierten 0,35 g rotes, salzsaures Salz aus, das abgesaugt, mit 10%iger Salzsäure ausgewaschen und zur Analyse nach dem Pulvern über P_2O_5 und KOH im Vakuum getrocknet wurde. Es ist sehr hygroskopisch.

0,1878 g Substanz gaben 0,4097 g CO_2 und 0,1020 g H_2O .

0,1611 » » » 0,3582 » » » 0,0933 » »

0,1685 » » » 12,7 ccm Stickstoff bei 17° und 727 mm.

$C_{34}H_{40}O_6N_4Cl_2$ Ber. C 60,81, H 5,96, N 8,35.

$C_{33}H_{40}O_6N_4Cl_2$ » » 60,07, » 6,12, » 8,50.

Gef. » 59,50, 60,64 » 6,08, 6,48, » 8,38.

Das salzsaure Salz wurde durch Lösen in verdünnter Natronlauge und Fällen mit Essigsäure in das freie (chlorfreie) Porphyrin übergeführt. Da das amorphe Produkt nicht umkristallisiert werden konnte, wurde es so nach dem Trocknen über P_2O_5 im Vakuum bei gewöhnlicher Temperatur der Elementaranalyse unterworfen.

0,1670 g Substanz gaben 0,4115 g CO_2 und 0,0945 g H_2O .

0,1611 » » » 14,3 ccm Stickstoff bei 19^0 und 717 mm.

$C_{34}H_{38}O_6N_4$ Ber. C 69,19, H 6,40, N 9,37.

$C_{33}H_{38}O_6N_4$ » » 67,54, » 6,53, » 9,56.

Gef. » 67,20, » 6,33, » 9,65.

Das freie Porphyrin ist in Methylalkohol leicht löslich. Seine alkalische Lösung ist rotstichig, während die des Mesoporphyrins gelbstichig ist. Auch in seinem biologischen Verhalten unterscheidet sich dieses Porphyrin nicht von dem Hämatoporphyrin (vgl. unten).

Tierversuche.

A. 0,05 g Porphyrinogen wurden in 2,5 ccm $n/10$ -Natronlauge und 2,5 ccm Wasser gelöst. Die Lösung zeigte gegen Lackmuspapier stark alkalische Reaktion.

6. II. Einem weißen Meerschweinchen (kein Albino) wurden gegen 11³⁰ Uhr 1,8 ccm der Lösung injiziert. Es stand dann im diffusen Tageslicht und wurde zeitweise von der Sonne beschienen. Scheinbar Juckreiz.

11. II. Demselben Tier wurde gegen 6 Uhr eine Lösung von 0,1 g Porphyrinogen in 6 ccm $n/10$ -Natronlauge injiziert.

12. II. Belichtet mit einem Projektionsapparat von 10³⁰ bis 11³⁰ Uhr. Das Tier wurde sehr unruhig, kratzte sich beständig und zeigte das Bestreben, aus dem Licht zu kommen. Ab 11³⁰ Uhr kam es wieder in diffuses Tageslicht, es war noch sehr lebhaft, zeigte zeitweises Kratzen, doch beruhigte es sich allmählich.

13. II. Gegen 11¹⁵ Uhr wurde es in die Sonne gestellt. Sehr bald begann es sich zu kratzen, wurde sehr unruhig und sehr empfindlich bei Berührung. Es wurde bis 1 Uhr belichtet.

Gegen 4 Uhr war es noch sehr empfindlich, auch noch am 15. II., und zeigte zeitweises Zucken. Am 15. II. wurde es getötet. Bei der Sektion zeigte sich, daß weitaus der größte Teil der Substanz nicht resorbiert war. Die unveränderte Substanz war leicht durch ihr Verhalten gegen Alkohol und Salzsäure nachweisbar; für die Bildung von Porphyrin war kein Anzeichen vorhanden. Die Gallenblase war klein, ihr Inhalt schwach gelb gefärbt. Letzteres gab beim Versetzen mit Alkohol und Salzsäure eine äußerst geringe Rötung, Porphyrinogen war nicht deutlich nachweisbar.

B. 18. II. 0,05 g Porphyrinogen, in 3 ccm n_{10} -Natronlauge gelöst, einem vollkommen schwarzen Meerschweinchen von 320 g um 10²⁰ Uhr injiziert. Es wurde von 11⁰⁰—12¹⁰ Uhr in der Sonne belichtet und zeigte nur zeitweises Kratzen.

19. II. Dem schwarzen Versuchstier wurde noch einmal eine Lösung von 0,1 g Porphyrinogen in 4,5 ccm n_{10} -Natronlauge um 3³⁰ Uhr injiziert. Es wurde dann 50 Minuten lang in der Sonne belichtet, von einer Sensibilisierung war aber nichts zu sehen. Es wurde bis zum 27. II. täglich mit den anderen Tieren mitbelichtet, doch konnte auch da nichts beobachtet werden.

C. Einem weißen Meerschweinchen (277 g) mit wenig braunen Flecken wurde am 19. II. um 3³⁰ Uhr eine Lösung von 0,1 g Porphyrinogen in 4,5 ccm n_{10} -Natronlauge injiziert. Es wurde dann 50 Minuten lang belichtet und blieb vollkommen ruhig. Erst am folgenden Tage zeigte es wenige Minuten, nachdem es um 11 Uhr in die Sonne kam, starke Sensibilisation, große Unruhe und wütendes Herumspringen. Am 21. II. wurde das Tier noch einmal eine Stunde belichtet, Die Wirkung war dieselbe wie am Tage vorher, scheinbar nur etwas abgeschwächt. Am 23. II. war beim Belichten in der Sonne nichts mehr zu sehen.

D. Dem Tiere von Versuch J. wurde am 24. II. um 10³⁰ Uhr eine Lösung von 0,1 g Porphyrinogen in 4,5 ccm n_{10} -Natronlauge injiziert. Die Lösung reagierte neutral. Das Versuchstier wurde sofort eine Stunde lang in der Sonne belichtet, außer Kratzen an der Injektionsstelle war nichts Be-

sonderes zu beobachten. Am folgenden Tage stellte sich dann beim Belichten die typische Sensibilisierung mit Kratzen, Beißen und Herumspringen ein. Vom 26. II. ab verhielt es sich beim Belichten vollkommen ruhig.

E. 0,1 g Hämatoporphyrin wurden in 6 ccm $n/10$ -Natronlauge gelöst und am 17. II. um 11¹⁵ Uhr 2 ccm der Lösung einem schwarzen Meerschweinchen (380 g) mit wenig gelben Flecken injiziert. Es wurde dann zeitweise von der Sonne beschienen und kratzte sich nicht viel. Um 3 Uhr wurden ihm noch 3 ccm der Lösung injiziert. Am folgenden Tage war es sichtlich krank und kratzte sich andauernd, was es am Tage vorher nicht tat. Es wurde noch einmal von 11⁰⁰ bis 12¹⁰ Uhr in der Sonne belichtet. Starkes Ödem des rechten Augenlides, das am 20. II. auch am linken Auge auftrat. Das rechte Auge war durch eine eiterige Masse vollständig verklebt. Das Tier war schwer krank, es fraß nicht mehr und wurde getötet.

F. Einem weißen Meerschweinchen (310 g) mit gelb und schwarzen Flecken wurde am 25. II. um 10⁴⁵ Uhr eine Lösung von 0,1 g freiem (Hämato-)Porphyrin, erhalten durch Einwirkung von Salzsäure auf Hämin, in 6 ccm $n/10$ -Natronlauge injiziert. Die Reaktion der Lösung war neutral. Das Tier kam sofort in die Sonne, die nicht besonders intensiv schien, und wurde bis 12¹⁵ Uhr belichtet. Es biß und kratzte sich und machte einen kranken Eindruck. Das rechte Auge, dessen Lid im Gegensatz zum linken pigmentfrei war, war ödematös geschwollen; am andern Morgen war daran nur noch eine geringe Schwellung zu sehen. Um 10⁵⁰ Uhr kam das Tier wieder in die Sonne. Sofort begann das Kratzen wieder und das Zukneifen der Augen. Die Sensibilisierung war jetzt sehr stark und äußerte sich durch wütendes Herumspringen und Pfeifen. Belichtet wurde bis 11²⁵ Uhr. Im Kot ließ sich leicht Porphyrin mittels seiner Spektralerscheinung nachweisen. Das pigmentfreie Augenlid war stark angeschwollen, das andere nicht. Am 27. II. wurde das Tier von 10⁵⁰—12⁰⁰ Uhr belichtet, die Sensibilisierung war nicht mehr so stark wie am Tage vorher. Es zeigte Zucken und war 1. III. gegen 3 Uhr tot.

Der Gallenblaseninhalt gab mit Salzsäure eine Rotfärbung, das Spektrum der Lösung war ähnlich dem der Aldehydreaktion.

Darnach unterscheidet sich auch biologisch das mittels Salzsäure dargestellte Hämatoporphyrin in keiner Weise von dem mittels Bromwasserstoff dargestellten.

G. 0,1 g salzsaures Mesoporphyrin wurden mit 6 ccm n_{10} -Natronlauge angerieben. Das Natriumsalz hatte sich dabei teilweise ausgeschieden. Da die Lösung sauer reagierte, wurden noch 3 Tropfen 33%iger Natronlauge zugesetzt, wonach die Reaktion stark alkalisch war. Die erhaltene Suspension wurde am 20. II. einem weißen Meerschweinchen (316 g) mit wenig braunen Flecken injiziert. Es wurde dann sofort in der Sonne belichtet, von einer Sensibilisierung war nichts zu sehen. Auch am folgenden Tage war beim Belichten nichts Besonderes zu bemerken. Am 23. II. morgens war es tot. Die Ursache konnte nicht festgestellt werden.

H. Dem Meerschweinchen von Versuch C wurde am 24. II. um 10⁵⁰ Uhr ein Suspension von 0,1 g salzsaurem Mesoporphyrin mit 6 ccm n_{10} -Natronlauge injiziert. Es wurde dann sofort eine Stunde lang in der Sonne belichtet. Außer Kratzen an der Injektionsstelle war nichts Besonderes zu sehen. Auch beim Belichten an den folgenden Tagen war zeitweises Kratzen und Beißen zu bemerken, das dann beim Stehen im Schatten nachließ. Am 1. III. noch war schwache Sensibilisation zu beobachten.

J. 0,1 g des durch Luftoxydation aus dem Porphyrinogen erhaltenen salzsauren (Meso-)Porphyrins wurde mit 6 ccm n_{10} -Natronlauge angerieben (Reaktion neutral) und die Suspension am 21. II. um 12 Uhr einem weißen Meerschweinchen (375 g) mit wenig braunen und schwarzen Flecken injiziert. Das Tier kam sofort in die Sonne und wurde eine Stunde lang belichtet, wobei nichts Auffälliges zu sehen war. Am 23. II. wurde es noch einmal 1 $\frac{3}{4}$ Stunden von der Sonne beschienen, auch da war nichts zu sehen.

Das Präparat zeigte also auch biologisch die gleichen Eigenschaften wie das auf anderem Wege dargestellte Mesoporphyrin.

Am 24. II. wurde dem Versuchstier eine Porphyrinogenlösung injiziert (vgl. Versuch D).

K. Die individuellen Schwankungen der Wirkung des Mesoporphyrins gehen am deutlichsten hervor aus den beiden jetzt zu beschreibenden Tierversuchen. Versuchstier I wurde am 3. III. um 1³⁵ Uhr injiziert und am Nachmittag (von 1/2 4 bis 1/2 5 Uhr) in der Sonne belichtet. Es wurde in charakteristischer Weise sensibilisiert, wenn auch nicht so stark wie durch Porphyrinogen, mit Hämatoporphyrin garnicht zu vergleichen. Da dies das erste Mesoporphyrintier war, das deutlich sensibilisiert wurde, so wurde an demselben Tage um 6 Uhr noch ein zweites Tier mit demselben Präparat eingespritzt. Es sei das Resultat dieses Versuches gleich vorweggenommen; das Tier wurde nicht im geringsten sensibilisiert. Dabei ist hervorzuheben, daß absichtlich ein Tier mit pigmentfreien Augenlidern und einem ebensolchen Ohr ausgesucht wurde, da bei den Hämatoporphyrintieren aufgefallen war, daß immer das Augenlid, das kein Pigment hatte, sehr bald während der Belichtung ödematös anschwell.

Versuchstier I: Weißes Meerschweinchen mit wenig schwarz und gelben Flecken, 383 g. Am 3. III. um 1³⁵ Uhr wurde eine Suspension von 0,1 g salzsaurem Mesoporphyrin mit 6 ccm n¹⁰-Natronlauge injiziert. Das Tier wurde von 1/2 4 Uhr ab eine Stunde lang in der Sonne belichtet und zeigte große Unruhe mit fortgesetztem Pfeifen, offenbar hatte es Schmerzen. Das Kratzen war nicht häufiger als gewöhnlich. Allmählich beruhigte es sich. Beim Belichten an den folgenden Tagen war noch deutliche Sensibilisation zu bemerken, doch hatte sie am 6. III. schon beträchtlich nachgelassen.

Versuchstier II: Weißes Meerschweinchen mit ähnlicher Zeichnung wie Versuchstier I, 370 g. Um 6 Uhr 5,5 ccm einer Suspension von 0,1 g salzsaurem Mesoporphyrin mit 6 ccm n¹⁰-Natronlauge injiziert. Es wurde dann mit dem ersten Versuchstier zusammen täglich bis zu 2 Stunden belichtet und zeigte nicht die geringste Sensibilisation.

Zum Schluß fassen wir die Hauptergebnisse der vorliegenden Mitteilung kurz zusammen:

Das erste krystallisierte, farblose, hochmolekulare Reduktionsprodukt des Blutfarbstoffs wird beschrieben. Es geht leicht in Mesoporphyrin über und trägt daher den Namen Porphyrinogen.

Es wird erhalten I. Durch Einwirkung von Eisessigjodwasserstoff bei Gegenwart von Jodphosphonium bei gewöhnlicher Temperatur auf

- a) Hämin,
- b) Mesoporphyrin,
- c) Hämatoporphyrin.

II. Bei der alkalischen Reduktion mit Natriumamalgam bzw. Zinkstaub und Eisen aus

- a) Hämatoporphyrin,
- b) Mesoporphyrin.

Die Rückverwandlung von Porphyrinogen in Mesoporphyrin erfolgt leicht durch

- a) Natriummethylat,
- b) methylalkoholische Kalilauge,
- c) Luftoxydation neutral oder alkalisch,
- d) Ferricyankali alkalisch.

Aus Porphyrinogen wird durch Natriummethylat Phyllopyrrol abgespalten. Die totale Reduktion verläuft analog der des Hämins. Die Oxydation gibt Methyläthylmaleinimid und Hämatinsäure. Das Porphyrinogen wirkt im Tierversuch sensibilisierend.

Die Darstellungsmethode für Mesoporphyrin wird verbessert durch Reinigung über das schwer lösliche Natronsalz. Bei der totalen Reduktion des Mesoporphyrins konnte Phyllopyrrol nachgewiesen werden. Krystallisiertes Hämatoporphyrin aus Hämin ist auch durch Eisessigsalzsäure erhältlich.
