

## **Über das Kotporphyrin.**

### **II. Mitteilung über das Urinporphyrin.**

Von

**Hans Fischer.**

Mit einer Lichtdrucktafel.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität München.)  
(Der Redaktion zugegangen am 20. Oktober 1915.)

Vor einiger Zeit beschrieb ich das aus dem Harn eines Porphyrinpatienten isolierte krystallisierte Urinporphyrin sowohl im freien Zustand als in Form einiger Derivate. Die damals begonnene Untersuchung wurde fortgesetzt und insbesondere auf die Darmentleerung des Patienten ausgedehnt.

Über den Kot von Porphyrinpatienten liegen in der Literatur widerspruchsvolle Angaben vor. Manche Autoren finden, daß «Hämatoporphyrin» vorhanden ist, während andere, z. B. Nebelthau, das Vorkommen leugnen. Bei dem vorliegenden Fall hat schon Günther und auch Schumm nachgewiesen, daß im Kot dieses Patienten «Hämatoporphyrin» vorhanden ist. Ich glaube, daß in allen Fällen von Porphyrinurie Porphyrin im Kot vorhanden ist, nur kann bei oberflächlicher Untersuchung der Gehalt an Porphyrin leicht übersehen werden. Der frische Kot sieht nämlich fast wie normaler aus und erst beim längeren Liegen an Luft und Licht tritt Rotfärbung, zum Schluß Schwarzfärbung auf. Zieht man die Exkreme mit Alkohol oder Äther aus, so beobachtet man das Porphyrinspektrum höchstens angedeutet, so schwach, daß es dem ungebübten Beobachter leicht entgehen kann. Arbeitet man dagegen mit Alkohol, der mit Salzsäure gesättigt ist, so tritt sofort intensive Rotfärbung mit dem charakteristischen Spektral-

<sup>1)</sup> I. Mitteilung dieser Zeitschrift, Bd. 95, S. 34.

befund auf. Mit dieser Methode gelingt es leicht und sicher, auch recht geringe Mengen von Porphyrin im Stuhl aufzufinden, z. B. schon bei Vorhandensein von wenig Milligrammen in einer Entleerung. Schon in einem bohngroßen Stück einer solchen Entleerung kann man deutlich beim Versetzen mit Alkoholsalzsäure die Rotfärbung mit dem typischen spektroskopischen Befund beobachten. (Vergleiche experimenteller Teil Seite 173.)

Die Tatsache, daß Alkohol und Äther dem Porphyrinstuhl den gesuchten Farbstoff nicht entziehen, habe ich benutzt, um das Porphyrin aus Kot darzustellen. Mit Hilfe der beiden Lösungsmittel werden ihm zunächst alle störenden Substanzen, wie Fett, Cholesterin, «Urobilin», Lecitine, Gallensäuren usw., entzogen; den Rückstand kann man dann direkt nach der Behandlung mit Alkoholsalzsäure auf Ester verarbeiten. Noch zweckmäßiger ist es, den Rückstand vorher mit Natriumbicarbonatlösung oder ammoniakalischem Alkohol zu extrahieren. Einzelheiten im experimentellen Teil. So wurde zum erstenmal das Kotporphyrin sowohl in freiem Zustand als in Form von Derivaten krystallisiert, isoliert und zur Elementaranalyse gebracht. Wenn noch einige Angaben, hauptsächlich über die quantitativen Verhältnisse, über das Kotporphyrin der Ergänzung bedürfen, so liegt das am Materialmangel, denn bis jetzt haben mir nur 35 Stühle des Patienten zur Verfügung gestanden.

Isoliert wurde das Kotporphyrin von der Zusammensetzung  $C_{36}H_{36}N_4O_8$ , Molekulargewicht 652,33, sein komplexes Kupfersalz  $C_{35}H_{34}N_4O_8Cu$ , der Methylester  $C_{39}H_{42}N_4O_8$ , das komplexe Kupfersalz des Methylesters  $C_{39}H_{40}N_4O_8Cu$ , das komplexe Eisensalz des Methylesters  $C_{39}H_{40}N_4O_8FeCl$  und der Äthylester  $C_{42}H_{48}N_4O_8$ .

Wie angedeutet, ist sowohl in den «Salzen» des freien Porphyrins als auch den Estern das Metall komplex gebunden. Dies geht daraus hervor, daß es mit den üblichen Reagentien nicht nachweisbar ist und daß durch den Eintritt der Metalle die spektroskopischen Erscheinungen umschlagen.

Zur Charakterisierung des Kotporphyrins ist außer dem

Methylester besonders das schön krystallisierende Kupfersalz dieses Esters geeignet, weil es einen scharfen Schmelzpunkt besitzt, im Gegensatz zum Kupfersalz des Urinporphyrinmethylesters. Diese beiden können so leicht und sicher unterschieden werden.

Das Kotporphyrin habe ich auch im Urin des Porphyrinpatienten nachweisen können und es ist so gut wie sicher, daß es im Urin primär vorhanden ist und nicht etwa erst nachträglich durch Fäulnis aus dem Urinporphyrin hervorgeht; alle Versuche, das Urinporphyrin durch Fäulnis in Kotporphyrin überzuführen, sind gescheitert. Eine definitive Entscheidung über die Frage des primären Vorkommens des Kotporphyrins im Urin kann natürlich leicht getroffen werden durch Untersuchung des frischen unzersetzten Urins. In der nächsten Mitteilung hoffe ich hierüber Auskunft geben zu können.

Vergleichen wir nun die Formeln des Urin- und Kotporphyrins, so fällt sofort der Unterschied im Sauerstoff- und Kohlenstoffgehalt auf, und zwar ist das Kotporphyrin um 4 Carboxylgruppen ärmer wie das Urinporphyrin, enthält also 3 Carboxylgruppen. Außer durch die Elementaranalyse, besonders durch die Differenzen zwischen Methyl- und Äthylester, genau wie beim Urinporphyrin, wurde dies Resultat auch durch die Zeisel-Bestimmungen der Ester erhärtet. Lassen wir nun aus dem freien Urinporphyrin 7 Moleküle Kohlensäure, entsprechend den 7 Carboxylgruppen, austreten, so kommen wir zu einer 2 Hydroxylgruppen tragenden Stammsubstanz  $C_{34}H_{42}N_4O_2$  und in analoger Weise aus dem Kotporphyrin zu  $C_{33}H_{36}N_4O_2$ . Die erste Frage, die sich nun erhebt, ist natürlich die, ob wir imstande sind, beide Porphyrine von einer gemeinsamen Stammsubstanz abzuleiten. Dies ist in der Tat der Fall, und zwar ist es die Stammsubstanz des Kotporphyrins, von der sich die beiden Porphyrine und ihre Derivate ableiten. Sämtliche Analysen des Urinporphyrins und seiner Derivate (vgl. die I. Mitteilung) stimmen viel besser auf die von  $C_{33}H_{36}N_4O_2$  abgeleiteten Formeln, insbesondere fällt das Defizit im Wasserstoff gegenüber den alten Werten weg.

Das Urinporphyrin ist also:  $C_{40}H_{36}N_4O_{16}$ . Molekulargewicht 828,33, C 57,95, H 4,38, N 6,77.

Sein Äthylester:  $C_{54}H_{64}N_4O_{16}$ . Molekulargewicht 1024,56, C 63,25, H 6,30, N 5,47,  $OC_2H_5$  30,77.

Sein Methylester:  $C_{47}H_{50}N_4O_{16}$ . Molekulargewicht 926,44, C 60,88, H 5,44, N 6,05,  $OCH_3$  23,42.

Das komplexe Kupfersalz:  $C_{47}H_{48}N_4O_{16}Cu$ . Molekulargewicht 987,99, C 57,09, H 4,90, N 5,67, Cu 6,43.

Das komplexe Eisensalz:  $C_{47}H_{48}N_4O_{16}FeCl$ . Molekulargewicht 1015,72, C 55,53, H 4,76, N 5,52, Fe 5,50, Cl 3,49.

Sind damit Urin- und Kotporphyrin auf eine gemeinsame Grundlage gebracht, so fragt es sich weiter, wie sie zu Blut- und Gallenfarbstoff stehen.

Hämin hat die Zusammensetzung  $C_{31}H_{32}N_4O_4FeCl$ , sein Carboxylgruppen- und eisenfreier Stammkörper ist also  $C_{32}H_{34}N_4$  und seine Dioxyverbindung  $C_{32}H_{34}N_4O_2$ , die kaum die Stammsubstanz des Hämatoporphyrins sein kann.

Das Hämatoporphyrin besitzt die Zusammensetzung  $C_{34}H_{38}N_4O_6$ , seine Stammsubstanz ist also  $C_{33}H_{39}N_4O_4$ . Wie jedoch gleich ausgeführt wird, kann diese Stammsubstanz nicht in Betracht kommen.

Wenn man nun, ausgehend von der Stammsubstanz des Hämins, die Zusammensetzung des Kot- und Urinporphyrins und ihrer Derivate berechnet, so erhält man Zahlen, mit denen die Analysenresultate von Urin- und Kotporphyrin leidlich in Einklang gebracht werden können. Ich habe zur besseren Übersicht im experimentellen Teil diese Zahlen an zweiter Stelle mitgeteilt. (An 1. Stelle stehen die von  $C_{33}$ , an 2. Stelle die von  $C_{32}$  abgeleiteten Zahlen.)

Die experimentell gefundenen Zahlen ergeben für die Ableitung von 32 Kohlenstoffatomen verschiedentlich ein erhebliches Defizit im Kohlenstoff, und daraus geht hervor, daß die Stammsubstanz des Hämatoporphyrins (mit  $H_{38}$ ; möglicherweise aber die mit  $H_{34}$ ) auf keinen Fall zur Ableitung benutzt werden darf, da bei dieser noch wasserstoffreicheren Stammsubstanz das Defizit im Kohlenstoff noch größer werden würde. Übrigens spricht auch der in der I. Mitteilung beschriebene totale Abbau des Urinporphyrins bei der Reduktion mit Eisessig-

iodwasserstoff entschieden dagegen, indem beim Abbau des Urinporphyrins die Basenfraktion vollständig fehlt.

An 3. Stelle sind die Zahlen angeführt, die sich bei der Ableitung von Willstätters Äthioporphyrin ergeben. Hiermit sind die gefundenen Zahlen nicht in Einklang zu bringen, ich habe sie deshalb nur bei einigen Körpern angeführt.

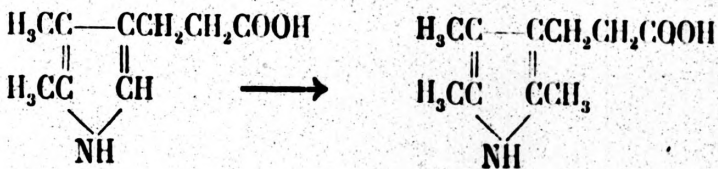
Ob sich nun Urin- und Kotporphyrin von einem Stammkörper mit 32 oder 33 Kohlenstoffatomen ableiten, ist heute noch nicht mit Sicherheit zu entscheiden. Nur auf Grund von Analysenresultaten zu urteilen, wäre verkehrt; hier kann definitive Auskunft nur der weitere chemische oder biologische Abbau bringen, den ich bereits in Angriff genommen habe. Die Untersuchung wird aber naturgemäß verzögert durch die schwierige Beschaffung des Ausgangsmaterials.

Von besonderem Interesse scheint mir die Tatsache zu sein, daß der Organismus imstande ist, an ein zweifellos kompliziert gebautes Pyrrolderivat Carboxylgruppen in relativ großer Anzahl anzugliedern. Dabei tritt gleichzeitig eine eigenartige Eigenschaft dieser Carbonsäuren auf, nämlich, sich kolloidal in Wasser zu lösen, eine Eigenschaft, die in besonders hervorragender Weise das Kotporphyrin besitzt. Dies ist offenbar der Zweck der Angliederung der Carboxylgruppen, denn so wird das zugrunde liegende Porphyrin harnfähig gemacht und wahrscheinlich gleichzeitig entgiftet. Nun besitzt ja das Urinporphyrin nicht mehr annähernd die Giftwirkung des Hämatoporphyrins oder Mesoporphyrins, was auch besonders aus den Belichtungsversuchen bei mit Urinporphyrin behandelten Meerschweinchen hervorgeht. Auch Kotporphyrin löst, subcutan Kaninchen eingespritzt, keinerlei Giftwirkung aus in einer Dosis, die bei Hämatoporphyrin schon intensiv wirkt. Übrigens ist dieses Angliedern von Carboxylgruppen zum Zwecke der Lösung und Entgiftung, soweit ich die Literatur übersehe, hier zum ersten Male beobachtet worden.

Dieser Zutritt von Carboxylgruppen hat nicht allein vom biologischen, sondern auch vom chemischen Standpunkt aus Interesse. Handelt es sich hier um eine allgemein gültige Reaktion, die dem tierischen Organismus geläufig ist? Welches

sind die Stellen, an denen die Kohlensäure eingelagert wird, und wie geschieht dies? Hierüber muß der weitere chemische Abbau Auskunft geben, und so wird vielleicht auch ein weiterer Einblick in die Konstitution des Blut- und Gallenfarbstoffs gewonnen. Möglicherweise klärt sich auch auf diesem Wege das prinzipiell verschiedene Verhalten des Blatt- und Blutfarbstoffs gegen die Alkoholate auf.

Während die Tricarbonensäuren des Chlorophylls durch Alkoholate außerordentlich leicht bis zu den Monocarbonensäuren abgebaut werden, gelingt dies beim Hämin und seinen Derivaten mit der gleichen Methode nicht, und es ist schwer anzunehmen, daß in beiden Farbstoffen die Carboxylgruppen in gleicher Weise gebunden sein sollten. Vielleicht ist beim Chlorophyll nur eine Carboxylgruppe in Form eines Propionsäurerestes vorhanden, während nur das Hämin zwei Propionsäurereste trägt. Diese Carboxyle sind resistent gegen die Einwirkung der Alkoholate, wie z. B. auch die Phonopyrrolcarbonsäure sich glatt, ohne  $\text{CO}_2$ -Abspaltung, in Phyllopyrrolcarbonsäure durch Natriummethylat überführen läßt,



während die beiden anderen Carboxylgruppen beim Chlorophyll in ähnlicher Weise wie beim Urinporphyrin gebunden sein könnten. So würde sich zwanglos das verschiedene Verhalten des Chlorophylls und Hämins beim Abbau mit Alkalien erklären. Im Sinne dieser Theorie spricht auch das Verhalten der Säurefraktion bei der totalen Reduktion des Chlorophylls, die beim Chlorophyll ein ganz anderes Verhalten zeigt wie beim Hämin.

Weiterhin erhebt sich die Frage, ob Urin- und Kotporphyrin etwa normale intermediäre Stoffwechselprodukte auf dem Wege des Abbaus vom Blutfarbstoff zum Gallenfarbstoff sind. Zunächst handelt es sich darum, welches im Organismus das primäre Produkt ist, das Urin- oder Kotporphyrin. Die Untersuchung des Harns kann natürlich über diese Frage keine Auskunft geben, da das dort vorkommende Kotporphyrin ja

vom Darm aus resorbiert und in den Urin ausgeschieden sein kann. Aber nach der Auffindung der Tatsache, daß beide Porphyrine sich von einem gemeinsamen Stammkörper ableiten, ist meines Erachtens nach sehr wahrscheinlich, daß das Kotporphyrin oder ein Porphyrin mit zwei Carboxylgruppen, in der Voraussetzung, daß der Patient das gewöhnliche Hämin mit zwei Carboxylgruppen besitzt, das primäre Produkt ist, an das dann sekundär weitere Carboxylgruppen angelagert werden. Sehr wichtig ist die Untersuchung der Galle und besonders die des Blutes des Patienten, die ich demnächst ausführen zu können hoffe. Daß das Urinporphyrin nicht das primäre Produkt ist, geht auch daraus hervor, daß es nicht gelingt, dieses auf biologischem Wege zum Kotporphyrin abzubauen. Für besonders beweisend halte ich einen Selbstversuch, den ich mit Urinporphyrin ausgeführt habe. Ich nahm dieses Porphyrin per os ein und konnte im Stuhl nur Urinporphyrin nachweisen, keine Spur von Abbau, der doch wohl eingetreten sein müßte, wenn in der Galle des Patienten Urinporphyrin zur Abscheidung gelangte und erst im Darm zum Kotporphyrin abgebaut würde, um so mehr als die Löslichkeitsverhältnisse im Darm ja für das Urinporphyrin relativ günstig sind. Natürlich muß auch dieser Versuch noch beim Porphyrinpatienten wiederholt werden und bei gleichem Ausfall dürfte er wohl beweisend sein dafür, daß im Darm das Urinporphyrin nicht abgebaut und damit das Kotporphyrin direkt im Organismus gebildet wird.

Allerdings muß hervorgehoben werden, daß es mir im Tierexperiment nicht geglückt ist, bei subcutaner Injektion Kotporphyrin in Urinporphyrin zu verwandeln. Auch dieser Versuch müßte beim Menschen ausgeführt werden, und bei negativem Resultat auch beim Porphyrinpatienten, da ja bei negativem Ausfall wie beim Tierexperiment immer noch der Einwand gemacht werden kann, daß eben nur der pathologische Mensch die Umwandlung der Porphyrine vollziehen kann. In letzterem Falle wäre dann auch gleichzeitig der Beweis geliefert, daß es sich nicht um ein normales intermediäres Stoffwechselprodukt handeln kann. In weiterer Be-

arbeitung dieser Frage habe ich normalen Urin und Kot auf Porphyrin untersucht und kann die Angaben der früheren Autoren bestätigen, daß nur Spuren von Porphyrin in den Ausscheidungen des gesunden Menschen vorhanden sind. Besonders sorgfältig habe ich den Kot untersucht, da ja hier am ehesten ein etwaiges Vorkommen hätte entgehen können, aber es sind tatsächlich nur Spuren von Porphyrin vorhanden. Daß im Tierversuch offenbar die Hauptmenge eingespritzten Kotporphyrins wieder unverändert erscheint, läßt sich kaum für die Entscheidung der eben diskutierten Fragestellung heranziehen, da ja das Tier sich an sich anders verhalten kann als der Mensch. Ich glaube, daß auch hier ein weiterer Fortschritt am sichersten durch den chemischen Abbau erzielt werden kann, wenn die näheren Beziehungen oder auch Unterschiede dieser Porphyrine zwischen Blut- und Gallenfarbstoff aufgeklärt werden.

Endlich habe ich die vergleichende spektroskopische Untersuchung der Porphyrine aus Blutfarbstoff und Urin und einiger Derivate ausgeführt. Auffallend ist die verblüffende Ähnlichkeit im spektroskopischen Verhalten der komplexen Kupfersalze. Sonst sind deutliche Unterschiede vorhanden, die bei Anwendung von schärferen Apparaten zweifellos noch mehr hervortreten werden.

Die Mikrokohlenwasserstoffbestimmungen (nach Pregl) verdanke ich wieder Herrn Dr. Lieb in Graz, ebenso einige Stickstoffbestimmungen. Diese sind erkennbar an dem höheren Barometerstand. Die Mikrophotographien I—III dieser Mitteilung hat Herr Prof. Frank mit seinem Assistenten Herrn Dr. Groß ausgeführt; ich danke beiden Herren auch hier herzlichst.

---

Nach Abschluß dieser Arbeit erhielt ich einen frischen Ballon Porphyrinurin und so wiederum neues Material an Urinporphyrin, das ich zu einem Subcutanversuch bei einem Kaninchen benützt habe. Es ergab sich das überraschende Resultat, daß hiernach im Urin des Kaninchens eine bedeutende Menge des Urinporphyrins in krystallisiertem Zustand wieder-



gewonnen werden konnte, während im Kot auch nicht eine Spur von Porphyrin nachzuweisen war.

Vergleicht man dieses Verhalten mit dem des Kotporphyrins, das ja nur zum kleinen Teil nach Einspritzung unter die Haut im Urin erschien, zum größten Teil im Kot, so kann es keinem Zweifel mehr unterliegen, daß durch die Carboxylierung, wie wir sie beim Urinporphyrin finden, dieses ideal harnfähig gemacht worden ist. Dies ist offenbar der Zweck, weshalb an das vom Eisen befreite und passend umgewandelte Hämin die Carboxylgruppen angelagert werden. Gleichzeitig ist wohl auch durch diesen Versuch bewiesen, daß das Urinporphyrin auf keinen Fall im Organismus das primäre Produkt ist, da in diesem Falle das Auftreten des Kotporphyrins beim Porphyrinpatienten völlig rätselhaft wäre. Das Kotporphyrin ist dann wahrscheinlich ein intermediäres Stoffwechselprodukt eines Porphyrins mit 2 Carboxylgruppen auf dem Wege zum Urinporphyrin. Für diese Auffassung spricht auch das Auftreten eines Porphyrins mit 4 Carboxylgruppen im Harn des Patienten.

Die Hauptaufgabe der weiteren Untersuchung wird die sein, das Porphyrin mit 2 Carboxylgruppen, das vermutlich ein intermediäres Stoffwechselprodukt auf dem Wege Hämin—Biluburin ist, durch Abbau von Urin- oder Kotporphyrin darzustellen und seine Beziehungen zum Hämin, Hämatoporphyrin und Bilirubin festzulegen.

### Isolierung des Kotporphyrins.

#### a) Als Äthylester.

Ich verarbeitete 10 Stühle des Porphyrinpatienten, die mir von Bonn, versetzt mit 90%igem Alkohol, zugesandt wurden. Die Stühle sahen braun aus genau wie normale und ich glaubte zunächst, daß überhaupt kein Porphyrin vorhanden sei. Sie wurden mit 2 l Alkohol und 1 l Eisessig zu einem homogenen Brei verrührt, was 2 Stunden dauerte. Hiernach wurde auf zwei großen Faltenfiltern abfiltriert und mit Alkohol nachgewaschen. Das Filtrat sah aus wie das von normalen

menschlichen Exkrementen und zeigte nur einen intensiven «Urobilinstreifen». Die Beschreibung der Verarbeitung erfolgt weiter unten. Als ich nun den auf dem Filter zurückgebliebenen Kot mit Alkohol, der mit Salzsäure gesättigt war, schüttelte, trat sofort intensivste Tiefrotfärbung mit dem charakteristischen Porphyrinspektrum auf. Man ließ 24 Stunden stehen unter häufigem Umschütteln, dann wurde abgesaugt und mit Alkohol ausgewaschen. Die vereinigten Alkoholauszüge wurden in einer großen Flasche mit 500 ccm Chloroform versetzt, die 4—5fache Menge Wasser zugegeben und unter Zusatz von Eis mit Natronlauge alkalisiert. Hierbei darf keine Erwärmung eintreten. Dann wurde stark geschüttelt. Es hatte sich nun scheinbar eine Emulsion durch das ganze Gefäß gebildet, trotzdem gelang das Trennen der Chloroform- und wässrig-alkoholischen Schicht ziemlich leicht durch Abhebern. Die Emulsion sitzt nämlich hauptsächlich an der Glaswand und aus dem Inneren der Flasche konnte weitaus die Hauptmenge der wässrigen Flüssigkeit ohne Schwierigkeit klar abgehebert werden. Als so nichts mehr entfernt werden konnte, wurde abgesaugt und auf diese Weise die Emulsion vollständig entfernt. Der auf dem Filter zurückgebliebene Niederschlag wurde gründlich mit Chloroform ausgezogen und dieser Chloroformauszug mit der Chloroformlösung des Filtrates zusammen verarbeitet. Auf den chloroformunlöslichen Rückstand wird später näher eingegangen.

Die Chloroformlösung wurde zunächst im Vakuum eingedampft und versucht, das Porphyrin durch heißen Äthylalkohol wie das Urinporphyrin abzuscheiden. Es schieden sich wenige Nadeln ab, die aussahen wie der Äthylester des Urinporphyrins und auch wie dieser bei 220° schmolzen. Zur Analyse war es zu wenig; deshalb wurde nun im Vakuum zur Trockene eingedampft, der Rückstand wog 6 g. Letzterer wurde nun gründlich mit Äther ausgekocht, denn so mußte ja alles störende Fett, Cholesterin und Lipide herausgehen, und in der Tat krystallisierte jetzt der Rückstand, 2 g, glatt aus Chloroformäthylalkohol, in mikroskopischen Nadeln, dazwischen waren allerdings noch vereinzelt amorphe Partikel zu er-

kennern: Ausbeute 0,35 g. Schmelzpunkt 215—220°. Bei der Behandlung mit heißem Alkohol ging der krystallisierte Ester relativ leicht in Lösung, während der amorphe Teil ungelöst zurückblieb. So erhält man nach der Filtration das Kotporphyrin frei von Beimengungen in langen schmiegsamen Nadeln. Schmelzpunkt 217—220°. Hiernach glaubte ich zunächst, daß Urin- und Kotporphyrin identisch seien, aber die Analyse entschied, daß ein sauerstoff- und kohlenstoffärmeres Produkt vorlag. Zur Analyse wurde bei 100° über Phosphorpentoxyd zur Konstanz getrocknet, ebenso alle in dieser Mitteilung angeführten Körper.

Die Substanz I enthielt 0,5% Asche; diese ist bei den Analysen abgezogen. II enthielt 0,3% Asche, auch hier ist die Asche abgezogen.

I. 4,267 mg Sbst. gaben	10,76 mg Kohlensäure und 2,67 mg Wasser.
4,638 „ „ „	11,665 „ „ „ 2,78 „ „
4,451 „ „ „	0,302 ccm N bei 23° und 731 mm Hg.
II. 4,348 „ „ „	10,925 mg Kohlensäure und 2,73 mg Wasser.
4,128 „ „ „	10,35 „ „ „ 2,55 „ „
4,300 „ „ „	0,294 ccm N bei 23,5° und 729 mm Hg.
4,185 „ „ „	nach Zeisel 4,14 mg AgJ.

$C_{42}H_{48}N_4O_8$  (Mgw. 736,42).

Ber.: C = 68,44, H = 6,57, N = 7,61,  $OC_2H_5$  = 18,34.

$C_{41}H_{46}N_4O_8$  <sup>1)</sup> (Mgw. 722,41).

Ber.: C = 68,11, H = 6,41, „ = 7,75, „ = 18,70.

Gef.: „ = 68,77, „ = 7,00.

„ „ = 68,60, „ = 6,71, „ = 7,53.

„ „ = 68,52, „ = 7,00.

„ „ = 68,38, „ = 6,91, „ = 7,54, „ = 18,98.

Der oben erwähnte Ätherextrakt, der im ganzen 4 g Substanz enthalten mußte, schied beim Stehen über Nacht nochmals 0,2 g krystallisiertes Material ab, das identisch ist mit dem eben beschriebenen Ester, nur noch verunreinigt mit amorphen Partikeln. Die Mutterlauge wurde mit 10%iger Natronlauge durch Kochen am Rückflußkühler verseift und schied dabei unlösliche Natronsalze, wahrscheinlich Seifen und gallensaure Alkalien ab. Reiner Farbstoff konnte nicht mehr isoliert werden, nach der Farbe war auch nicht mehr viel vorhanden.

<sup>1)</sup> Die Ableitung von  $C_{31}$  ist überflüssig anzugeben, da hier der C-Gehalt noch niedriger wird.

Die Mutterlauge des krystallisierten Äthylesters, in der noch 1,65 g Substanz enthalten sein mußten, wurde gleichfalls zunächst der Verseifung unterworfen und alles in allem nach einem komplizierten Verfahren nur noch 8 mg mikroskopisch reiner Krystalle isoliert werden, die bei 220° schmolzen, also ziemlich sicher reinen Kotporphyrinäthylester vorstellten.

### Verarbeitung des chloroformunlöslichen Rückstandes.

Der chloroformunlösliche Rückstand wog nicht weniger als 20,5 g und war in Alkohol, Äther und Eisessig heiß und kalt so gut wie unlöslich. Bei der qualitativen Probe erwies er sich als schwefelhaltig, und es war daher naheliegend, hier ein Eiweißderivat zu vermuten. Die Einzelheiten der zeitraubenden Untersuchung können füglich übergangen werden, weil mir trotz vieler Mühe der Nachweis von Aminosäuren nach der Hydrolyse nicht gelang. Nur noch eine geringe Menge von Kotporphyrin konnte ich in Form des schön krystallisierenden Methylesters isolieren. Schmelzpunkt unscharf bei 250°. Für künftige Darstellungen des Äthylesters wird sich auch das beim Methylester eingeschlagene Verfahren empfehlen, das, wie die Ausbeute zeigt, dem hier beschriebenen weit überlegen ist.

### Verarbeitung des essigsäuren Kotalauszuges.

Das essigsäure alkoholische Filtrat der 10 Porphyrinstühle wurde in einer großen Glasflasche mit 500 ccm Chloroform versetzt und mit viel Wasser entmischt. Nach mehreren Stunden wurde die Chloroformschicht abgetrennt und mit verdünntem Ammoniak die Farbstoffe dem Chloroform entzogen. Die ammoniakalische Lösung wurde zur Entfernung des Fettes, Cholesterins, Koprosterins, noch dreimal mit Äther ausgeschüttelt und diese Extrakte, mit obigem Chloroformextrakt vereinigt, als Koprosterinfraktion für sich behandelt. (Vgl. unten.) Die ammoniakalische Lösung wurde nach dem Ansäuern mit Eisessig mit Chloroform vollständig ausgeschüttelt, die Chloroform-

lösung im Vakuum eingedampft, der Rückstand in 10 ccm Chloroform wieder gelöst und in 500 ccm Petroläther unter Umschütteln eingetragen. Ein flockiger Niederschlag schied sich ab, der abgesaugt und mit Petroläther vollkommen ausgewaschen wurde. Der Niederschlag wurde in salzsaurem Methylalkohol aufgelöst und zeigte nur den «Urobilinstreifen». Ein Porphyrinspektrum war nicht zu erkennen. Nach 24 stündigem Stehen wurde in der üblichen Weise auf Methylester verarbeitet und zum Schluß die Chloroformlösung der Ester in siedenden Alkohol eingetragen. Da auch nach längerer Zeit keine Krystallisation erzielt wurde, dunstete man das Ganze ein, und hierbei bildete sich in grünschimmerndem Lack eine geringe Krystallisation, die gut herausgekratzt werden konnte. Diese wurde aus siedendem Methylalkohol umkrystallisiert und bildete hiernach glitzernde Nadeln vom Schmelzpunkt  $250^{\circ}$ . In Chloroform gelöst, zeigte die schön rote Lösung das neutrale Porphyrinspektrum intensiv. Offenbar lag reines Kotporphyrin vor, und es ist bemerkenswert, daß vorher im Farbstoffgemisch das Porphyrinspektrum vollkommen verdeckt war. In der Tat werden Spektralbefunde durch Beimengungen anderer Farbstoffe stark abgeschwächt, wie ich mich durch Auflösen von Bilirubin in einer Chloroformlösung von Kotporphyrin überzeuge. Die rote Farbe des Porphyrins wird fast vollständig von der gelben des Bilirubins verdeckt und die Spektralabsorption des Porphyrins ist kaum noch zu erkennen.

Die petrolätherische Mutterlauge der Farbstoffe fluorescierte intensiv grün und zeigte eine intensive Aldehydreaktion; mit Zinksalzen starke Fluorescenz und die übliche Absorption in Blauviolett. Sie wurde im Vakuum eingedampft und der Rückstand in Essigester gelöst zur Krystallisation aufgestellt. Mesobilirubinogen in krystallisiertem Zustand nachzuweisen gelang nicht.

Die Koprosterinfraktion wurde entsprechend den Angaben von Kossel und Obermüller mit Natrium in Äthylalkohol verseift und nach der Trennung von den Fettseifen nach Bondzyncki und Humnicki auf Koprosterin verarbeitet,



I.

Kotporphyrinmethylester



II.

Kotporphyrinäthylester



III.

Komplexes Kupfersalz des Kotporphyrinmethylesters



IV.

Komplexes Eisensalz des Kotporphyrinmethylesters

aber der zum großen Teil krystallisierende Rückstand nicht näher untersucht.

b) Als Methylester.

Oben ist die Gewinnung des Kotporphyrins in Form seines Äthylesters beschrieben und man kann den Methylester natürlich in analoger Weise leicht erhalten. Neuerdings habe ich jedoch ein weit besseres, viel bessere Ausbeute lieferndes Verfahren aufgefunden:

15 Stühle wurden mit Alkoholäther gründlich verrührt, dann auf ein feinmaschiges Drahtnetz (40 cm Durchmesser) gebracht und auf diesem noch viermal mit Äther<sup>1)</sup> und einmal mit Alkohol ausgedeckt, Operationen, die leicht in einem Tag ausführbar sind. Nun wird der Rückstand auf demselben Drahtnetz mit 2 l 1%iger Natriumbicarbonatlösung übergossen. Die Bicarbonatlösung läuft hellgelb ab und dunkelt dann schnell nach. Die Filtration dauert eine Nacht. Am nächsten Morgen gibt man wieder 2 l Natriumbicarbonatlösung zu, da jedoch nach 3—4 Stunden die Filtration nahezu vollkommen aufhört, so dekantiert man nach der angegebenen Zeit vorsichtig die klare Flüssigkeit und filtriert sie für sich. Den Kotschlamm behandelt man noch einmal mit 2 l 1%iger Natriumbicarbonatlösung und filtriert wieder durch das Sieb unter Berücksichtigung der obigen Angaben. Nach ca. 3 Tagen, oft dauert es auch noch länger, hat man ein vollkommen klares Filtrat. Die Zeitdauer spielt keine Rolle, da der Farbstoff als Leukoverbindung vorhanden ist, und man bei schnellerer Operation doch noch vor der weiteren Verarbeitung zum Farbstoff oxydieren müßte. Die klaren Filtrate werden nun mit Essigsäure gefällt und der voluminöse Niederschlag auf 3 Faltenfiltern abfiltriert, ein Prozeß, der 5 Tage dauert. Sämtliche Filter samt Niederschlägen werden mit Methylalkoholsalzsäure versetzt und nach 24-stündigem Stehen auf Methylester verarbeitet, die Rohausbeute (chloroformlöslicher Teil) wog 6,6 g. Durch Umkrystallisieren aus Chloroform-methylalkohol unter Verwerfen der sich teils amorph ab-

<sup>1)</sup> Da das Kotporphyrin in Äther nicht unlöslich ist, wäre zweifellos die Anwendung von Petroläther noch besser, zurzeit aber verbietet sich dieses Verfahren.

scheidenden Mengen (fortgesetzte mikroskopische Kontrolle ist unerlässlich) erhält man alles in allem 0,85 g absolut reines Produkt, das keine amorphen Bestandteile mehr enthält. Der Schmelzpunkt des reinen Produktes ist 249—250°. Eine geringe Menge Asche war noch vorhanden. Diese ist bei den Analysen abgezogen.

4,878 mg Subst.	gaben	0,353 ccm N	bei 18,5°	und	716 mm Hg.
5,200 »	»	»	0,381 »	»	19° » 716 »
4,843 »	»	»	0,353 »	»	17,5° » 715 »
3,905 »	»	»	9,563 mg Kohlensäure	und	2,229 mg Wasser.
4,507 »	»	»	0,015 mg Asche	enthaltend,	gaben 11,015 mg Kohlensäure
					und 2,63 mg Wasser.
3,982 »	»	»	gaben nach Zeisel	4,69 mg AgJ.	
4,265 »	»	»	»	»	5,12 » » , eine Bestimmung
					ergab 1,5% weniger.

$C_{30}H_{42}N_4O_8$ , Molekulargewicht = 694,38.

Ber.: C 67,40, H 6,10, N 8,07,  $3OCH_3$  13,40.

$C_{38}H_{40}N_4O_8$ , Molekulargewicht = 680,36.

Ber.: C 67,02, H 5,92, N 8,23,  $3OCH_3$  13,67.

$C_{37}H_{42}N_4O_8$ , Molekulargewicht = 670,38.

Ber.: C 66,23, H 6,32, N 8,36.

Gef.: C 66,79, H 6,39, N 7,98,  $OCH_3$  15,56 und 15,86.

» 66,88, » 6,55, » 8,06.

» 8,06.

Nach den Resultaten der Zeisel-Bestimmung wäre man versucht, eine höhere Carboxylgruppenzahl anzunehmen, jedoch berechnen sich für 4 Carboxylgruppen bereits 16,48%  $OCH_3$  und die analytischen Daten des gleich zu beschreibenden komplexen Kupfer- bzw. Eisensalzes beweisen, wie übrigens auch die Analysen des oben beschriebenen Äthylesters, daß tatsächlich nur 3 Carboxylgruppen vorliegen.

Ich ergreife hier die Gelegenheit, um auf die S. 51 der I. Mitteilung erwähnten Schwierigkeiten in den Methoxybestimmungen zurückzukommen. Vom Urinporphyrinmethylester hat Herr Dr. Lieb noch eine Anzahl Bestimmungen ausgeführt mit folgendem Resultat:

4,327 mg Substanz gaben 8,24 mg AgJ = 25,16%  $OCH_3$

3,862 » » » 7,25 » » = 24,81% »

Phenol und Essigsäureanhydrid

4,268 » » » 5,86 mg AgJ = 18,14%  $OCH_3$

nur mit Essigsäureanhydrid



4,400 mg Substanz gaben 8,05 mg AgJ = 24,17% OCH<sub>3</sub>

4,118 „ „ „ 7,42 „ „ = 23,81% „

mit Phenol und etwas Essigsäureanhydrid.

Berechnet sind 23,40% OCH<sub>3</sub>.

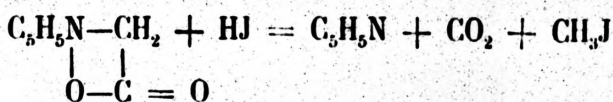
Beim komplexen Eisensalz dieses Esters ergeben sich folgende Werte:

4,140 mg Subst. gaben 6,36 mg AgJ = 20,30% OCH<sub>3</sub>  
nur mit Essigsäureanhydrid.

4,128 mg Subst. gaben 6,95 mg AgJ = 22,25% OCH<sub>3</sub>  
mit Phenol und Essigsäureanhydrid.

Berechnet sind 21,36%.

Man sieht also, daß bei Essigsäureanhydridzusatz allein die Werte zu niedrig ausfallen, während bei Zufügung von Phenol sich zu viel ergibt. Über die Ursache dieser Erscheinung läßt sich nichts Sicheres aussagen. Vielleicht zeigt sich hier teilweise ein ähnliches Verhalten wie beim Pyridinbetain, das nach Kirpal Ber. 41,819 bei der Zeisel-Bestimmung glatt Jodmethyl gibt nach der Gleichung:



Die Imidgruppen der Pyrrolkerne können allerdings nicht besetzt sein, da ja Komplexsalzbildung mit Schwermetallen glatt eintritt. Denkbar wäre aber auch die Bildung von Jodmethyl aus einer zwei Pyrrolkerne verknüpfenden Methingruppe, bei reduktiver Spaltung im Sinne der punktierten Linien:



Jedoch müßten dann auch das freie Porphyrin, Hämin und Bilirubin bei Zeisel-Bestimmungen ein positives Resultat geben, was nicht der Fall ist.

Für die aufgestellten Formeln im Verein mit den übrigen analytischen Resultaten ist jedenfalls genügende Übereinstimmung vorhanden, so daß die relativ geringen Abweichungen bei den Methoxylbestimmungen nicht in Betracht kommen.

## Komplexes Kupfersalz des Kotporphyrinmethylesters.

Das Kupfersalz wurde in der üblichen Weise durch Zusammengießen kochend heißer Eisessiglösung des genannten Esters mit Kupferacetatlösung gewonnen. Es wurde abgesaugt und mit Alkoholäther ausgewaschen. Durch Umkrystallisieren aus warmem Pyridineisessig erhält man den Körper in mikroskopischen Prismen. Im Gegensatz zum komplexen Kupfersalz des Urinporphyrinmethylesters, das bis 305° noch keinen Schmelzpunkt zeigt, schmilzt dieser Körper scharf bei 284° (korr. 285,5). Die Ausbeute ist fast quantitativ.

7,654 mg Subst.	gaben	0,510 ccm N	bei 18°	und	715 mm Hg.
5,031 »	»	0,336 »	»	»	17,5° » 715 »
4,630 »	»	0,458 mg			CuO.
4,363 »	»	9,905 g			Kohlensäure und 2,088 mg Wasser.
5,423 »	»	0,555 mg			CuO.

$(C_{30}H_{40}N_4O_8Cu)^1$	Ber.:	C 61,91,	H 5,33,	N 7,41,	Cu 8,41
	Gef.:	C 61,91,	H 5,36,	N 7,52,	Cu 7,90
				7,52,	8,17

## Komplexes Eisensalz des Kotporphyrinmethylesters.

Das komplexe Eisensalz wurde in der gleichen Weise erhalten wie das des Urinporphyrinmethylesters, das in der I. Mitteilung beschrieben wurde. Aus Chloroformäther erhält man derbe Prismen. Spektroskopisch sind 3 Streifen zu konstatieren, einer im Rot, zwei im Grün.

10,104 mg Subst.	gaben	0,636 ccm N	bei 18°	und	715 mm Hg.
5,698 »	»	0,370 »	»	»	18° » 715 »
5,221 »	»	0,497 mg			Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> .
4,231 »	»	0,425 »			»

$(C_{30}H_{40}N_4O_8FeCl)$	Ber.:	N 7,15,	Fe 7,13
	Gef.:	N 6,96,	Fe 6,66
		7,17,	7,02

## Über Nebenprodukte des Urinporphyrins; Isolierung des Kotporphyrins aus Urin.

Wie in der ersten Mitteilung ausgeführt, wurden in der Mutterlauge des Urinporphyrinmethylesters noch Nebenprodukte

<sup>1)</sup> Weitere theoretische Zahlen S. 167.

beobachtet, über die ich jetzt genauer berichten kann. Es handelt sich um das Vorkommen eines Porphyrins mit 3 und mit 4 Carboxylgruppen. Das Porphyrin mit 3 Carboxylgruppen ist das S. 161 beschriebene Kotporphyrin und mit diesem identisch, während das Porphyrin mit 4 Carboxylgruppen scheinbar nur im Urin vorkommt. Die beiden Porphyrine unterscheiden sich dadurch, daß das 3 Carboxylgruppen enthaltende bei Gegenwart von Eisessig relativ leicht in Äther geht, während das mit 4 Carboxylgruppen diese Eigenschaft kaum noch besitzt. Das Porphyrin mit 3 Carboxylgruppen ist identisch mit Kotporphyrin, das ich zuerst im Urin gefunden habe.

Die Mutterlauge des Urinporphyrinmethylesters (aus 25 l Urin) wurde zur Trockene verdampft und der Rückstand, 1 g, mit 50 ccm 10%iger Natronlauge verseift, dann wurde mit 100 ccm Eisessig stark angesäuert und ohne Rücksicht auf den sich abscheidenden Niederschlag 4 mal gründlich mit Äther extrahiert. Der stark gefärbte Ätherextrakt wurde im Vakuum eingeeengt und filtriert. Nach mehrtägigem Stehen schied sich eine prachtvoll krystallisierte Substanz ab in derben Prismen, die nunmehr in sämtlichen Lösungsmitteln außer Pyridin so gut wie unlöslich waren. In Natriumbicarbonatlösung dagegen sind sie restlos löslich. Bis 300° schmilzt der Körper nicht. Leider war er stark aschehaltig. Bei den Analysen ist die Asche abgezogen.<sup>1)</sup>

4,374 mg Sbst. gaben 0,146 mg Asche = 3,34%.

4,228           "           "           10,12   "   Kohlensäure und 2,28 mg Wasser.

4,307           "           "           0,337 ccm N bei 22° und 730 mm Hg.

$C_{36}H_{36}N_4O_8$  (652,33). Ber.: C 66,22, H 5,56, N 8,59.

$C_{35}H_{34}N_4O_8$  (638,31).           "           "           65,80,   "   5,36,   "   8,77.

$C_{34}H_{30}N_4O_8$  (628,33).           "           "           64,93,   "   5,78,   "   8,92.

Gef.:   "   65,28.   "   6,03,   "   8,70.

<sup>1)</sup> Merkwürdig ist, wie außerordentlich schwer aus Urin- und Kotporphyrin die Asche zu entfernen ist. Durch Auswaschen gelingt dies niemals, sondern nur auf dem Umweg über die Ester und auch diese, obschon in Chloroform löslich, enthalten leicht noch Asche. Bei den Chlorophyllderivaten hat übrigens Willstätter ähnliche Erfahrungen gemacht.

Ist die Übereinstimmung zwischen den berechneten und gefundenen Zahlen keine sehr gute, wie ja auch bei dem hohen Aschegehalt verständlich, so kann doch nur das Porphyrin mit 3 Carboxylgruppen vorliegen, denn für das mit 4 Carboxylgruppen =  $C_{37}H_{36}N_4O_{10}$  berechnet sich C 63,76, H 5,21, N 8,05. Außerdem ist das Kotporphyrin, wie gleich weiterhin folgt, noch auf zwei anderen Wegen aus Urin isoliert worden.

Wie schon erwähnt, fiel beim Ansäuern mit Eisessig ein Niederschlag aus, der sich bei der Extraktion mit Äther nicht löste. Dieser wurde nun abfiltriert und in der üblichen Weise in den Methylester übergeführt, der sehr schön krystallisierte und scharf bei  $240^\circ$  schmolz. Auch er enthielt eine geringe Menge Asche. Nach den Resultaten der Elementaranalyse und den Zeisel-Bestimmungen kann es keinem Zweifel unterliegen, daß hier ein Porphyrin mit 4 Carboxylgruppen vorliegt.

4,325 mg Subst. gaben 0,027 mg Asche = 0,62 %.

4,298 „ „ „ 10,38 „ Kohlensäure und 2,455 mg Wasser.

4,172 „ „ „ 0,289 ccm N bei  $24^\circ$  und 734 mm Hg.

4,165 „ „ „ 4,95 mg AgJ (nur mit Essigsäureanhydrid als Lösungsmittel).

4,160 „ „ „ 5,23 „ „ (mit Phenol und etwas Essigsäureanhydrid als Lösungsmittel).

$C_{41}H_{44}N_4O_{10}$ . Molekulargewicht 752,39.

Ber.: C 65,39, H 5,89, N 7,45,  $OCH_3$  16,48.

Gef.: „ 65,86, „ 6,39, „ 7,69, „ 15,70, 16,61.

Bei einer weiteren Verarbeitung von 25 l Porphyrinurin konnte nach Ausscheidung von 1,9 g Urinporphyrinmethylester<sup>1)</sup> aus der Mutterlauge eine zweite Krystallisation vom Schmelzpunkt  $249\text{--}250^\circ$  erhalten werden. Dies war also reiner Kotporphyrinmethylester, der nach nochmaligem Umkrystallisieren keine Veränderung des Schmelzpunktes zeigte und bei der Analyse folgende Zahlen gab:

4,417 mg Subst. gaben 10,89 mg Kohlensäure und 2,405 mg Wasser.

4,200 „ „ „ 10,36 „ „ „ 2,350 „ „

4,122 „ „ „ 0,301 ccm N bei  $21^\circ$  und 732 mm Hg.

<sup>1)</sup> In neuerer Zeit ist der Porphyringehalt des Urins des Patienten erheblich zurückgegangen. Genaue Angaben über den Porphyringehalt von Urin und Kot hoffe ich in der nächsten Mitteilung machen zu können.

4,193 mg Subst. gaben 4,13 mg AgJ (nur mit Essigsäureanhydrid).  
 4,187 „ „ „ 5,15 „ „ (mit Phenol und etwas Essigsäureanhydrid).

$C_{39}H_{43}N_4O_8$ . Molekulargewicht 694,38.

Ber.: C 67,40, H 6,10, N 8,07,  $OCH_3$  13,40.

Gef.: „ 67,24, „ 6,09, „ 8,17, „ 13,02.

„ „ 67,27, „ 6,26, „ 16,25.

Eine Probe dieses Methylesters wurde nach der Verseifung in den bei 217—220° schmelzenden Äthylester übergeführt. Es kann also keinem Zweifel unterliegen, daß hier reines Kotporphyrin, aus Urin isoliert, vorliegt.

Die eben erwähnte Mutterlauge schied beim weiteren Stehen 0,1 g schön krystallisiertes Material vom unscharfen Schmelzpunkt 240—250° ab. Wie schon der Schmelzpunkt zeigte, lag hier ein Gemisch des Porphyrins mit 3 und 4 Carboxylgruppen vor. Die Stickstoffbestimmung ergab 7,44%.

Die Substanz wurde nun in der üblichen Weise in das schön krystallisierende Kupfersalz übergeführt, das bei 277° schmolz, während das Kupfersalz des Kotporphyrinmethylesters bei 284° schmilzt. Nach den Ergebnissen der Elementaranalyse kann es sich jedoch nur um eine geringfügige Verunreinigung handeln.

4,816 mg Subst. gaben 0,440 mg CuO.

4,704 „ „ „ 0,495 „ „

4,425 „ „ „ 0,301 ccm N bei 17° und 718 mm Hg.

4,543 „ „ „ 0,304 „ „ „ 17° „ 718 „ „

4,685 „ „ „ 0,470 mg CuO, 10,665 mg  $CO_2$  u. 2,32 mg Wasser.

$C_{39}H_{40}N_4O_8Cu$ . Molekulargewicht 755,93.

Ber.: C 61,91, H 5,33, N 7,41, Cu 8,41.

$C_{38}H_{38}N_4O_8Cu$ . Molekulargewicht 741,91.

Ber.: C 61,46, H 5,16, N 7,55, Cu 8,56.

$C_{37}H_{40}N_4O_8Cu$ . Molekulargewicht 731,93.

Ber.: C 60,66, H 5,51, N 7,66, Cu 8,68.

Gef.: „ 62,08, „ 5,54, „ 7,56, „ 8,30.

„ „ „ 7,44, „ 8,40 u. 8,02.

Die Mutterlauge der abgeschiedenen 0,1 g wurde eingedunstet und versucht, direkt aus dem krystallinischen Rückstand ein Kupfersalz zu isolieren. Dies mißlang, weshalb die Gesamtmenge mit 50 ccm 10%iger Natronlauge in der üblichen

Weise verseift, darnach mit Wasser verdünnt, filtriert und dreimal alkalisch ausgeäthert wurde. Mit 100 ccm Eisessig wurde übersäuert und fünfmal ausgeäthert. Der tiefrote Ätherextrakt wurde im Vakuum eingedampft, zuletzt im siedenden Wasserbad und der Rückstand in der üblichen Weise in den Methylester übergeführt. Ausbeute an ganz einheitlich krystallisiertem Material 0,07 g. Schmelzpunkt 239—240°.

4,805 mg Sbst. gaben 0,342 ccm N bei 18° und 715 mm Hg.

Hieraus berechnet sich N 7,85, während der Tetramethylester des 4-säurigen Porphyrins 7,45 % verlangt. Kohlenstoff wurden 67,06 % und Wasserstoff 6,47 % gefunden.

Zur weiteren Identifikation wurde wiederum das Kupfersalz dargestellt. Es schmolz bei 273—274° und nach der Analyse liegt hier das komplexe Kupfersalz des Trimethylesters des 3-säurigen Porphyrins vor, wenn auch nicht in völlig reinem Zustand.

4,570 mg Sbst. gaben 0,450 mg CuO.

4,174                      > 0,279 ccm N bei 18° und 715 mm Hg.

4,079                      > 0,414 mg CuO, 9,27 mg CO<sub>2</sub> u. 2,08 mg Wasser.

3,972                      > 0,412                      > 9,025                      > Kohlensäure u. 2,03 mg Wasser.

C<sub>39</sub>H<sub>40</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub> (Cu.<sup>1)</sup> Molekulargewicht 755,93.

Ber.: C 61,91, H 5,33, N 7,41, Cu 8,41.

C<sub>41</sub>H<sub>42</sub>N<sub>4</sub>O<sub>10</sub> (Cu.<sup>2)</sup> Molekulargewicht 813,95.

Ber.: C 60,45, H 5,20, N 6,89, Cu 7,81.

Gef.: C 61,98, H 5,71, N 7,37, Cu 7,86.

                    > 61,97,                      > 5,72,                      > 8,11 u. 8,29.

In der ausgeätherten Flüssigkeit befand sich noch ein Niederschlag, der abfiltriert und verestert wurde. Verarbeitung wie üblich, Ausbeute 10 mg. Krystallisiert in radiär gestreiften dunkelroten Kugeln. Im Kapillarrohr erhitzt wird die Substanz bei 270° dünn und schmilzt ganz unscharf bei 280°; offenbar liegt ein Gemisch vor, in dem Urinporphyrinmethylester vorherrscht.

Was das Porphyrin mit 4 Carboxylgruppen anlangt, so kann natürlich der Einwand gemacht werden, daß es sich um

<sup>1)</sup> 3 Carbmethoxylgruppen, vom Stammkörper C<sub>33</sub> abgeleitet.

<sup>2)</sup> 4                      >                      >                      >                      >

ein Gemisch von Urin- und Kotporphyrin handelt. Außer der einheitlichen Krystallisation spricht jedoch der niedrigere Schmelzpunkt entschieden für das Vorliegen eines neuen Körpers, denn das Gemisch von Urin- und Kotporphyrin schmilzt, wie wir eben sahen, höher als das Kotporphyrin. Die Isolierung in reinem Zustand ist aber offenbar schwierig, denn in dem zuletzt beschriebenen Versuch hat wohl in der Hauptsache Kotporphyrinester vorgelegen.

### Darstellung des freien Kotporphyrins.

Das freie Kotporphyrin erhält man in derselben Weise wie das freie Urinporphyrin aus den zugehörigen Estern. Eine Verschiedenheit im Verhalten ist schon dadurch gegeben, daß der Kotporphyrinester sich schwerer verseifen läßt als der Ester des Urinporphyrins, jedoch ist auch hier nach einstündigem Kochen vollkommene Verseifung eingetreten.

1 g Kotporphyrinmethylester wurde mit 100 ccm 10%iger Natronlauge gekocht, bis (nach  $\frac{1}{4}$  Stunde) Lösung eingetreten war. (Beim Urinporphyrinmethylester tritt unter gleichen Bedingungen schon nach 1 Minute Lösung ein.) Zur Sicherheit wurde noch eine Stunde gekocht, dann mit Wasser verdünnt und filtriert. Nun wurde mit Essigsäure unter Vermeidung eines größeren Überschusses angesäuert und abgesaugt. Man darf nur mit wenig Wasser nachwaschen, da das so gewonnene Präparat in destilliertem Wasser glatt kolloidal löslich ist. Aus dem weiter unten beschriebenen Tierversuch geht diese Löslichkeit noch näher hervor. Natürlich kann man daher so das Kotporphyrin nicht aschefrei erhalten, auch erhält man es nicht krystallisiert. In krystallisiertem Zustand, aber ebenfalls nicht aschefrei, erhält man das Präparat, wenn man die oben erwähnte alkalische Lösung mit Eisessig übersäuert und dann das Kotporphyrin in viel Äther aufnimmt. Zwei Wege führen dann zum Ziel. Man kann den überschüssigen Eisessig durch Wasser aus der Ätherlösung herauswaschen und dann diese zur Krystallisation aufstellen. Krystalle erhält man so immer, jedoch scheiden sich leicht daneben amorphe Mengen ab. Sicherer ist es, die ätherische, Essig enthaltende Lösung im

Vakuum bei Zimmertemperatur einzudampfen und den fast nur noch Eisessig enthaltenden tief gefärbten Rückstand zur Krystallisation aufzustellen. Nach kürzerer oder längerer Zeit krystallisiert dann das Porphyrin in langen derben Prismen, aber auch nicht aschefrei, weshalb ich auch auf weitere Analysen verzichtet und mich mit den Seite 165 angegebenen Analysen zufrieden gegeben habe.

### Verschiedenheiten der Eigenschaften des Urin- und Kotporphyrins.

In den Löslichkeitsverhältnissen der reinen krystallisierten Präparate besteht kein wesentlicher Unterschied außer dem, daß das Kotporphyrin sich in Äther relativ leicht löst. Folgende Zusammenstellung soll diese Verhältnisse näher erläutern. Je 0,1 g der beiden Farbstoffe wurden mit Hilfe von 20 ccm n-Natronlauge gelöst und auf 1000 mit Wasser aufgefüllt. Die Lösung des Urinporphyrins wird mit a bezeichnet, die des Kotporphyrins mit b. Je 5 ccm der Lösungen wurden mit 5 ccm Eisessig und 5 ccm Äther versetzt. Bei a erfolgt Ausflockung sofort, ebenso wenn man die genannte Lösung auch ohne Zusatz von Äther ca. 1 Minute lang stehen läßt. Ganz anders beim Kotporphyrin, bei dem mit und ohne Äther keine Ausflockung, auch nicht nach 24stündigem Stehen erfolgt.

Noch deutlicher wird der Unterschied, wenn man die mit Eisessig und Äther versetzten Lösungen durch Zusatz von 10 ccm Wasser entmischt. Beim Urinporphyrin bleibt der Äther farblos, während beim Kotporphyrin fast der gesamte Farbstoff sich im Äther befindet.

Auch im Verhalten gegen konzentrierte Salzsäure sind beide Farbstoffe verschieden. 5 ccm Lösung a + 5 ccm rauchende Salzsäure geben eine blautichige Lösung, die auch über Nacht erhalten bleibt. Die gleiche Menge, mit 2,5 ccm rauchender Salzsäure versetzt, gibt eine rote Lösung, aus der sich über Nacht jedoch schon vereinzelte Flocken abscheiden. Bei Zusatz von 0,5 ccm rauchender Salzsäure wird die Lösung gelbrot und in kurzer Zeit tritt totale Ausflockung ein. Ganz anders beim Kotporphyrin. Dieses ist viel stärker basisch. Zusatz von



0,5 ccm rauchender Salzsäure genügen schon, um eine dauernde Lösung zu erzielen. Nur nach Zusatz von 1 Tropfen rauchender Salzsäure tritt Ausflockung ein, jedoch bewirkt schon ein Zusatz von 3 weiteren Tropfen das Entstehen einer dauernden Lösung.

Der auffallendste Unterschied zwischen Urin- und Kotporphyrin ist aber gegeben im Verhalten gegen destilliertes Wasser. Amorphe Kotporphyrinpräparate lösen sich, auch nach langem Aufbewahren im Exsikkator, leicht und restlos in Wasser auf, während beim Urinporphyrin dies nur bei frisch dargestellten Präparaten im feuchten Zustand gelingt; auch flocken kolloidale Lösungen des Urinporphyrins leicht wieder aus, während die des Kotporphyrins recht stabil sind.

#### Komplexes Kupfersalz des freien Kotporphyrins.

Dieses Salz erhält man, wenn man die konzentrierte wässerige Lösung des Kotporphyrins in eine Eisessiglösung von Kupferacetat gießt. Zunächst entsteht eine weinrote Lösung und alsbald erfolgt Krystallisation in konzentrisch angeordneten prismenförmigen Nadeln.

4,578 mg Subst. gaben 0,505 mg CuO.

4,410 » » » 0,324 ccm N bei 15° und 715 mm Hg.

$C_{36}H_{34}N_4O_8$  Cu. Mgw. 713,88. Ber.: Cu 8,90, N 7,85.

Gef.: » 8,81, » 8,07.

#### Vorkommen von Porphyrin im Urin und Stuhl des normalen Menschen.

In der Literatur findet man die Angabe, daß im normalen Urin (Hämato-)Porphyrin vorkommt, das mit dem Phosphatniederschlag mitgerissen werden soll. Ich konnte im Phosphatniederschlag meines Urins (2,5 l) kein Porphyrin nachweisen, dagegen im Filtrat.<sup>1)</sup> Der Phosphatniederschlag war erzeugt durch Zusatz von 10 ccm 33%iger Natronlauge zu 2,5-l frischem Urin. Vom schneeweißen Niederschlag, der mit salzsaurem

<sup>1)</sup> Bei Vorhandensein größerer Mengen von Porphyrin wird dieses zum Teil durch den Phosphatniederschlag mit niedergedrungen, vgl. I. Mitteilung S. 39.

Alkohol behandelt kein Porphyrinspektrum zu erkennen gab, wurde dekantiert, und das Filtrat mit Essigsäure neutralisiert. Darnach wurde 1 g Blutkohle eingerührt und zum Absitzen der Suspension 5 ccm einer konzentrierten Lösung von basischem Bleiacetat zugesetzt. Der Niederschlag wurde mit salzsaurem Alkohol behandelt, spektroskopisch waren eben die Porphyrinstreifen zu erkennen, aber es war nur so wenig vorhanden, daß ich bezweifle, ob es selbst bei Verarbeitung von 1000 l normalem Urin gelingt, Porphyrin in zur Mikroanalyse ausreichender Menge in krystallisiertem Zustand zu isolieren.

Zur Entscheidung der Frage, ob im normalen Kot ein Porphyrin vorkommt, habe ich 10 normale Kotentleerungen nach der Seite 161 beschriebenen Methode auf Porphyrinmethylester verarbeitet. Ich konnte nach der Behandlung mit Methylalkoholsalzsäure, nachdem der Kot vorher in der Seite 161 beschriebenen Weise behandelt worden war, eben das Porphyrinspektrum beobachten, wonach auch im normalen Stuhl nur Spuren dieses Körpers vorkommen und eine Isolierung wenig Aussicht auf Erfolg bietet.

#### Verarbeitung von gefaultem Urin auf Porphyrin.

5 l des Urins des Porphyrinpatienten überließ ich vom 14. 6. bis 22. 7. im Dunkeln der ammoniakalischen Gärung. Nach dieser Zeit enthielt der Urin viel Leukoverbindung, weshalb zunächst 48 Stunden lang Luft durchgesaugt wurde. Die Verarbeitung auf Methylester erfolgte dann wie üblich. Ausbeute 0,2 g schön krystallisiertes Material. Schmelzpunkt 296°. Auch die Analyse bestätigte, daß Urinporphyrinmethylester vorlag.

8,832 mg Subst. gaben 0,487 ccm N bei 19° und 716 mm Hg.

7,638 „ „ „ 0,419 „ „ „ 19° „ 716 „ „

Ber.: N 6,05.

Gef.: N 6,07; 6,04

#### Versuche, das Urinporphyrin künstlich zum Kotporphyrin abzubauen.

500 g gehacktes Fleisch wurden nach Salkowski und Neuberg zur Fäulnis angesetzt und als diese nach 2 Tagen

intensiv eingesetzt hatte, 0,9 g Urinporphyrin, in Bicarbonat gelöst, zugesetzt. Nach 8tägiger Fäulnis wurde vom ungelösten Fleisch getrennt, was nur möglich war durch Dekantieren und nachheriges Filtrieren dieser Flüssigkeit. Das Filtrieren dauerte mehrere Tage, dies schadet jedoch nichts, weil während dieser Zeit Gelegenheit gegeben ist zur Rückoxydation des Farbstoffes, der durch die Einwirkung der Fäulnis größtenteils zur Leukoverbindung reduziert wird. Übrigens wurde auch das Gesamtfäulnisgemisch vor der eben geschilderten Verarbeitung  $\frac{1}{4}$  Stunde lang gekocht zur Abtötung der Bakterien.

Das klare Filtrat wurde mit Eisessig gefällt, auf einem mit Kieselgur beschickten Filter abgesaugt und dann in der üblichen Weise in den Methylester verwandelt. Dieser kristallisierte schön und schmolz bei 289—290°,<sup>1)</sup> so daß zweifellos unveränderter Urinporphyrinmethylester vorlag. Die Analyse sicherte den Befund.

4,824 mg Subst. gaben 0,272 ccm N bei 17° und 710 mm Hg.

5,033 » » » 0,280 » » » 17° » 710 » »

$C_{47}H_{50}N_4O_{16}$  (926,44). Ber.: N 6,05.

Gef.: N 6,20 u. 6,11.

Auch in den Mutterlaugen konnte nur Urinporphyrinmethylester nachgewiesen werden.

### Versuch, durch Darmfäulnis das Urinporphyrin zum Kotporphyrin abzubauen.

Am 25. 9. wurden 0,6 g Urinporphyrin in 30 ccm Natriumcarbonat gelöst und auf 1000 ccm mit Wasser aufgefüllt. Abends 7 Uhr trank ich von dieser Lösung 100 ccm. Weder in dem während der Nacht, noch am nächsten Tage abgeschiedenen Urin waren auch nur Spuren von Porphyrin nachzuweisen, dagegen enthielt der am 26. morgens entleerte Stuhl bereits das Porphyrin. Qualitativ konnte es leicht im salzsaueralkoholischen Extrakt einer kleinen Reagenzglasprobe des Kotes nachgewiesen werden. Der Gesamtstuhl wurde zunächst 4 mal

<sup>1)</sup> Der Schmelzpunkt des reinen Esters (oft habe ich 296° angegeben) schwankt, weil er unter Zersetzung schmilzt.

mit Äther gründlich zerrieben. Der goldgelbe Extrakt zeigte spektroskopisch zwei Streifen, einen im Grünblau und einen im Blau, ein spektroskopischer Befund, wie ihn der Tomatenfarbstoff zeigt. In der Tat hatte ich am 25. 9. Tomatensalat gegessen. Ehrlichs Reagens erzeugte im Ätherextrakt intensive Rotfärbung, die nicht durch die Anwesenheit von Porphyrin bedingt war, denn beim Alkalisieren schlug die rote Farbe in reines Gelb um und der der Aldehydreaktion entsprechende Befund verschwand. Beim Eindampfen des Ätherextrakts kristallisierte ein grünrot schillernder Farbstoff, den ich nicht näher untersucht habe.

Nach der viermaligen Extraktion mit Äther wurde noch zweimal mit Alkohol und Äther behandelt, dann der Rückstand mit 100 ccm 10% iger Natriumbicarbonatlösung gründlich verrührt und hierauf mit 1000 ccm Wasser versetzt. Die so erhaltene Suspension wurde zunächst auf ein feines Drahtnetz gebracht, um den größten Schmutz zu entfernen, alsdann das Filtrat durch Papier filtriert. Die Filtration dauert 1—2 Tage, was jedoch nicht schadet, weil inzwischen sich die Oxydation zum Farbstoff vollzieht, denn auch hier ist Reduktion zur Leukoverbindung eingetreten. Der Bicarbonatextrakt wird nun mit Essigsäure gefällt und nach mehrstündigem Stehen abfiltriert. Filter samt Niederschlag wird mit Methylalkoholsalzsäure angesetzt und in der üblichen Weise auf Ester verarbeitet. Ausbeute an reinem kristallisiertem Material 6 mg, also 10% des Ausgangsmaterials. Der Schmelzpunkt lag bei 295—296° und die Substanz war aschehaltig, aber jedenfalls unterliegt es keinem Zweifel, daß hier nicht Kotporphyrinmethylester vorliegt, der ja bei 250° schmilzt.

Am 26. 9. wurden nun nach der Defäkation ab 9 Uhr stündlich je 100 ccm der Lösung geschluckt. Zum Mittagessen wurden 200 ccm getrunken und im Laufe des Tages bis abends 10 Uhr der Rest. Ab 12 Uhr schien an diesem Tage die Sonne und von 5—6 Uhr abends erfolgte intensive Bestrahlung, ohne daß irgendwelche Wirkung zu beobachten war. (Bis jetzt ist überhaupt von einer Sensibilisierung nach Einnahme per os nichts bekannt.) Im Urin konnte

auch nach Einnahme dieser relativ großen Farbstoffmenge weder am 27. noch 28. Porphyrin nachgewiesen werden, der Stuhl dagegen enthielt reichliche Mengen und wurde in der eben angeführten Weise auf Porphyrinmethylester verarbeitet. Isoliert wurden im ganzen an reinem krystallisiertem Material 0,1 g, also ca. 20%. Der Schmelzpunkt lag scharf bei 295—296° unter Zersetzung und die Analyse bestätigte, daß reiner Urinporphyrinmethylester vorlag.

4,260 mg Sbst. gaben 0,235 ccm N bei 18° und 715 mm Hg.

Ber.: N 6,05. Gef: 6,09.

Zur weiteren Sicherung des Befundes wurde ein Teil der Substanz in das schön krystallisierende komplexe Kupfersalz übergeführt. Dieses schmolz noch nicht bei 305°, wie es auch seinerzeit für das Kupfersalz des Urinporphyrinmethylesters gefunden wurde.

3,571 mg Sbst. gaben 0,187 ccm N bei 18° und 715 mm Hg.

4,399 „ „ „ 0,360 mg CuO.

$C_{17}H_{48}N_4O_{10}Cu$ . Mgw. 987,99. Ber.: N 5,67, Cu 6,43.

„ 5,77, „ 6,53.

### Verhalten von Hämatoporphyrin Nencki bei der Fäulnis.

500 g gehacktes Fleisch wurden nach der Vorschrift von Salkowski zur Fäulnis angesetzt und 1 g reines Hämatoporphyrin, gelöst in Wasser und Soda, zugesetzt. Nach 5tägiger intensiver Fäulnis wurde mit Essigsäure angesäuert, abfiltriert, der Rückstand mit Amoniak aufgeschwemmt und filtriert. Das intensiv rot gefärbte Filtrat wurde bei Gegenwart von Äther mit Eisessig angesäuert und mit ca. 1 l Äther ausgeschüttelt. Der Farbstoff geht fast quantitativ in den Äther. Die von der Emulsion vollständig befreite Ätherlösung wurde mit verdünntem Ammoniak ausgeschüttelt, die Ammoniaklösung noch zweimal ausgeäthert und dann die ca. 200 ccm betragende Lösung mit 20 ccm 30%iger Natronlauge versetzt, worauf nach kurzem Stehen ein leuchtend rotes Natronsalz ausfällt. In 1%iger Natronlauge ist dieses löslich, mithin konnte es sich nicht um Mesoporphyrin handeln. Zur weiteren Identifikation wurde

das Natriumsalz in salzsaures Salz übergeführt, das in der für das Hämatoporphyrin charakteristischen Weise krystallisierte. Die Analyse bestätigte das Vorliegen dieses Körpers.

4,343 mg Subst. gaben 0,314 ccm N bei 18° und 719 mm Hg.

$C_{34}H_{40}O_6N_4Cl_2$ . Ber.: N = 8,35. Gef.: 8,02.

Dieser schon von Nencki<sup>1)</sup> ausgeführte Versuch wurde deshalb wiederholt, weil dort kein Beweis dafür erbracht ist, daß das Hämatoporphyrin wirklich unverändert geblieben ist.

### Verhalten von Hämatoporphyrin Nencki im Organismus des Kaninchens.

Ein 3 Kilo schweres Kaninchen erhielt täglich eine schwach alkalische Lösung von 0,5 g Hämatoporphyrin subcutan. Schon nach der ersten Einspritzung fraß es nicht mehr und starb am 5. Tag, nachdem vorher starke Krämpfe, besonders der hinteren Extremitäten, aufgetreten waren.

Der Urin enthielt Blut und wenig Hämatoporphyrin. Mit Eisessig angesäuert, ging in den Ätherextrakt kein Porphyrin. Ich nahm daher an, daß möglicherweise eine Umwandlung in einen dem Urin- oder Kotporphyrin ähnlichen Körper vor sich gegangen sei, und verarbeitete daher nach dem Niederreißen des Farbstoffes mit dem Phosphatniederschlag direkt auf Ester, ohne allerdings ein Resultat zu erzielen.

Der Kot enthielt reichlich Porphyrin, das ein dem Hämato- bzw. Mesoporphyrin analoges Verhalten zeigte. Als salzsaures Salz erhielt ich das Porphyrin krystallisiert; zur Feststellung, ob es Hämato- oder Mesoporphyrin war, reichte die erhaltene Menge nicht aus. Der Versuch soll wiederholt werden, sowie wieder Kaninchen in größerer Anzahl zur Verfügung stehen.

### Verhalten von Kotporphyrin im Organismus des Kaninchens.

0,6 g freies Kotporphyrin wurden in 100 ccm destilliertem Wasser klar gelöst und einem 2 1/2 kg schweren männlichen Kaninchen im Laufe eines Tages subcutan beigebracht. An den beiden folgenden Tagen enthielt der Urin eine geringe

<sup>1)</sup> Opera omnia 2, S. 760.

Menge Porphyrin, pathologische Bestandteile waren nicht vorhanden. Irgend welche Krankheitssymptome zeigte das Tier nicht. Am 3. Tag war kein Porphyrin im Urin mehr vorhanden, dagegen zeigte der Ätherextrakt eine intensiv gelbe Färbung und das «Urobilinspektrum», offenbar war die Leukoverbindung des Kotporphyrins vorhanden. Aldehydreaktion negativ. Der Urin der beiden ersten Tage wurde mit Eisessig angesäuert und der Farbstoff mit Äther extrahiert. Hieraus ging schon hervor, daß es sich nicht um Urinporphyrin handeln kann. Dem Äther wurde mit Natronlauge der Farbstoff entzogen und nach Vertreibung des in der wässrig alkalischen Lösung vorhandenen Äthers mit Essigsäure gefällt. Der geringfügige Niederschlag wurde in üblicher Weise auf Ester verarbeitet und eine absolut einheitliche Krystallisation des Methylesters vom F. P.  $250^{\circ}$  erzielt. Es kann somit keinem Zweifel unterliegen, daß das Kotporphyrin unverändert ausgeschieden worden ist.

1,745 mg Subst. gaben 0,129 ccm N bei  $18^{\circ}$  und 719 mm Hg.

Ber.: N 8,07. Gef.: N 8,20.

Der Kot des Kaninchens von 5 Tagen wurde in der schon oft beschriebenen Weise auf Porphyrin verarbeitet. Hier war weitaus die Hauptmenge vorhanden und es gelang unschwer, nach den oben angegebenen Vorschriften krystallisierten Ester abzuscheiden, der sich als Kotporphyrinester erwies. F. P.  $250^{\circ}$ .

4.818 mg Subst. gaben 0,341 ccm N bei  $20^{\circ}$  und 719 mm Hg.

Ber.: N 8,07. Gef.: N 7,85.

### Verhalten des Urinporphyrins im Organismus des Kaninchens.

1 g freies Urinporphyrin wurde in 15 ccm 10%iger Bicarbonatlösung gelöst, mit Wasser auf 50 ccm aufgefüllt und am 20. 10. einem Kaninchen im Laufe des Tages subcutan eingespritzt. Zum Versuch diente dasselbe Tier, das in dem eben beschriebenen Versuch für das Kotporphyrin benützt worden war. Trotz der großen Dosis, die bei Hämatoporphyrin schon schwere Gifterscheinungen auslöst, war bei dem Tier nichts zu bemerken, es fraß ruhig weiter.

Am 21. 10. war der mit dem Katheter entleerte Urin tief burgunderrot, das vierbandige Porphyrinspektrum intensiv. Aus dem weder Eiweiß noch Zucker enthaltenden Urin wird der Farbstoff durch Essigsäure vollkommen ausgefällt. Eine Probe des so behandelten Urins wurde mit Äther ausgeschüttelt, wobei das Lösungsmittel sich auch nicht in Spuren anfärbte, ein Beweis dafür, daß kein Kotporphyrin vorhanden ist. Durch Abfiltrieren wurde der Farbstoff gewonnen und in üblicher Weise der krystallisierte Methylester in konzentrisch vereinigten Nadeln gewonnen. Ausbeute an krystallisiertem Material 0,072 g. F. P. 292°.

6,043 mg Subst. gaben 0,324 ccm N bei 20° und 719 mm Hg.

Ber.: N 6,05.

Gef.: > 5,90.

Der vom Farbstoff befreite Urin dunkelte sichtlich nach und zeigte nach mehrstündigem Stehen wiederum das Porphyrinspektrum, ein Beweis dafür, daß auch hier Leukoverbindung vorhanden war.

22. 10. Der mit Katheter entnommene Urin enthielt so viel Farbstoff, daß er erst nach Verdünnen mit Wasser spektroskopisch untersucht werden konnte. Kein Eiweiß, kein Zucker, Verarbeitung wie oben. Ausbeute an reinem, schön krystallisiertem Methylester 0,3 g. Schmelzpunkt 292°.

4,044 mg Subst. gaben 0,226 ccm N bei 16° und 719 mm Hg.

Ber.: N 6,05.

Gef.: > 6,21.

Im Filtrat war auch hier wie in der Folgezeit Leukoverbindung vorhanden.

23. 10. Urin enthält bedeutend weniger Farbstoff, nur noch einige Milligramm, weshalb auf die Isolierung verzichtet wurde.

An diesem Tage wurde sämtlicher, bisher abgeschiedener Kot untersucht, und es ergab sich das überraschende Resultat, daß keine Spur von Farbstoff im Kot vorhanden war. Ich begnügte mich dabei nicht mit der Untersuchung einiger Stuhlproben, sondern verarbeitete außerdem den Gesamtkot auf Porphyrin, konnte aber keine Spur nachweisen. Damit ist der



sichere Beweis erbracht, daß das Kotporphyrin oder ein anderes Porphyrin das primäre Produkt ist, das durch Carboxylgruppenanlagerung harnfähig gemacht wird. Kotporphyrin kann unmöglich das sekundäre Produkt sein, da das Urinporphyrin gar nicht in den Kot gelangt.

24. 10. Urin braungelb, spektroskopisch sind nur noch 2 Streifen zu konstatieren, ein Beweis dafür, daß nur noch wenig Porphyrin vorhanden ist.

25. 10. Urin enthält noch eben deutlich nachweisbar Farbstoff.

26. und 27. 10. Gleicher Befund im Urin.

Der Kot vom 23. bis 27. wurde wiederum in Einzelproben auf Porphyrin mit negativem Erfolg untersucht und dann die Gesamtmenge auf Porphyrin verarbeitet. Es konnte nichts nachgewiesen werden.

28. und 29. 10. Urin enthält noch immer Spuren von Farbstoff. Besonders bemerkenswert ist die sich lang hinziehende Ausscheidung des Farbstoffes, die beweist, daß Spuren von Farbstoff genügen, um durch den Urin ausgeschieden zu werden, im Gegensatz zu Kot- und Hämatoporphyrin, bei denen der Übergang in den Urin nur bei Eingabe großer Mengen erfolgt und bei Aussetzung der Eingabe alsbald verschwindet.

1. 11. Porphyrin ist nicht mehr nachweisbar.

### Vergleichende spektroskopische Untersuchung der Porphyrine des Blutfarbstoffes, des Urins, des Kotes und einiger ihrer Derivate.

Die spektroskopische Untersuchung wurde mit einem Zeißschen Handspektroskop mit beigefügter Wellenlängenskala ausgeführt. Wenn die D-Linie auf 589 eingestellt wurde, so ergab sich

B	680	statt	686,7
C	650		656
D	589		589
E	526		527
F	487		486
G	433		431.

Bei der Kleinheit des Apparates liegen die erhaltenen Differenzen wohl innerhalb der Fehlergrenzen, auch kommen für meine Zwecke ja nur die Vergleichszahlen in Betracht. Die stärkeren Abweichungen im Rot sind bedingt durch die starke Verkürzung des Spektrums. Wo nichts Näheres über Schichtdicke angegeben ist, betrug diese 11 mm.

### Hämatoporphyrin.

0,1 g salzsaures Salz wurden in 20 ccm  $\frac{1}{10}$ -Natronlauge gelöst und auf 1000 ccm mit Wasser aufgefüllt. (Deutliche Fluorescenz.) Von dieser Lösung wurden 10 ccm mit 1 ccm konzentrierter Salzsäure versetzt. Es ergab sich dann

- I. 595—585 intensiv.
- II. 570—565 schwach.
- III. 556—540 intensiv.

10 ccm der Originallösung wurden mit 1 ccm 33%iger Natronlauge versetzt. Dies geschah, weil die oben erhaltene Lösung neutral reagierte und bei der vergleichenden Untersuchung der Porphyrine geringfügige Schwankungen um die Neutralität herum schwer zu vermeiden gewesen wären. Es ergab sich dann

- |  |   |  |
|--|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>I. 622—610</li> <li>II. 580—562</li> <li>III. 545—535</li> <li>IV. 520—500</li> </ul> | } | alle deutlich ausgebildet, Lösung hellrot. |
|--|---|--|

### Mesoporphyrin.

0,1 g salzsaures Salz wurden mit Hilfe von 20 ccm  $\frac{1}{10}$ -Natronlauge und viel Wasser gelöst und auf 1000 ccm aufgefüllt (starke Fluorescenz). 10 ccm dieser Lösung wurden mit 1 ccm konzentrierter Salzsäure versetzt.

- I. 595—585 intensiv,
- II. 570—565 schwach.
- III. 556—540 intensiv.

10 ccm der Originallösung mit 1 ccm 33%iger Natronlauge versetzt.

- |  |   |   |
|--|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>I. 630—620</li> <li>II. 590—568</li> <li>III. 553—540</li> <li>IV. 525—500</li> </ul> | } | <p>Streifen sind intensiver ausgebildet wie bei dem analogen Hämatoporphyrinversuch. Jedoch muß hervorgehoben werden, daß hier nur eine Suspension des Mesoporphyrinnatriumsalzes untersucht wurde, indem nach dem Zusatz von Natronlauge sofort das Natriumsalz des Farbstoffes ausfiel.</p> |
|--|---|---|

### Urinporphyrin.<sup>1)</sup>

Lösung wie oben 1 : 10000. (Intensive Fluorescenz.) Im Liter sind 50 ccm  $\frac{1}{10}$ -Natronlauge enthalten. Zu 10 ccm der Lösung wurden einmal 1 ccm konzentrierte Salzsäure zugesetzt, das andere Mal 1 ccm 33% iger Natronlauge.

- I. 595—586 intensiv.
- II. 575—565 schwach.
- III. 557—540 intensiv.

- |  |   |   |
|--|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>I. 610—605</li> <li>II. 580—570</li> <li>III. 545—535</li> <li>IV. 510—500</li> </ul> | } | <ul style="list-style-type: none"> <li>II. und III. sehr deutlich ausgebildet, I. schwächer.</li> <li>IV. sehr undeutlich.</li> </ul> |
|--|---|---|

### Kotporphyrin.

1 : 10000. Im Liter 35 ccm  $\frac{1}{10}$ -Natronlauge. Die Lösung ist farb-schwächer wie die des Urinporphyrins. (Fluorescenz deutlich.) 10 ccm mit 1 ccm konzentrierter Salzsäure versetzt.

- I. 595—585 intensiv,
- II. 572—565 schwach,
- III. 555—539 intensiv.

10 ccm mit 1 ccm 33% iger Natronlauge.

- |  |   |   |
|--|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>I. 618—610</li> <li>II. 580—560</li> <li>III. 545—535</li> <li>IV. 510—500</li> </ul> | } | <ul style="list-style-type: none"> <li>Streifen nur schwach ausgebildet, besonders IV. Auf die Ursache dieser Abschwächung wird demnächst näher eingegangen.</li> </ul> |
|--|---|---|

Die nun folgenden Körper wurden sämtliche in Pyridinlösung untersucht, in einer Konzentration von 1 : 10 000. Schichtdicke, wenn nichts angegeben, 11 mm.

### Kupfersalz des Mesoporphyrindimethylesters.

- |   |   |                       |
|---|---|-----------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>I. 580—560</li> <li>II. 545—520</li> </ul> | } | I. intensiver wie II. |
|---|---|-----------------------|

### Kupfersalz des Kotporphyrinmethylesters.

- |   |   |           |
|---|---|-----------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>I. 580—560</li> <li>II. 545—520</li> </ul> | } | wie oben. |
|---|---|-----------|

<sup>1)</sup> Ich beabsichtige, gelegentlich Urin- und Kotporphyrin mit empfindlichen Apparaten zu untersuchen, um festzustellen, ob hier nicht auch gesetzmäßige Verschiebungen durch den Eintritt von Carboxylgruppen zu finden sind, wie sie G. Krüß bei den Fluoresceinen nach Eintritt von B-om- bzw. Nitrogruppen konstatiert hat.

## Kupfersalz des Urinporphyrinmethylesters.

I. 580—560 }  
 II. 545—520 } wie oben.

Hämin.<sup>1)</sup>

I. 575—555 }  
 II. 540—520 } II. stärker wie I.

## Mesohämin.

I. 565—540 }  
 II. 530—510 } II. stärker ausgebildet wie I.

## Eisensalz des Urinporphyrinmethylesters.

I. Schatten bei 630,  
 II. 595—575 etwas deutlicher,  
 III. 560—550 intensiv.

## In 5 cm Schichtdicke.

I. 635—625 intensiv,  
 II. 600—575 deutlich. Ab 570 nach rechts alles ausgelöscht.

<sup>1)</sup> Der Streifen bei 630 ist hier wie auch beim Mesohämin erst bei stärkerer Konzentration sichtbar.