

# Über die Giftigkeit, die sensibilisierende Wirkung und das spektroskopische Verhalten der natürlichen Porphyrine. Abbau des Urinporphyrins zum Kotporphyrin.

Von

Hans Fischer.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität München.)

(Der Redaktion zugegangen am 1. März 1916.)

Vor einiger Zeit gelang mir<sup>1)</sup> die Reindarstellung der Porphyrine aus Urin und Kot eines an Porphyrinurie Leidenden, worauf ich ihre analytische Zusammensetzung feststellte.

Das Urinporphyrin entspricht der Formel  $C_{40}H_{36}N_4O_{16}$ ,  
die des Kotporphyrins ist  $C_{36}H_{36}N_4O_8$ .

Beide Körper unterscheiden sich durch die Anzahl der in ihnen vorhandenen Carboxylgruppen; während das Urinporphyrin sieben besitzt, kommen dem Kotporphyrin nur drei zu. Zieht man von beiden Körpern die Carboxylgruppen ab, so gelangt man zu einer gemeinsamen Stammsubstanz, die noch zwei Sauerstoffatome enthält. Schon hiernach war es sehr wahrscheinlich, daß ein enger Zusammenhang zwischen Urin- und Kotporphyrin bestünde. Es ist mir nun gelungen, den exakten Beweis für die Verwandtschaft der beiden Körper zu erbringen dadurch, daß dem Urinporphyrin 4 Carboxylgruppen entzogen werden konnten. Man erhält dann das Kotporphyrin, womit der Zusammenhang der beiden natürlichen Porphyrine bewiesen ist.

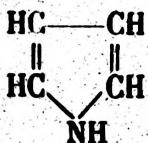
In der II. Mitteilung über die Porphyrine habe ich die Gründe angeführt, warum das Kotporphyrin das im Organismus primär entstehende Produkt ist, das dann sekundär durch Carboxylierung in das Urinporphyrin übergeführt wird. Es

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr., Bd. 95, S. 34 und Bd. 96, S. 148.

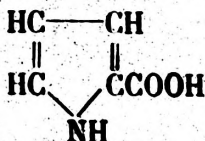
handelt sich hierbei um die Durchführung einer Synthese, wie sie bis jetzt im Organismus noch nicht beobachtet worden ist. Die einwandfreie Feststellung der Eintrittsstellen der Carboxylgruppen in die Porphyrinmoleküle ist wichtig und ich werde nach Ermittlung dieser auf die für den intermediären Stoffwechsel sich ergebenden Schlußfolgerungen und Fragestellungen näher eingehen.

Es liegt nun nahe, diese Carboxylierung als einen Versuch des Organismus zu deuten, eine Entgiftung und bessere Ausscheidungsmöglichkeit zu erzielen.

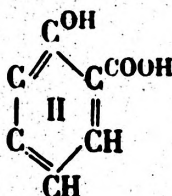
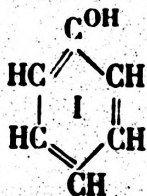
Daß beide Eigenschaften durch den Eintritt von Carboxylgruppen bewirkt werden, ist eine pharmakologisch, bezw. chemisch feststehende Tatsache. So ist das Pyrrol



nach Ginzberg giftig, während die Pyrrol- $\alpha$ -Carbonsäure



fast ungiftig ist. Der gleiche Gegensatz besteht zwischen Phenol (I) und Salicylsäure (II).



und ließen sich diese Beispiele beliebig vermehren.

Auch beim Urinporphyrin ist durch den Eintritt der Carboxylgruppe eine Entgiftung in weitgehendem Maße erfolgt, das Kotporphyrin ist zweimal so giftig wie das Urinporphyrin, aber weniger giftig als Hämatorphyrin. Auch hier geht entsprechend dem Meyer-Overtonschen Gesetz die Wirkung parallel der Löslichkeit in Äther, denn das Urinporphyrin ist im Gegensatz zu Kotporphyrin in Äther unlöslich.

Diese Giftigkeitsfeststellung wurde bei Mäusen, Durchschnittsgewicht 15 g, vorgenommen und gilt nur für den Auf-

enthalt der Tiere im Dunkeln. Bei der Belichtung stellt sich interessanterweise gerade das Gegenteil heraus. Im Lichte ist das Urinporphyrin für weiße Mäuse viel giftiger wie das Kotporphyrin (näheres im experimentellen Teil) und scheint als Sensibilisator für die weiße Maus nicht viel hinter Hämatorphyrin zurückzustehen. Auffallend ist die starke Rötung der Schwänze, Ohren und Schnauzen der Urinporphyrintiere — bei den Kotporphyrintieren ist die Erscheinung weniger stark ausgeprägt — bei Belichtung, während im Dunkeln bei geringer Dosierung diese Erscheinung nicht auftritt.

Bei großen Dosen von Urinporphyrin beobachtet man bei weißen Mäusen auch im Dunkeln allgemeine Rötung der gesamten Körperoberfläche, die besonders sich an den unbehaarten Partien, den Ohren, Schwänzen und Schnauzen, bemerkbar macht und am stärksten das knorpelige Gerüst der Ohren befällt. Es kann sich hier nicht allein um eine Hyperämie handeln, denn auch nach dem Tode der Tiere bleibt diese Rötung bestehen, vielmehr besitzt der Farbstoff offenbar eine besondere Affinität zu diesen Geweben, wie sie auch bei anderen Farbstoffen vorkommt, und am bekanntesten bei den sogenannten «Eosinschweinen» beobachtet ist. Besonders bemerkenswert ist die Ablagerung des Farbstoffes in den Ohrknorpeln, denn auch bei meinem Porphyrinpatienten sind die Knochen eine Ablagerungsstätte für den Farbstoff, wie Günther zuerst gefunden hat und ich bestätigen kann.

Hervorzuheben ist, daß auch bei den Porphyrinpatienten am stärksten Ohren, Nase und Finger in Bezug auf Lichtkrankheit betroffen sind, die Stellen, an denen die Knochen relativ am oberflächlichsten liegen.

Beide Porphyrine wirken, wie ausgeführt, stark sensibilisierend auf weiße Mäuse, während v. Kemnitz und ich früher gefunden hatten, daß Paramäcien von Urin- und Kotporphyrin im Licht nicht beeinflußt werden. Hämatorphyrin und besonders Mesoporphyrin lösen hingegen intensive Wirkung<sup>1)</sup> aus.

<sup>1)</sup> W. Hausmann, Über die sensibilisierende Wirkung der Porphyrine. Biochem. Zeitschr., Bd. 67, S. 310. Vgl. auch Fischer und Kemnitz, Diese Zeitschr., Bd. 96, S. 309.



Dieser Befund ist sehr auffallend; ich untersuchte daher auch rote Blutkörperchen auf ihr Verhalten gegen die natürlichen Porphyrine und konnte ebenfalls keine Einwirkung konstatieren. Sowohl Blutkörperchen des Patienten selbst als auch Rinderblutkörperchen wurden verwandt, da immerhin die Möglichkeit gegeben war, daß die Blutkörperchen des Patienten eine erhöhte Resistenz gegen die Einwirkung dieser Stoffe erlangt hätten.

Nach der Feststellung, daß die natürlichen Porphyrine im Licht und im Dunkeln Tiere krank machen können, steht der Erklärung der Entstehung der Krankheitssymptome bei der Porphyrinurie durch die Farbstoffe nichts mehr im Wege, während es bisher nicht ausgeschlossen war, daß die bei Patienten durch Magnus Möller,<sup>1)</sup> Ehrmann,<sup>2)</sup> Linser<sup>3)</sup> und Günther<sup>4)</sup> auch experimentell nachgewiesene Lichtempfindlichkeit nicht etwa durch andere Ursachen bedingt sei. Diese Möglichkeit war umsomehr vorhanden, als Fälle von Porphyrinurie beschrieben worden sind, die nicht auf Licht reagieren, und Lichtkrankheiten vorkommen, die bestimmt nicht durch Porphyrine hervorgerufen werden.

Gelegentlich der Untersuchung der Giftwirkung von Urin und Kotporphyrin fand ich auch, daß Mesoporphyrin viel ungiftiger ist wie Hämatoporphyrin und was das interessanteste ist, daß Mesoporphyrin im Urin und Kot höchstens in Spuren erscheint, bei Dosen, die bei Hämatoporphyrin jedesmal ein Erscheinen des Farbstoffes in den Exkrementen bedingen. Dies ist sehr auffallend — der Gedanke, daß Mesoporphyrin im Organismus umgesetzt wird, liegt nahe — und ich gedenke diese Beobachtung weiter zu verfolgen.

Endlich teile ich die spektroskopischen Werte der natürlichen Porphyrine und ihrer Ester mit. Zur besseren Übersicht führe ich auch die mit Hämatoporphyrin und Mesoporphyrin unter den gleichen Bedingungen vorgenommenen Messungen an.

<sup>1)</sup> Der Einfluß des Lichtes auf die Haut. Stuttgart 1900.

<sup>2)</sup> Archiv für Dermatol. und Syphilis, 1909.

<sup>3)</sup> Ibid. 1906.

<sup>4)</sup> Dtsch. Arch. f. klin. Med., Bd. 105.

<sup>5)</sup> Rodelius und Schumm, Zeitschr. f. urologische Chirurgie, Bd. 3, S. 118.



Hiernach kann es keinem Zweifel unterliegen, daß man Urinporphyrin, wie Kotporphyrin leicht von Hämatorporphyrin unterscheiden kann.

Ich benützte zu den Messungen das einfache Spektroskop von Steinheil, ein relativ empfindliches Instrument, das mir Herr Prof. Friedrich von Müller in liebenswürdiger Weise zur Verfügung stellte. Es erscheint mir nicht wahrscheinlich, daß mit noch schärferen Instrumenten genauere Werte erzielt würden, da es sich bei diesen Farbstoffen um Messungen von Bändern mit mehr oder weniger verwaschenen Begrenzungen handelt. Auffallend ist die alkalische Spektralerscheinung des Kotporphyrins. Abgesehen davon, daß sie ein Band weniger zeigt wie das Urinporphyrin, verschwindet der erste und letzte Streifen bei geringerer Konzentration vollständig. Entweder ist dies durch die Lichtunechtheit des Farbstoffes bedingt oder aber wird Kalium komplex aufgenommen, eine Erscheinung, die Willstätter bei Chlorophyllderivaten schon beobachtet hat.

#### Entgegnung an Herrn Schumm.

Diese Zeitschrift, Bd. 96, S. 183—195 schreibt O. Schumm, daß er sich meinen Zweifeln an der Identität von Harnporphyrin mit Hämatorporphyrin angeschlossen habe und kommt zu dem Schluß S. 191: Fischers Ausspruch «spektroskopisch stellte Günther die absolute Übereinstimmung des im Urin enthaltenen Porphyrins mit Hämatorporphyrin fest und neuerdings wiederum O. Schumm in Hamburg» ist demnach streng genommen nicht richtig und wohl auf ein Mißverständnis zurückzuführen.

Ich darf wohl einige Stellen aus den Arbeiten Schumms zitieren, die dartun, daß das «Mißverständnis» jedenfalls nicht meine Schuld ist. Zunächst zwei Zitate aus der «Festschrift dem Eppendorfer Krankenhause zur Feier seines 25jährigen Bestehens gewidmet», der Schumm seine Zitate entnommen hat, die beweisen sollen, daß er in keinem Falle angegeben habe, daß die für das «Hämatorporphyrin» des Urins gefundenen Zahlen mit denen für Hämatorporphyrin Nencki völlig übereinstimmten, stets sei eine einschränkende Ausdrucksform gewählt, wie «am besten», «ungefähr».

Ich habe diese Einschränkungen als eine *Captatio benevolentiae* mir gegenüber aufgefaßt, da die aus der angezogenen Arbeit von Schumm angeführten Zitate S. 191 eingeleitet werden: «Immerhin besteht der von H. Fischer und Meyer-Betz erhobene Einwand in gewissem Umfange zurecht: «In einer Anzahl von Fällen genügen die Angaben der Untersucher nämlich nicht, um zu beweisen, daß Hämatoporphyrin und nicht etwa Mesoporphyrin oder ein anderes Porphyrin vorgelegen habe.» (Auch im Original gesperrt gedruckt.) Es folgen dann die von Schumm angeführten Zitate, die, wieder im Sperrdruck, abgeschlossen werden mit den Worten «ob bei den sonst noch beschriebenen Fällen sogenannter Hämatoporphyrinurie die Auffassung des Harnfarbstoffs als Hämatoporphyrin stets berechtigt war, möge einstweilen dahingestellt bleiben».

Nun zu den von Schumm angeführten Messungsergebnissen S. 189 und 191: Hierzu möchte ich bemerken, daß diese allerdings verschieden von Hämatoporphyrin sind. Jedoch vergleicht Schumm dort den Harn ohne Zusatz und die ammoniakalische Lösung von Urinporphyrinpräparaten mit Hämatoporphyrin in Sodalösung. Dies ist aber nicht wohl angängig, da ja gerade bei diesen Farbstoffen schon lange bekannt ist, daß Reaktionsunterschiede wie die oben angeführten solche Differenzen wie die der Schummschen Messungen bei den Spektralerscheinungen bedingen. Ich habe daher diese Angaben nicht beachtet und nur die unter ähnlichen Bedingungen ausgeführten berücksichtigt, nämlich die in 25%iger Salzsäure. Die Hauptstreifen des Urinporphyrins sind nach Schumm: I 596, II 553. Hämatoporphyrin: I 595, 3, II 552 (okulare Messungen).

Hierbei war noch nicht einmal die Farbstoffkonzentration bekannt. Auf Grund meiner eigenen spektroskopischen Erfahrungen, sowie den Zahlen anderer Autoren, z. B. Willstätters, liegen solche Differenzen ( $1 \mu\mu$ ) innerhalb der Fehlergrenzen; ich halte daher meinen Ausspruch, daß O. Schumm die absolute Übereinstimmung des im Urin enthaltenen Porphyrins mit Hämatoporphyrin festgestellt habe, für berechtigt, um so mehr als der Autor selbst in der Originalmitteilung über den

oben erwähnten «sauren spektroskopischen Befund» schreibt, Zeitschr. f. urologische Chirurgie, Bd. III, S. 121: «Die Lösung der Kalifällung in 25%iger Salzsäure war rein violett und gab in ausgezeichneter Schärfe und Reinheit das vollständige «saure Hämatoporphyrinspektrum». (Im sichtbaren Spektrum 5 Streifen 1 und 3 am stärksten, 2 schwächer, 4 und 5 am schwächsten, wie beim Hämatoporphyrin Nencki.) Der erste Hauptstreifen lag auf 596, der zweite Hauptstreifen auf 553.

### Experimenteller Teil.

Abspaltung von 4 Carboxylgruppen aus Urinporphyrin.

Überführung von Urinporphyrin in Kotporphyrin.

Es ist bemerkenswert, wie fest die Carboxylgruppen im Urinporphyrin gebunden sind. Nach zahllosen fehlgeschlagenen Versuchen wurde zunächst nach 4stündigem Erhitzen mit Kaliummethylat auf 200° eine teilweise Abspaltung von Carboxylgruppen erzielt. Ein durchgreifender Erfolg wurde aber erst bei Behandlung mit Jodwasserstoff-Essigsäure erreicht, hier gelang die Überführung des Urinporphyrins in das Kotporphyrin.

### Abbau mit Kaliummethylat.

2 g Urinporphyrinmethylester wurden in 100 ccm Pyridin gelöst, 50 ccm 20%iges Kaliummethylat zugegeben und im Autoklaven in einem versilberten Kupferbecher 4 Stunden lang auf 200° erhitzt. Der Druck stieg nicht über 20 Atmosphären. (Den Kunstgriff des Pyridinzusatzes hat schon Willstätter beim Abbau von Chlorophyll und Hämin angewandt.)

Nach dem völligen Erkalten des Autoklaven war kein Druck mehr vorhanden. Im Silberbecher befand sich eine tiefrote Flüssigkeit, in der harzige Abscheidungen vorhanden waren.

Diese lösten sich leicht in Wasser. Der gesamte Inhalt wurde nun mit Dampf destilliert, bis das Pyridin verschwunden war. Der Rückstand wurde mit 200 ccm Eisessig angesäuert, wobei ein flockiger, braunroter Niederschlag ausfiel.

Ohne Rücksicht hierauf wurde 4 mal ausgeäthert. Ätherextrakt ist tiefrot und fluoresciert stark. Im Vakuum wurde eingedampft, zuletzt im siedenden Wasserbad erhitzt, um den



Essig zu entfernen, und dann der Rückstand in üblicher Weise in den Ester übergeführt.

Umkristallisiert wurde aus Chloroformmethylalkohol. Die Krystallisation war nicht einheitlich, Nadeln, dazwischen aber Wetzsteine und derbe Prismen. F. P. 250—260°.

Analyse: 4,245 mg Substanz: 0,263 ccm N, 15° u. 711 mm Hg = 6,87% N.

Mutterlauge gibt 2. Krystallisation, hauptsächlich Prismen und Wetzsteine. F. P. 250—258°.

Analyse: 4,053 mg Substanz: 0,247 ccm N, 16° u. 707 mm Hg = 6,70% N.

Ausbeute nur 0,15 g. Es kann keinem Zweifel unterliegen, daß ein partieller Abbau des bei 293° schmelzenden Urinporphyrins erfolgt ist, aber der N-Gehalt weist gegenüber dem Kotporphyrin noch immer ein Defizit von über 1% auf.

Aus der ausgeätherten Flüssigkeit wurde der Niederschlag abgesaugt und verestert. Es gibt nur Urinporphyrinester. F. P. 289°. N = 6,07%. Beim längeren Stehen scheidet die saure Mutterlauge immer wieder neue Niederschläge ab (krystallisiert in radiär gestreiften Kugeln), die nach der Veresterung als nahezu reiner Urinporphyrinester erkannt wurden.

I. F. P. 288°. N = 6,14. II. F. P. 288°, N = 6,10.

Partieller Abbau des Urinporphyrins mit Jodwasserstoff-Essigsäure.

2 g Urinporphyrinmethylester wurden in 90 ccm Eisessig heiß gelöst, 12 ccm konzentrierte Jodwasserstoffsäure und 3 g roter Phosphor zugegeben. Zu der kochenden Mischung fügt man 18 ccm Wasser.

Nach einstündigem Kochen am Rückflußkühler wird die heiße Flüssigkeit mit 18 ccm Wasser verdünnt, abgekühlt und jetzt der Phosphor abgesaugt. Durch Zusatz von Wasser und 30 ccm 33%iger Natronlauge fällt aus der tiefroten Lösung ein violetter, voluminöser Niederschlag aus, der abgesaugt und gewaschen wird.

Der Niederschlag wird in den Ester übergeführt. Ausbeute 0,1515 g. F. P. 285°, N = 6,26, im wesentlichen also unveränderter Urinporphyrinester.

Das Filtrat des Niederschlages wird 5mal ausgeäthert und in üblicher Weise in den Ester verwandelt.

Krystallisation sieht aus wie Kotporphyrinester. F. P. 250 bis 252°. Ausbeute: 0,037 g.

Analyse: 4,592 mg Substanz: 0,350 ccm N bei 22° und 715 mm Hg

$C_{39}H_{43}N_4O_8$  (694,38). Berechnet: N = 8,07

Gefunden: N = 8,29.

Der Urinporphyrinmethylester schmilzt bei 293° und hat 6,05% N, es kann also keinem Zweifel unterliegen, daß Kotporphyrinester vorliegt. Zur weiteren Sicherung des Befundes wurde der Rest ins komplexe Kupfersalz übergeführt, das bei 283° schmolz wie das des Kotporphyrins und in allen Eigenschaften mit diesem übereinstimmte. Auch die Analyse stimmt hierzu.

5,010 mg Substanz: 0,334 ccm N bei 17° und 722 mm Hg

$C_{39}H_{40}N_4O_8Cu$ . Berechnet: N = 7,41

Gefunden: N = 7,45.

Die oben erwähnte ausgeätherte Flüssigkeit schied beim längeren Stehen innerhalb einiger Tage weitere Niederschläge ab, die wieder auf Ester verarbeitet wurden. Nach Schmelzpunkt (bei 277°) und Analysen (6,660% N, 6,88% N) Gemische von Urin- und Kotester oder aber Zwischenprodukte.

Bei einem zweiten Versuche wurde 1 g Urinporphyrinester drei Stunden lang am Rückflußkühler gekocht. Hierbei war zum großen Teil Aufspaltung eingetreten, es konnten nur 9 mg reiner, krystallisierter Kotester gewonnen werden. F. P. 250 bis 251°.

3,256 mg Substanz: 0,244 ccm N bei 22° und 712 mm Hg

Berechnet: N = 8,07      Gefunden: N = 8,12.

Über die Verarbeitung der Mutterlaugen wird demnächst berichtet.

## Versuche, die die Lichtgiftigkeit der natürlichen Porphyrine beweisen.

A. 19. XI. 15. 4 Tierversuche. Bestrahlung bei wechselnder Bewölkung von 12—2h.

a) 2 weiße Mäuse erhalten je 0,01 g Urinporphyrin, gelöst in 1 ccm  $n/10$ -Lauge, subcutan eingespritzt. 2h tot.

b) Analoger Versuch mit 2 Kotporphyrinmäusen unter gleichen Bedingungen. Mäuse bleiben am Leben.

20. XI. Es entwickelt sich das Bild der chronischen Lichterkrankung. Beginnendes Absterben der Ohren, diese werden wie «Pergamentpapier».

22. XI. Ohren nekrotisch, beginnender Haarausfall, besonders an den Augenlidern und im Nacken.

1. XII. Abstoßung eines pfenniggroßen Fellstückes bei einem Tier. Eine Abbildung findet sich in der Münchener med. Wochenschrift. 1916 S. 377.

Ergebnis: a) Giftigkeit von 0,01 g Urinporphyrin für weiße Mäuse, unentschieden ob durch Licht oder an sich giftig.

b) 2 Mäuse werden durch je 0,01 Kotporphyrin schwer lichtkrank.

B. 26. XI. 15. 6 Tierversuche.

a) 4 Mäuse erhalten je 0,01 g Urinporphyrin wie oben eingespritzt. Diffuses Licht. Alle Tiere sind gesund.

27. XI. 15. Bestrahlung von  $10-10^{5/4}$  bei mäßigem Sonnenschein. Maus I 11 Uhr tot. II und III im Laufe des Nachmittags. IV bleibt gesund und wird am 1. XII. getötet.

b) 2 Mäuse erhalten je 0,01 g Kotporphyrin unter den gleichen Bedingungen. Auch Bestrahlung in gleicher Weise. Keinerlei Einwirkung. Tötung am 1. XII.

Ergebnis: a) 0,01 g Urinporphyrin sind im diffusen Licht für weiße Mäuse nicht giftig. Nach 24 Stunden erfolgt in 3 Fällen bei Belichtung der Tod, während auf ein Tier keine Einwirkung mehr stattfindet. b) Mißlungene Sensibilisierung mit 0,01 g Kotporphyrin in 2 Fällen.

C. 29. XI. 5 Tierversuche.

a) 3 Urinporphyrinmäuse, I und II je 0,01 g. III. 0,007 g.  $1/2$  Stunde im Sonnenlicht. Als bald tiefrote Färbung der Körperoberflächen von I und II, besonders der Ohren und Schwänze, während bei III diese Erscheinung weniger ausgeprägt ist. Alle Mäuse bleiben am Leben.

30. XI. I tot. II Schwellung der Augenlider, Ohren und Schwanz noch rot, abends tot. III normal bis 3. XII. Jetzt Einspritzung von 0,01 g Urinporphyrin, 4<sup>h</sup> nachmittags an einem sehr trüben Wintertag. Blaurote Ohren, Schwanz ebenso. Tier macht einen kranken Eindruck.



4. XII. Rötung der Ohren und des Schwanzes verschwunden. Von 10—12 Uhr bei wechselnder Bewölkung bestrahlt. Keine Einwirkung.

5. O. B. 6. XII. tot. Todesursache unbekannt.

b) 2 Kotporphyrinmäuse mit je 0,01 g. 4stündige Bestrahlung bei wechselnder Bewölkung. Schwache Sensibilisierung bei I, bestehend in Conjunctivitis, II o. B. Am 4. XII. ist I wieder hergestellt, am 5. XII. beide Mäuse getötet.

Ergebnis: a) Bei 0,01 g Urinporphyrin wird Rötung der Ohren und Schwänze beobachtet (ist zweifellos auch früher dagewesen, aber nicht aufgefallen).

2 Tiere werden durch bzw. infolge von Belichtung getötet, bei einem 3. Tiere keine Einwirkung. (Bestätigung von B.)

b) 0,01 g Kotporphyrin sensibilisiert in einem Fall, in einem zweiten nicht.

D. 4. XII. 15. 6 Tierversuche.

a) 4 Mäuse erhalten je 0,01 g Urinporphyrin. subcutan. Bei wechselnder, starker Bewölkung von 10<sup>30</sup>—1<sup>h</sup> bestrahlt. Beleuchtungsverhältnisse für Entstehung chronischer Lichterkrankung sehr günstig. 20 Minuten nach der Injektion alle 4 Rötung der Ohren, Schnauzen, Schwänze.

1<sup>h</sup> alle 4 Mäuse tot.

b) 2 Kotporphyrinmäuse mit 0,01 g. Keine Sensibilisierung. Am 8. beide getötet.

Ergebnis: a) 0,01 g Urinporphyrin tötet im Licht in 4 Fällen, b) 0,01 g Kotporphyrin in 2 Fällen keine Einwirkung.

E. 6. XII. 15. 4 Tierversuche.

4 Mäuse erhalten gleichzeitig 0,01 g Urinporphyrin. 2 in die Sonne, 12<sup>50</sup> 2 in die Dunkelkammer. Schon um 1<sup>h</sup> großer Unterschied. Nur die Lichttiere haben rote Ohren und Schwänze, Dunkelkontrollen völlig normal.

1<sup>30</sup> Maus I tot, II folgt 2<sup>10</sup>. Dunkelkontrollen völlig normal. Diese 2<sup>30</sup> in diffuses Licht, um eventuelle chronische Lichterkrankung zu erzielen. 20 Minuten später intensive Rötung der Ohren und Schwänze, die bis 6 Uhr anhält, dann erst erfolgt Abblassung.

7. XII. Keine Rötung der Ohren im diffusen Licht, wohl

aber bei 1 $\frac{1}{2}$ stündiger Bestrahlung in der Sonne. Die Rotfärbung ist bedingt durch Hyperämie.

10. XII. Eine Maus tot. Todesursache unbekannt. 2. Maus verfällt der chronischen Lichterkrankung. 15. XII. getötet.

Ergebnis: 0,01 g Urinporphyrin tötet im Licht 2 weiße Mäuse, in der Dunkelheit ungiftig. Bei Eingabe von 0,01 g Urinporphyrin tritt die Rötung der Ohren nur im Licht ein und ist offenbar durch Hyperämie bedingt. Es ist zum erstenmal gelungen, mit Urinporphyrin chronische Lichtkrankheit zu erzeugen.

F. 7. XII. 6 Tierversuche mit je 0,01 g Kotporphyrin.

Die 6 Tiere ab 11<sup>45</sup> in die strahlende Sonne. Nur geringe Rötung der Ohren und Schwänze. 12<sup>35</sup> ist eine der Mäuse I schwer krank, daher alle ins Dunkle gesetzt, um, wenn möglich, chronische Lichtkrankheit zu erzeugen. 12<sup>40</sup> I und II tot. III stirbt in der Nacht. IV, V und VI erscheinen krank, sind aber am 8. wieder normal und bleiben es.

Ergebnis: Von 6 Kotporphyrinmäusen sind 3 durch Belichtung getötet worden, während 3 im wesentlichen unbeeinflusst geblieben sind.

In fast sämtlichen bis jetzt ausgeführten Versuchen traten Nekrosen an den Injektionsstellen auf. Es wurde daher von jetzt ab die Alkalimenge genau berechnet derart, daß beim Urinporphyrin 3 $\frac{1}{2}$  Carboxylgruppen und beim Kotporphyrin 1 $\frac{1}{2}$  Carboxylgruppen abgestumpft wurden.

Es traten nun keine Nekrosen mehr ein. Allgemeine Lösungsvorschriften:

0,04 g Kotporphyrin. 1 ccm  $\frac{n}{10}$ -Lauge, Wasser nach Bedarf.

0,04 g Urinporphyrin. 1,8 ccm  $\frac{n}{10}$ -Lauge, Wasser nach Bedarf.

G. 11. XII. 15. 10 Tierversuche mit Kotporphyrin mit je 0,01 g subcutan. I—VII 2 Stunden 10—12<sup>h</sup> belichtet bei «diffuser» Sonne (durch Nebelschleier), 3 Tiere im Dunkeln. Letztere zeigen keinerlei Erscheinungen.

Die Lichttiere zeigen schwache, aber deutliche Rötung der Ohren.

I 4<sup>h</sup> tot. II 5<sup>h</sup>. III Conjunctivitis beiderseitig, daher iso-

liert. IV o. B. V 12<sup>h</sup> tot. VI Lichtschwellungen, sonst normal.  
VII o. B.

12. XII. III tot.

13. XII. IV, VI und VII nochmals 1/2 Stunde bestrahlt.  
VI stirbt am Nachmittag.

IV und VII haben am 13. beginnende Gangrän der Ohren,  
die am 15. deutlich ist.

16. Gangrän schreitet weiter fort, 17. Ohren abgefallen.

Ende des Monats bei Tier VII beginnende Gangrän auch des  
Schwanzes.

Ergebnis: 0,01 g Kotporphyrin ist im Dunkeln ungiftig,  
im Licht ein starkes Gift. In vereinzelt Fällen gelingt es,  
chronische Lichterkrankung zu erzielen.

H. 15. XII 15. 6 analoge Versuche mit Kotporphyrin wie G.  
Ein Tier wird chronisch lichtkrank.

J. 27. I. 16. 11 Tierversuche.

Tier I—VI erhält je 2 mg und VI—XI je 1 mg Urin-  
porphyrin subcutan. Diffuses Licht, wenig Sonnenschein am 27.

28. I. Heller Sonnenschein. Alsbald Rötung der Ohren  
und Schwänze. 3 Stunden belichtet.

29. Nichts Besonderes.

30. I. Eine Reihe von Tieren sind der beginnenden Ohr-  
gangrän verdächtig.

31. I. Maus I tot, II, III und IV deutliche Gangrän der  
Ohren, V verdächtig; VI o. B. Von den 5 1 mg-Mäusen haben  
3 deutliche Gangrän der Ohren, 2 o. B.

1. II. Gangrän ist bei allen Tieren, auch V, weiter voran-  
geschritten und führt in der nächsten Zeit teils zur Abstoßung  
der Ohren, teils zu großen Defekten (am 15. II. in der morpho-  
logischen Gesellschaft zu München demonstriert).

Ergebnis: Mit 1—2 mg Urinporphyrin ist es gelungen,  
von 11 Tieren 7 zu sensibilisieren.

Bei nochmaliger Wiederholung des Versuches an 5 Mäusen  
mit je 1 mg konnte in allen Fällen Lichtkrankheit hervor-  
gerufen werden, die wieder bemerkenswerterweise am 5. Tage  
deutlich wird. Mit 3 mg Kotporphyrin konnten von 5 Mäusen  
3 sensibilisiert werden.



Versuche, die die verschiedene Dunkelgiftigkeit der natürlichen Porphyrine hauptsächlich beweisen sollen und die relative Unschädlichkeit gegenüber Hämatorporphyrin.

K. 12. II. 16. 6 Tierversuche.

3. 2 Mäuse bekommen subcutan je 0,02 g Urinporphyrin, Kotporphyrin und je 0,015 g Hämatorporphyrin. Sofort in die Dunkelkammer. 4<sup>30</sup> nachmittags.

6<sup>30</sup>. Eine Hp.-Maus tot, die zweite in den letzten Zügen; diese ist um 7<sup>h</sup> tot, die übrigen 4 normal.

20. II. Die 4 Mäuse leben und zeigen keinerlei Krankheitserscheinungen, auch nicht in der Folgezeit.

Ergebnis: Hämatorporphyrin ist im Dunkeln viel giftiger wie die natürlichen Porphyrine.

In den weiteren Versuchen wurde nun der Giftunterschied zwischen den beiden natürlichen Porphyrinen bei äquimolekularen Mengen festgestellt. Mit Hämatorporphyrin wurden keine weiteren vergleichenden Versuche gemacht, da ich ja schon in der II. Mitteilung<sup>1)</sup> bei Kaninchen festgestellt hatte, daß Hämatorporphyrin viel giftiger ist, wie die natürlichen Porphyrine.

L. 21. II. 2 Mäusen je 0,0414 g. Urinporphyrin 10<sup>45</sup> eingespritzt. Sofort in Dunkelkammer. Alsbald tiefrote Färbung des ganzen Tieres, die besonders deutlich an den weniger behaarten Stellen hervortritt. 11<sup>30</sup> liegt ein Tier unter Krämpfen in den letzten Zügen, 11<sup>35</sup> tot. Die Färbung bleibt bestehen. 2. Maus scheint auch krank zu sein. 2<sup>30</sup> schwer krank, gelegentlich Krämpfe. 3<sup>30</sup> scheinbar in den letzten Zügen, Exitus letalis tritt aber erst 7<sup>30</sup> ein.

M. 2 Tiere je 0,0276 g Urinporphyrin am 21. II. subcutan beigebracht. Keinerlei Erscheinung, außer Rötung der Ohren und Schwänze. 22. II. und Folgezeit gesund.

N. 22. II. 2 Tieren je 0,0217 g Kotporphyrin subcutan beigebracht 11<sup>15</sup>. Sofort ins Dunkle. 3<sup>h</sup> beide Tiere tot.

O. 22. II. 4<sup>15</sup>. 2 Tieren je 0,0212 g Kotporphyrin subcutan beigebracht. 8<sup>h</sup> beide tot.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr., Bd. 96, S. 176.

**Ergebnis von L—O:**  $\frac{1}{20\,000}$  Molekül Kotporphyrin tötet weiße Mäuse im Dunkeln innerhalb weniger Stunden,  $\frac{1}{20\,000}$  Mol. Urinporphyrin ist ungiftig.  $\frac{1}{20\,000}$  Mol. Urinporphyrin tötet weiße Mäuse im Dunkeln gleichfalls in wenigen Stunden.

**Sensibilisierungsversuche mit «künstlicher Höhensonne» an roten Blutkörperchen und weißen Mäusen.**

Die «künstliche Höhensonne» wandte ich an, weil die Versuche mit Sonnenlicht den großen Nachteil der Abhängigkeit von der Witterung haben. Zudem ist ständige Beobachtung des Himmels notwendig bei wechselnder Bewölkung, und auch dann ist eine objektive Abschätzung der Belichtung nur schwierig.

Zuerst arbeitete ich mit gewaschenen Rinderblutkörperchen und konnte nach Zusatz von Mesoporphyrin 1 : 10000 und 2stündiger Belichtung schwache, aber deutliche Hämolyse erzielen. Als ich die Versuche dann ans zerstreute Tageslicht brachte, trat stärkere Hämolyse ein, ein Beweis, wie überlegen diese Lichtquelle in bezug auf Sensibilisierung dem künstlichen Licht ist.

Urin- und Kotporphyrin hatten 1 : 10000 keine Einwirkung. Nach dem Zentrifugieren war in der Kochsalzlösung deutlich bei den Urinporphyrinversuchen der Farbstoff spektroskopisch und an der Färbung zu erkennen, bei den Kotporphyrinversuchen war er zerstört. Die Blutkörperchen des Porphyrinpatienten Petri verhielten sich genau wie die Rinderblutkörperchen.

Hierauf wendete ich mich den Tierversuchen zu.

Von vorne herein ist zu bemerken, daß die «künstliche Höhensonne» hier nur ein Notbehelf ist, weil W. Hausmann (Biochem. Zeitschr., Bd. 67, S. 311) gezeigt hat, daß das ultraviolette Licht allein Nekrosen der Ohren, Haarausfall usw. erzeugt. Die folgenden Versuche bestätigen dies. Wegen dieser Wirkung des ultravioletten Lichtes sind auch die Versuche von Perutz, der (Wiener klin. Wochenschr., 1910, S. 123) bei mit Sulfonal behandelten Kaninchen durch Bestrahlung der Ohren mit der Kroh Meyerschen Quarzlampe Bläschenbildung mit

Narbenheilung beobachtete und hieraus auf Sensibilisation durch «Hämatoporphyrin» schloß, nicht beweisend, ganz abgesehen davon, daß Perutz nicht angibt, ob seine Kaninchen überhaupt durch das Sulfonal eine Porphyrinurie bekommen hatten. Diese Feststellung wäre um so nötiger gewesen, als zahlreiche Autoren schon sich vergebens bemüht haben, mit Sulfonal bei Kaninchen Porphyrinurie zu erzeugen. (Literatur bei: F. N. Schulz, Über einige Farbstoffe des Harns, ihre Entstehung und Bedeutung, Ergebnisse der Physiol. II<sub>1</sub>, S. 159.)

P. 11. I. 16. 12 Tierversuche.

Je 2 Tiere erhalten je 8,5 (I u. II), 4,2 (III u. IV) und 3 mg (V u. VI) Urinporphyrin subcutan und werden dann mit 6 Kontrolltieren zusammen in 46 cm Entfernung 2 Stunden lang mit der «künstlichen Höhensonne» bestrahlt.

I tot während der Bestrahlung, II kurz nachher. III u. IV werden um 3<sup>h</sup> tot aufgefunden (1<sup>h</sup> lebten sie noch), V 7<sup>h</sup> tot, VI am 12. I.

Die 6 Lichtkontrollen bleiben am Leben, 2 Tage später jedoch werden bei 5 Tieren die Ohren gangränös.

Ergebnis: Die Versuche beweisen immerhin die Lichtgiftigkeit des Urinporphyrins auch bei künstlichem Licht; zur Erzeugung der chronischen Lichtkrankheit ist die «künstliche Höhensonne», wenigstens in 46 cm Entfernung, nicht anzuwenden.

#### Tierversuch mit Mesoporphyrin.

0,5 g salzsaures Mesoporphyrin wurde in 50 ccm  $\frac{n}{5}$ -Kalilauge gelöst und einem 2<sup>1</sup>/<sub>2</sub> kg schweren Hasen subcutan am 8. XI. 15. beigebracht.

9. XI. Wieder 0,5 g. Urin: Eiweiß — Zucker — Farbstoff.

10. XI. 0,5 g. Urin dunkler, Farbstoff in Spuren nachweisbar.

11. XI. 0,5 g. Urin enthält Spuren von Farbstoff, Kot ebenfalls.

Tier völlig normal.

Bedenkt man, daß 0,5 g salzsaures Hämatoporphyrin Hasen schwer krank machen, so ist dieses Resultat geradezu



verblüffend. Der Hase wurde noch bis März 1916 beobachtet, ohne daß irgend welche krankhafte Erscheinungen aufgetreten wären. (Nur an den Injektionsstellen kam es zu Verklebungen des Felles mit der Unterlage und an einer Stelle zu einer oberflächlichen Nekrose, die aber schnell in Heilung überging).

### Spektroskopische Beobachtungen.

#### Mesoporphyrin.

0,02 g salzsaures Salz gelöst in  $n_{10}$ -KOH.

Schichtdicke 11 mm	200 ccm $n_{10}$ -KOH	100 ccm $n_{10}$ -KOH	50 ccm $n_{10}$ -KOH	25 ccm $n_{10}$ -KOH
I.	—	—	629—624 (626,4)	632,5 —
II.	620—617 (615,5)	619—612 (615,5)	618—611 (614,5)	608 (620);
III.	575—558 (566,5)	575—558 (566,5)	575,5—558 (564)	ab 583 alles
IV.	547—536 (541,5)	546—536 (541)	546—534 (540)	ausgelöscht.
V.	516—498 (507) sehr unscharf	517—495 (506)	520—491 (504,5)	

Den zarten schmalen Streifen auf cca. 601, den Schumm erwähnt, konnte ich mit dem einfachen Spektroskop von Steinheil nicht finden.

0,01 g in 100 ccm 19% igem HCl (Schichtdicke 11 mm).

I. 596—589 (592,5)

II. 575—568 sehr unscharf

III. 555—540 (547,5).

#### Hämatoporphyrin.

0,02 g salzsaures Salz gelöst in  $n_{10}$ -KOH.

Schichtdicke 11 mm	200 ccm $n_{10}$ -KOH	100 ccm $n_{10}$ -KOH	50 ccm $n_{10}$ -KOH	25 ccm $n_{10}$ -KOH
I.	620—612 (616)	621—613 (617)	621—613 (616,5)	624—614 (619)
II.	574—559 (566,5)	577—559 (568)	579—558 (568,5)	578,5—556,5 (567,5)
III.	543—534 (538,5)	544—535 (539,5)	545—533 (539)	551—531 (541)
IV.	514—496 (505)	515—495 (505)	518,5—490,5 (504,5)	520—482 (501)

0,01 g in 100 ccm 19%iger HCl.

- I. 596—588 (592)
- II. 574—568 (571)
- III. 557—541 (549).

### Urinporphyrin.

0,02 g freies Porphyrin gelöst in 100 ccm  $n_{10}$ -KOH. Urinporphyrin unterscheidet sich vom Kotporphyrin sehr deutlich. Vom Hämatorphyrin ebenfalls, indem es einen Streifen mehr zeigt wie dieses.

mit  $n_{10}$ -KOH auf die Hälfte verdünnt

- |                      |                              |
|----------------------|------------------------------|
| I. 613—603 (608)     | I. 613—606 (609,5)           |
| II. 577—565 (571)    | II. Schatten 575—568 (571,5) |
| III. 561—552 (556,5) | III. 560—554 (557)           |
| IV. 542—532 (537)    | IV. 541—532 (536,5)          |
| V. 511—496 (503,5)   | V. 509—496 (502,5).          |

0,01 g in 100 ccm 19%iger HCl.

- I. 598—590 (594)
- II. 576—571 (573,5)
- III. 558,5—544 (551).

### Kotporphyrin.

0,02 g freies Porphyrin gelöst in  $n_{10}$ -KOH.

Schichtdicke 11 mm	200 ccm $n_{10}$ -KOH	100 ccm $n_{10}$ -KOH	50 ccm $n_{10}$ -KOH	25 ccm $n_{10}$ -KOH
I.	—	Schatten ccm 613	619—614 (616,5)	622—614 (618)
II.	578—563 (570,5)	578—561 (569,5)	577—560,5 (569)	579,5—559,5 (569,5)
III.	539—530 (534,5)	541—529 (535)	541—527,5 (534)	547—521 (534)
IV.	—	Schatten cca 502	505,5—496 (501)	509—494 (501,5)

0,01 g in 100 ccm 19%iger HCl.

- I. 596—588 (592)
- II. Schatten cca 570
- III. 555—541 (548).

### Frischer Urin Petris.

- I. 619,5—609,5 (614,5)
- II. 578—555 (567,5)
- III. 541,5—529,5 (535,5)
- IV. ab 517 ausgelöscht.

Mit rauchender HCl zu gleichen Teilen versetzt, so daß die Lösung an 19% HCl enthält.

I. 598,5—591,5 (594,5)

II. 559—543,5 (551,5).

**Urinporphyrinmethylester.**

0,02 g Ester in 100 ccm Chloroform      0,01 g Ester in 100 ccm Chloroform

I. 628—620 (624)

II. Zarter Streifen bei 597

III. 586—564 (575)

IV. 541—526 (533,5)

V. 513—485 (499)

I. 629—620 (624,5)

II. Schatten bei 597

III. 583—565 (574)

IV. 539—527 (533)

V. 512—491 (501,5).

**Kotporphyrinmethylester.**

0,01 g Ester in 100 ccm Chloroform

I. 625—615 (620)

II. Zarte Streifen bei 595

III. 580—561 (570,5)

IV. 538—523 (530,5)

V. 512—483 (497,5)

I. 624—616 (620)

II. Schatten bei 595

III. 579—561 (570)

IV. 537—526 (531,5)

V. 510—487 (498,5).

V. besteht möglicherweise aus zwei Streifen, jedenfalls 2 Maxima.

**Krystallisierter Ester aus Urin Ditz im Chloroform untersucht.**

I. 625—619 (622)

II. Schatten bei 596

III. 581—564 (572,5)

IV. 538—526 (532)

V. 511—492 (501,5).

**Die nähere Beschreibung dieses Falles erfolgt demnächst.**

---