

# Zur Kenntnis des im Harn nach Trionalvergiftung auftretenden Porphyrins.

Von

Alexander Ellinger und Otto Riesser.

Mit einer Tafel.

(Aus den pharmakologischen Institut der Universität Frankfurt a. M.)

(Der Redaktion zugegangen am 12. Juli 1916.)

Der rote Farbstoff, der im Harn nach Sulfonal- bzw. Trionalvergiftung schon bald nach Einführung dieser Schlafmittel in die Therapie beobachtet wurde, ist von Anfang an als Hämatoporphyrin bezeichnet worden, obwohl einzelne Beobachter auf Unterschiede im Verhalten beider Farbstoffe hinwiesen. Die Identifikation mit dem Hämatoporphyrin erfolgte hauptsächlich auf Grund des spektroskopischen Verhaltens. Die zahlreichen Fehlerquellen dieser Untersuchungsmethoden sind aber z. T. erst in neueren Arbeiten namentlich von O. Schumm<sup>1)</sup> aufgeklärt worden. Im ganzen galt bis vor kurzem der pathologische Harnfarbstoff als Hämatoporphyrin. Diesem Produkt der Einwirkung von Säuren auf Hämatin extra corpus wurde damit eine biologische Bedeutung beigelegt, obwohl bisher das Hämatoporphyrin mit Sicherheit im Tier- und Pflanzenkörper nie nachgewiesen ist. Auch für die Annahme, daß das eisenfreie Hämatoporphyrin ein Zwischenprodukt bei der Bildung des Gallenfarbstoffs aus dem eisenhaltigen Blutfarbstoff sei (Nencki), fehlt bisher jeder Beweis. Es empfiehlt sich deshalb, nach dem Vorgang von H. Fischer statt von Hämatoporphyrinurie von Porphyrinurie zu sprechen und als Porphyrine eine Gruppe von Farbstoffen zu bezeichnen, die mit dem Hämatoporphyrin selbst eine Reihe ihm chemisch nahestehender komplizierter Pyrrolfarbstoffe von ähnlichem spektroskopischem Verhalten zusammenfaßt.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr., Bd. 90, S. 1, Festschrift des Eppendorfer Krankenhauses zum 25jährigen Jubiläum. Leipzig 1914, S. 198.

Die verschiedenen Arten von Porphyrinurie sind vor wenigen Jahren von Günther<sup>1)</sup> namentlich nach ihrem klinischen Verhalten ausführlich beschrieben worden, und im vergangenen Jahre hat H. Fischer in München aus dem Harn und Kot des Güntherschen Patienten mit angeborener Porphyrinurie zwei Porphyrine rein dargestellt und analysiert.<sup>2)</sup> In seinen ausgezeichneten Arbeiten hat Fischer auch über die Konstitution des «Harnporphyrins» und des «Kotporphyrins», das sich auch im Harn findet, wichtige Tatsachen festgestellt und die Verschiedenheit beider Farbstoffe vom Hämatoporphyrin bewiesen. Ein wesentlicher Unterschied zeigt sich besonders im Gehalt an Carboxylgruppen. Die wahrscheinlichsten Formeln der drei Porphyrine sind nach Fischer:

Urinporphyrin:  $C_{40}H_{36}N_4O_{16}$  (mit 7 COOH-Gruppen)

Kotporphyrin:  $C_{36}H_{36}N_4O_8$  (mit 3 COOH-Gruppen)

Hämatoporphyrin:  $C_{34}H_{38}N_4O_6$  (mit 2 COOH-Gruppen).

Auch ein Porphyrin mit 4 COOH-Gruppen scheint Fischer in Händen gehabt zu haben. Bezüglich der Entstehung und biologischen Bedeutung dieser Porphyrine stellt Fischer die Hypothese auf, daß sie durch Ersatz von H durch COOH aus einem dem Hämin entsprechenden Porphyrin mit 2 Carboxylgruppen entstehen. Durch diese Carboxylierung werde ein nicht harnfähiges Blutfarbstoffderivat in ein lösliches und harnfähiges umgewandelt, gleichsam entgiftet. Die naheliegende Annahme, daß das Urinporphyrin mit 7 COOH-Gruppen das primäre Produkt sei, aus dem durch  $CO_2$ -Abspaltung das Kotporphyrin mit 3 COOH-Gruppen sekundär entstehe, könne nicht zu Recht bestehen, da Fischer weder durch Fäulnis noch durch Verfütterung einen Übergang von Urinporphyrin in Kotporphyrin erzielen konnte. Auch der Befund, daß nach subcutaner Injektion das Kotporphyrin fast ganz im Kot, das

<sup>1)</sup> H. Günther, Deutsch. Arch. f. klin. Med., Bd. 105.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschr., Bd. 95, S. 34, Bd. 96, S. 184 (1915). Vgl. auch die Monographie von H. Fischer über Blut- und Gallenfarbstoffe in den «Ergebnissen der Physiologie», 15. Jahrgang, S. 185 und 791. In letzter Zeit, nach Abschluß dieser Arbeit, erschienen folgende weitere Abhandlungen über das gleiche Thema: Diese Zeitschr., Bd. 97, S. 109 u. 148 (1916).

Urinporphyrin ausschließlich im Harn ausgeschieden wird, schließt nach Fischer die Möglichkeit aus, daß letzteres das primäre Produkt ist.

Fischer selbst sieht in dem angenommenen Vorgang der Carboxylierung, dessen rein chemischer Erklärung sich zweifellos erhebliche Schwierigkeiten entgegenstellen, einen bisher ohne Analogie dastehenden biologischen Prozeß. Es darf vielleicht darauf hingewiesen werden, daß bisher auch andere Auffassungen möglich sind, insbesondere die, daß sich beide Porphyrine, ohne daß ein Übergang des einen in das andere angenommen werden müßte, aus einem bei der biologischen Farbstoffbildung aus Pyrrol- bzw. Indolderivaten primär entstehenden, komplizierteren Kondensationsprodukt ableiten. Dadurch würden die von Fischer entdeckten Porphyrine als Vorstufen beim Aufbau des Blutfarbstoffs, nicht als Glieder seines Abbaues, zu betrachten sein, und die kongenitale Hämatorporphyrinurie gewänne eine ganz besondere Bedeutung für das Studium der Blutfarbstoffbildung.

In seiner ersten Mitteilung hat Fischer auf die Bedeutung hingewiesen, die der Aufklärung auch des bei Sulfonal- bzw. Trionalvergiftung im Harn auftretenden Porphyrins bzw. seiner etwaigen Identifizierung mit einem der von ihm bei kongenitaler Porphyrinurie entdeckten Porphyrine zukomme. Wir haben daher, als uns vor kurzem ein stark gefärbter Harn nach Trionalvergiftung durch Herrn Prof. von Noorden überwiesen wurde, die Gelegenheit gerne benutzt, um zur Klärung dieser Frage beizutragen.

Über die klinischen Daten hat v. Noorden<sup>1)</sup> berichtet. Es standen uns nur zwei Liter des stark gefärbten sauer reagierenden Harnes zur Verfügung. Die Farbe war Burgunderrot, auf Zusatz von NaOH mehr zum Violetrot umschlagend. Mit Eisessig erhielt man leicht eine flockige Fällung. Sowohl der Harn selbst wie dieser Niederschlag zeigten in saurer wie in alkalischer Lösung in dem uns zur Verfügung stehenden einfacheren Spektralapparat das bekannte, auch sonst in diesen Fällen beobachtete saure bzw. alkalische sogenannte Hämato-

<sup>1)</sup> Münch. med. Wochensch. 1916, S. 683.

porphyrinspektrum. Weder Äther noch Chloroform nahmen aus dem angesäuerten Harn Farbstoff auf, auch Amylalkohol höchstens Spuren.

Nachdem so die Gegenwart einer Substanz von Porphyrin-Charakter anzunehmen war, sandten wir eine Probe des Urins an Herrn O. Schumm in Hamburg, der seinerzeit auch mit dem Farbstoff des Güntherschen Falles eine genaue spektrometrische und spektrographische Untersuchung vorgenommen hat und der sich in liebenswürdiger Weise bereit erklärte, auch unseren Farbstoff einer vergleichenden Untersuchung mit den ihm zur Verfügung stehenden vorzüglichen Gitterapparaten zu unterziehen. Wir möchten Herrn Schumm auch an dieser Stelle nochmals unseren herzlichsten Dank aussprechen. Die Ergebnisse seiner eingehenden Untersuchungen stellt uns Herr Schumm in folgenden Ausführungen zur Verfügung:

«Der rotbraune Harn enthält neben einem Porphyrin in reichlicher Menge einen auch sonst bei Porphyrinurie schon beobachteten Farbstoff, der eine breite diffuse Absorption im Grün und am Anfang des Blau gibt, übrigens chemisch noch nicht identifiziert ist.

Spektrum des Harns in  $\frac{1}{2}$  cm Schichtdicke:

Schwacher symmetrischer Streifen auf 616.

Von 580 ab starke allgemeine Verdunkelung des Spektrums.

Spektrum des mit  $\frac{1}{2}$  bis 1 Volumen Wasser verdünnten Harns:

I. Symmetrischer Streifen auf 616.

II. Unsymmetrischer Streifen, dessen Mitte auf 571, dessen dunkelste Stelle aber auf 564 liegt.

III. Symmetrischer Streifen auf 538  $\frac{1}{2}$ .

IV. Annähernd symmetrischer Streifen auf ca. 499.

I. und II. etwa gleich dunkel, III. dunkler, IV. noch dunkler.

Der mit gleich viel 25%iger HCl versetzte Harn gibt das «saure Hämatoporphyrin-Spektrum».

Bei Zusatz von 10 Tropfen Eisessig zu 20 ccm Harn scheidet sich fast augenblicklich ein brauner Farbstoff in Flocken aus. Der abfiltrierte und mit Wasser gut ausgewaschene Farbstoff ist in Salzsäure, Sodalösung, Natriumbicarbonatlösung, Kalilauge löslich.

Verhalten der Lösungen dieses Farbstoffes.

A. Lösung in 25%iger Salzsäure: Violetrot, typisches «Saures Porphyrinspektrum»:

I. Symmetr. Streifen auf  $596\frac{3}{4}$ .

II. Zarter Streifen auf etwa 577.

III. Symmetr. Streifen auf  $553\frac{3}{4}$ .

IV. Sehr schwacher Streifen auf ungefähr 527.

V. » » » » » ungefähr 513.

Anm. Hämatoporphyrin Nencki, zum Vergleich neu gemessen: I. 595. II. etwa 575. III.  $551\frac{3}{4}$ . IV. 526. V. 511.

B. Lösung in 1%iger Sodalösung: Typisches «alkalisches Porphyrinspektrum»:

I. Symm. Streifen auf  $610\frac{1}{2}$ .

II. Unsymm. Streifen. Maxim. rechts von der Mitte auf  $558\frac{1}{2}$ .

III. Symm. Streifen auf  $538\frac{3}{4}$ .

IV. Annähernd symm. Streifen auf 504.

C. Lösung in  $\frac{1}{10}$ -n-Kalilauge: rot, typisches «alkalisches Porphyrinspektrum».

I. Symm. Streifen auf 611.

II. Unsymm. Streifen. Maxim. rechts von der Mitte auf 559.

III. Symm. Streifen auf  $538\frac{1}{4}$ .

IV. Symm. Streifen auf  $503\frac{1}{2}$ .

(Andeutung eines Streifens auf ungefähr 462.)

Anm. Bei Hämatoporphyrin Nencki liegt der Streifen I auf 619! Am nächsten Morgen ist die Lösung C. gelblich-rot, zeigt die angegebenen Streifen abgeschwächt, außerdem aber einen äußerst starken symm. Streifen im Blau auf  $462\frac{1}{2}$ , der beim Ansäuern mit HCl verschwindet, bei erneutem Alkalisieren mit KOH allmählich wieder entsteht. (Vgl. das analoge Verhalten des Hämatoporphyrins Nencki, Schumm, Diese Zeitschrift, Bd. 90, S. 12.)

Anm. Am nächsten Tage aus einer weiteren Portion des (mit Chloroform konservierten) Harnes mit Essigsäure ausgefallter Farbstoff zeigt in HCl- wie in KOH-Lösung dieselben Spektren wie bei A. und C. beschrieben; jedoch erleidet die Lösung in  $\frac{1}{10}$ -n-KOH schon in wenigen Minuten die beschriebene Veränderung (Auf-

treten des starken Streifens auf 462  $\frac{1}{2}$ ). Im Gegensatz hierzu zeigen die Lösungen des Farbstoffes in Natriumbicarbonat- sowie in Natriumcarbonatlösung, auch nach mehrstündigem Stehen im Licht, die beschriebene Erscheinung nicht.

Zusammenfassung: a) Die Absorptionsspektren des durch Essigsäure abgeschiedenen Farbstoffes sind von denen des Mesoporphyrins Nencki bedeutend abweichend, denen des Hämatoporphyrins Nencki zwar täuschend ähnlich, aber zweifellos noch deutlich davon verschieden.

b) Wichtige Übereinstimmung mit Hämatoporphyrin Nencki hinsichtlich der Veränderlichkeit KOH-haltiger Lösungen beim Stehen am Licht.

(Vielleicht auch Eigenschaft noch anderer Porphyrine.)

c) Die spektroskopische Untersuchung ergibt keinen Anhaltspunkt dafür, daß ein anderes Porphyrin vorliegt als im Falle Günther.

d) Abweichend von jenem Falle ist das Vorkommen eines braunen chemisch bisher nicht identifizierten Farbstoffes.

### Spektrogrammetrische Bestimmungen.

Die spektrographische Untersuchung (bei der stets etwas von der okularen Messung abweichende Zahlen gefunden werden) läßt keinen Zweifel darüber bestehen, daß der vorliegende Farbstoff aus dem Harn der Trionalvergiftung dem Farbstoff aus dem Harn des Güntherschen Falles näher steht als dem Hämatoporphyrin oder gar dem Mesoporphyrin Nencki. Im folgenden sind die Werte für diese 4 Farbstoffe zusammengestellt:

	Violettstreifen			
	I.	II.	III.	IV.
Mesoporphyrin Nencki (in 25%iger HCl)	592,8	571,5	549,7	404,7
Hämatoporphyrin Nencki (in 25%iger HCl)	595,5	573,8	551,7	407,5
Farbstoff aus Trional-Harn (in 25%iger HCl)	597,5	ca. 576,5	553,9	411,3
Auszug der Knochen vom Falle Günther, mit ca. 23%iger HCl	597		554	410,7

Streifen 6 erweist sich auch hier als besonders charakteristisch.

Die von uns ausgeführte Isolierung und nähere chemische Untersuchung des Farbstoffes bestätigte das Ergebnis der spektroskopischen Messungen und ergab nahezu vollständige Übereinstimmung mit dem Urinporphyrin Fischers. Die von diesem Forscher ausgearbeitete Methodik ermöglichte ohne wesentliche Schwierigkeit die Isolierung des schön krystallisierenden Methylesters.

Durch Ansäuern des Harns mit Eisessig fällt der Farbstoff in ziemlich groben Flocken aus. Er wurde nach 48 Stunden abfiltriert und gut mit Wasser ausgewaschen. Die Filtrate waren noch stark braun gefärbt, lieferten jedoch auch nach längerem Stehen sowie nach Zusatz von mehr Eisessig nur noch eine ganz geringe Niederschlagsmenge.

Der braune Niederschlag wurde noch feucht auf dem Filter mit 4%iger Natronlauge behandelt, wobei er sich nahezu vollständig löste. Die alkalische schön violett-rot gefärbte Lösung versetzten wir solange tropfenweise mit Eisessig, bis — fast plötzlich — eine Ausflockung eintrat. Nach 48 stündigem Stehen wurde durch ein kleines gehärtetes Filter abgesaugt, wobei sich das Filtrat als nur noch ganz schwach bräunlich erwies, und mehrfach mit Wasser nachgewaschen. Die noch feuchten braunen Niederschläge wurden nunmehr mit Methylalkohol, in dem sie schwer löslich sind, aufgeschwemmt und unter guter Eiskühlung durch Einleiten von trockenem HCl-Gas bis zur Sättigung verestert. Hierbei löst sich nahezu der gesamte Niederschlag mit schön himbeerroter Farbe. Nach 24 stündigem Stehen unter häufigem Umschütteln wurde mit dem gleichen Volumen Methylalkohol verdünnt und die Lösung abfiltriert. Auf dem Filter blieb ein geringer, einheitlich krystallinischer, bräunlicher Rückstand, dessen mikroskopisches Bild ihn ohne weiteres als reine Harnsäure charakterisiert. Einen schwefelhaltigen Körper, wie ihn H. Fischer an dieser Stelle fand, konnten wir in unserem Falle nicht feststellen<sup>1)</sup>.

Zur Isolierung des Esters wurde die alkoholische Lösung, die nunmehr 200 ccm ausmachte, in 600 ccm Wasser gegossen,

<sup>1)</sup> In seiner neuesten Publikation vermißt auch Fischer den S-haltigen Anteil des roten Farbstoffs.

und der Ester durch Zusatz von fester pulverisierter Soda bis zur alkalischen Reaktion in Freiheit gesetzt. Unter Umschlag der Farbe in Braun trübt sich hierbei die Lösung. Durch Ausschütteln mit Chloroform gelingt es leicht, den gesamten Farbstoff in die Chloroformlösung überzuführen, die hierbei rote Farbe annimmt. Die Chloroform-Lösung wurde durch ein doppeltes trocknes Filter gegossen und im Vakuum bei gewöhnlicher Temperatur zur Trockne verdunstet. Der Rückstand, von brauner Farbe, ist scheinbar vollständig krystallisiert. Unter dem Mikroskop sieht man ein einheitliches Bild feiner büschelförmig vereinter Nadeln, wie sie H. Fischer in seiner ersten Arbeit für den Urinporphyrin-Methylester abgebildet hat. Aus zwei Litern des Trionalharns erhielten wir 0,1324 g dieses Rückstandes.

Zur Reinigung wurde, gemäß den Angaben von Fischer, in wenig Chloroform gelöst und sodann mit siedend heißem Methylalkohol versetzt. Es krystallisiert sehr bald ein voluminöser, aus schönen feinen Nadeln bestehender Niederschlag, der abgesaugt, mit Methylalkohol-Chloroform (3 : 1) ausgewaschen und im Vakuum getrocknet 0,0524 g wog. Das stark gefärbte Filtrat gab auch nach erneutem Eindunsten und nochmaligem Behandeln mit Chloroform-Methylalkohol keine weitere Krystallisation.

Der Schmelzpunkt des Präparats lag, nicht ganz scharf, bei 255—257 Grad. Die Krystalle wurden nochmals in der gleichen Weise umkrystallisiert; der Schmelzpunkt blieb indessen der gleiche. Für Urinporphyrin-Methylester fand H. Fischer 290°. Der niedere Schmelzpunkt, der eher mit dem des Kotporphyrins übereinstimmt, für den Fischer 249—250° angibt, legte zunächst die Vermutung nahe, daß es sich um diesen Körper und nicht um das Urinporphyrin handle. Hiergegen sprach das Verhalten des schön krystallisierenden Kupfersalzes, das nach den Angaben von Fischer leicht erhalten wurde und das nicht, wie das Salz des Kotporphyrinesters bei 284° schmolz, sondern in Übereinstimmung mit dem Verhalten der Cu-Verbindung des Urinporphyrinesters auch bei 305° noch nicht geschmolzen war.



Die analytischen Daten gaben die Entscheidung. Herr Dr. Lieb in Graz, der auch die Analysen der Fischerschen Präparate ausgeführt hatte, übernahm auch in unserem Falle in freundlichem Entgegenkommen die mikro-analytischen Bestimmungen unseres Esters. Er übermittelt uns folgendes: Die Substanz wurde im Vakuum über Chlorcalcium und Paraffin getrocknet. Sie ist nicht hygroskopisch und enthält nur eine Spur zurückwägbarer Asche.

1. 4,381 mg: 0,012 mg Asche = 0,27%;

9,705 mg CO<sub>2</sub>; 2,29 mg H<sub>2</sub>O = 60,42% C; 5,85% H.

2. 4,793 mg: 0,011 mg Asche = 0,23%;

10,615 mg CO<sub>2</sub>; 2,47 mg H<sub>2</sub>O = 60,40% C; 5,77% H.

3. 5,028 mg (730 mm, 19,5°): 0,267 ccm N = 5,95% N.

4. 3,83 mg: 6,45 mg AgJ = 22,25% OCH<sub>3</sub>.

Berechnet für: C<sub>47</sub> H<sub>50</sub> N<sub>4</sub> O<sub>16</sub>:

C 60,88%, H 5,44%, N 6,5%, OCH<sub>3</sub> 23,42%.

Die analytischen Werte stimmen also ausreichend zu den für das Urinporphyrin berechneten Zahlen.

Nach H. Fischer vermag das Urinporphyrin weiße Mäuse gegen Sonnenlicht zu sensibilisieren. Wir konnten das Gleiche für den von uns isolierten Farbstoff feststellen.

Versuch 1: vom 14. III. Zwei weiße Mäuse von je 20 g Gewicht erhalten je 2 ccm einer verdünnten, schwach alkalischen Lösung des Farbstoffs subcutan injiziert, so wie er durch Fällen des Harns mit Eisessig, Auswaschen des Niederschlags und erneute Umfällung aus NaOH und Eisessig gewonnen wird.

Maus 1 kam sofort ins Dunkle und blieb hier tagelang ohne jede pathologische Erscheinung.

Maus 2 wurde um 11<sup>50</sup> Uhr vormittags ins helle Sonnenlicht gebracht. Sie wird bald äußerst unruhig, zerkratzt sich die Nase und beknabbert ihre Pfoten. Pfoten, Schwanz und Schnauze sehen blaurot aus. Schon um 12<sup>31</sup> Uhr macht das Tier einen sehr matten Eindruck. Es wird um 12<sup>50</sup> Uhr aus der Sonne genommen und von da ab im Zimmer bei diffusem Tageslicht gehalten. Das Tier wird zusehends schwächer und geht um 4<sup>30</sup> Uhr ein.

**Versuch 2. 16. III.** 4 weiße Mäuse erhalten von einer verdünnten Farbstofflösung folgende Dosen: Maus 1 1 ccm, Maus 2 und 3 je 2 ccm, Maus 4 3 ccm.

Maus 3 kommt ins Dunkle, die übrigen werden um 9<sup>30</sup> Uhr in die Sonne gebracht. Es wiederholen sich die gleichen Erscheinungen wie in Versuch 1, besonders bei den Tieren 1 und 2, während 4 sehr schnell matt wird.

Maus 4 wird nach 30 Minuten, Maus 1 und 2 werden nach 1<sup>1</sup>/<sub>4</sub> Stunden aus dem Sonnenlicht entfernt. Nr. 2 ist schon um 6 Uhr abends äußerst matt und liegt auf der Seite. Sie wird ebenso wie Nr. 4 am nächsten Tag tot aufgefunden.

Nr. 1 erholt sich langsam im Laufe der folgenden Tage, sieht aber immer «verschwollen» aus. Am 21. III. tritt an beiden Ohren Verschorfung auf, die an den folgenden Tagen zunimmt. Am 23. III. wird das Tier tot aufgefunden.

Maus 2 im Dunkeln gehalten, bleibt dauernd gesund.

Geht schon aus dem geschilderten Verhalten der Tiere die starke Sensibilisierung zweifellos hervor, so ergab die von Herrn Dr. Adler am hiesigen Institut vorgenommene mikroskopische Untersuchung bei allen 4 an der Sensibilisierung gestorbenen Tieren einen sehr charakteristischen, gemeinsamen pathologischen Befund, im wesentlichen charakterisiert durch kapilläre Blutungen in fast allen Organen. Dies Bild war in der chronisch erkrankten Maus 1 besonders ausgeprägt. Herr Dr. Adler wird hierüber an anderer Stelle eingehender berichten.

Fassen wir unsere Befunde zusammen, so gelangen wir zu dem Schluß, daß der von uns aus dem Harn eines Falles von Trionalvergiftung isolierte Farbstoff auf Grund der analytischen Daten, des spektroskopischen Befundes und des chemischen und biologischen Verhaltens mit dem von H. Fischer bei einem Fall von kongenitaler Porphyrinurie entdeckten Urinporphyrin identisch oder isomer erscheint.

Ob die immerhin erhebliche Abweichung im Schmelzpunkt des Methylesters auf eine, wenn auch geringe Beimengung oder eine andere Ursache zurückzuführen ist, vermögen wir heute nicht zu entscheiden.

---

Trionalharn +  $\frac{1}{2}$  Vol. Wasser, 2 cm Schichtdicke.

Trionalharn + 1-1 $\frac{1}{2}$  Vol. Wasser,  $\frac{1}{2}$  cm Schichtdicke.

Harnfarbstoff, durch Essigsäure gefällt in  $\frac{1}{10}$ -N.-KOH gelöst. 1 cm Schichtdicke.

Dieselbe Lösung nach 24 Stdn. (dunkelgelb), 1 cm Schichtdicke.

Farbstoff derselben Fällung in 1% Soda gelöst. Kein Blaustreifen.

