

# Beiträge zur Kenntnis der Haematoporphyrin congenita (H. Günther) und der natürlichen Porphyrine.

Von  
**O. Schumm.**

Mit einer Tafel.

(Aus dem chemischen Laboratorium des Allgemeinen Krankenhauses Hamburg-Eppendorf.)  
(Der Redaktion zugegangen am 30. September 1916.)

## Inhalt.

- I. Die pathologischen Farbstoffe des Blutes bei Haematoporphyrin congenita.
- II. Das Verhalten des Harns bei Haematoporphyrin congenita gegenüber einigen chemischen Proben.
- III. Die Absorptionserscheinungen des Harns bei Haematoporphyrin congenita im normalen (Gitter-)Spektrum.
- IV. Das aus dem Harn durch Essigsäure und Äther oder (nach Saille's Verfahren) durch Essigsäure und Essigäther ausziehbare Farbstoffgemisch.
- V. Die Absorptionserscheinungen der Porphyrine aus Urin und Faeces.
- VI. Vergleich der neu festgestellten spektrometrischen Grundwerte für die natürlichen Porphyrine mit den zugehörigen Werten des nach Nenckis Verfahren aus Blutfarbstoff dargestellten Hämatoporphyrins und Mesoporphyrins. — Das Porphyrin des Harns bei einem Falle von Haematoporphyrinogenurie und das Porphyrin der Knochen bei Haematoporphyrin congenita und bei tierischer Osteohämochromatose. Das von A. Ellinger und O. Riesser bei Trionalvergiftung gefundene Harnporphyrin.

## I. Die pathologischen Farbstoffe des Blutes bei Haematoporphyrin congenita.<sup>1)</sup>

Die von H. Günther<sup>2)</sup> als Krankheit eigener Art erkannte und genauer beschriebene Haematoporphyrin congenita<sup>3)</sup> zeigt als sinnfälligste Symptome: Nach Menge (und Art?) krankhafte

<sup>1)</sup> Eine vorläufige Mitteilung der Befunde erfolgte bereits am 3. Juni 1916 am wissenschaftlichen Abend im Eppendorfer Krankenhause, vgl. Hamburger Ärztekorrespondenz Nr. 28, 1916, 9. Juli.

<sup>2)</sup> H. Günther, Die Hämatoporphyrin. Dtsch. Archiv f. Klin. Med., Bd. 105, H. 1 u. 2, Dezember 1911, S. 89.

<sup>3)</sup> Ob es geboten ist, die von H. Günther gewählte Bezeichnung Haematoporphyrin congenita schon jetzt durch den Namen «Porphyrin congenita» zu ersetzen, möchte ich dahingestellt sein lassen. Der Name Hämatoporphyrin ist von F. Hoppe-Seyler für ein geradeswegs aus Blut-

Bildung und Ausscheidung von Porphyrinen in Harn und Faeces und Rot-(Braun-)Färbung des Harns, Porphyringehalt und Braunfärbung der Knochen, eigenartige Veränderung der dem Lichte ausgesetzten Stellen der Haut.

Die bisherigen Berichte über das Verhalten des Blutes mußten zu der Annahme führen, daß es weder ein Porphyrin oder dessen Leukobase (Porphyrinogen) enthielte noch sonst einen pathologischen Farbstoff besäße. Unter den von H. Günther als kongenitale Hämatorporphyrie aufgefaßten Krankheitsfällen sind bei den Patienten Vollmer und Petry Blutuntersuchungen ausgeführt worden. Im ersten Falle hat Prof. Nebelthau die Untersuchung ausgeführt, er schreibt: «Die Untersuchung des Blutes ergab eine gute Beschaffenheit desselben. Im Blutserum und in den Faeces konnte nie ein entsprechender Farbstoff nachgewiesen werden». <sup>1)</sup> Die Haut und Schleimhäute dieser Kranken hatten eine blaßbräunliche Färbung. Der Harn war ziegelrot bis burgunderrot. Über den zweiten, von ihm selbst untersuchten Fall «Petry» berichtet H. Günther, daß die Haut am ganzen Körper pigmentiert sei; im Gesicht fanden sich ziemlich symmetrisch angeordnete narbige Hautveränderungen, die dazwischen liegenden «normalen» Hautstellen waren «dunkelbraun pigmentiert». Der

farbstoff dargestelltes Porphyrin gebildet, später von Nencki auf ein aus Hämin dargestelltes Porphyrin übertragen worden. (Ähnlich ist es dem Namen Hämatin ergangen. Er gehört ursprünglich einem unmittelbar aus Blutfarbstoff gewonnenen Präparate, dem möglicherweise das natürliche, unter pathologischen Verhältnissen auftretende Hämatin und v. Zeyneks Verdauungshämatin nahestehen, und ist erst später auf einen aus Hämin dargestellten, anscheinend wesentlich verschiedenen Stoff übertragen worden. Man vergleiche hierzu die ausführliche Abhandlung W. Küsters, Beiträge zur Kenntnis des Blutfarbstoffs, Diese Zeitschr., Bd. 66, S. 165.) Für den Namen Porphyria congenita würde man sich allerdings wohl entscheiden müssen, wenn nachgewiesen werden sollte, daß das pathologische Auftreten der Porphyrine nicht unmittelbar durch einen pathologischen Blutfarbstoffzerfall bedingt ist, sondern daß das primär entstandene Porphyrin (nach Fischer also das Kotporphyrin) eine Stufe eines abnorm gerichteten oder eines vorzeitig unterbrochenen synthetischen Vorganges auf dem Wege zur Bildung des Blutfarbstoffs darstellt.

<sup>1)</sup> E. Nebelthau, Beitrag zur Lehre vom Hämatorporphyrin des Harns, Diese Zeitschr., Bd. 27, 1899, S. 334.

Harn war ziegelrot bis burgunderrot und gab negative Reaktionen mit den «Blutproben» von Almén, Boas und Adler-Schlesinger-Holst. Die Blutuntersuchung ergab: «4148000 Erythrocyten, 6400 Leukocyten, 90% Hämoglobin. Unter 400 Erythrocyten: Polynucleäre neutrophile 55,3%, polynucleäre eosinophile 4%, Mastzellen 0,5%, Übergangsformen 1,5%, große mononucleäre ungranulierte Leukocyten 3,5%, Lymphocyten 32,7%, Myeloblasten 2,5%. Eine an der Bonner Hautklinik sowie im Hygienischen Institut vorgenommene Untersuchung nach Wassermann fiel negativ aus. Die v. Pirquetsche Kutanreaktion war ebenfalls negativ». Angaben über einen pathologischen Farbstoffgehalt des Serums liegen nicht vor. In Übereinstimmung hiermit schreibt H. Günther auf Seite 101: «Auch der normale Blutbefund bei kongenitaler Hämatoporphyrie, besonders das Fehlen von Jugendformen der Blutzellen und von hämolytischem Serum spricht gegen einen gesteigerten Hämoglobinabbau, welcher sehr bedeutend sein müßte».<sup>1)</sup> Neuerdings hat H. Fischer in München das Blut desselben Patienten (Petry) zweimal untersucht; er berichtet darüber folgendes:<sup>2)</sup> «Zweimal hatte ich Gelegenheit, das Serum des Patienten auf Porphyrin zu untersuchen, jedoch beidemal ohne Erfolg. Selbstverständlich habe ich ganz besonders darauf Rücksicht genommen, ob nicht etwa der Farbstoff als Leukoverbindung vorhanden sei, jedoch konnte keinerlei Anhaltspunkt für das Vorkommen derselben gewonnen werden. O. Neubauer hatte die Freundlichkeit, das Serum mikroanalytisch auf verschiedene Bestandteile zu untersuchen, und teilte mir folgendes mit: «Farbe: hellgelb (Porphyrin nicht nachweisbar), Durchsichtigkeit: etwas trüb, spez. Gew.: 1,030, Gefrierpunktserniedrigung; 0,56°, Reststickstoff: 33, Harnsäure: 4,7, Kreatinin: 0,92, Kreatin: 1,38, alles in Milligramm ausgedrückt für 1000 ccm Serum. Dies sind normale Werte, Harnsäure an der oberen Grenze des Erlaubten». Ob das

<sup>1)</sup> Im Original nicht gesperrt gedruckt.

<sup>2)</sup> H. Fischer, Beobachtungen am frischen Harn und Kot von Porphyrinpatienten, Diese Zeitschr., Bd. 97, S. 166, 1916. (Der Redaktion zugegangen am 22. März 1916.)

Serum auch auf Farbstoffe der Hämatin-Gruppe untersucht wurde, ist nicht angegeben. In seiner Mitteilung in der Münchener medizinischen Wochenschrift<sup>1)</sup> veröffentlicht H. Fischer folgendes Ergebnis einer von Herrn Dr. Jansen am Blute von Petry ausgeführten Untersuchung: «2,5 Millionen rote, 3900 weiße Blutkörperchen im Kubikzentimeter. Hämoglobin 58%, Färbeindex 1,016. Ausstrichzählung unter 200 Leukocyten: Polynucleäre Neutrophile 53%, kleine und große Lymphocyten 44%, Mononucleäre und Übergangsformen 2%, Eosin. 1%, Mastzellen —, pathologische Formen keine». Ebenda wird angegeben, daß eine Milzschwellung besteht, die zur Zeit des Aufenthalts in Bonn noch nicht vorhanden war. Die Wassermannsche Reaktion ist bei der letzten Untersuchung in München ebenso wie früher an andern Orten negativ gefunden worden.

Der Harn enthält nach Fischer neben den Porphyrinen einen hämatinähnlichen Farbstoff, der aber nach Fischers neuester Angabe eisenfrei ist; es kann sich demnach, wie Fischer auch selbst hinzufügt, nicht um Hämatin handeln.<sup>2)</sup> Ich habe ein Hämatin weder bei früheren Fällen von Hämatoporphyrinurie noch bei diesem im Harn gefunden.<sup>3)</sup>

Wenngleich nach den oben geschilderten Erfahrungen wenig Aussicht zu bestehen schien, daß sich am Blute dieses Patienten Erscheinungen von Hämolyse geschweige denn ein Gehalt an pathologischen Blutfarbstoffabbauprodukten würde nachweisen lassen, so entschloß ich mich doch, eine Untersuchung des Blutes auszuführen. Das Ergebnis war überraschend: Das sogleich nach der Entnahme zentrifugierte Blut lie-

<sup>1)</sup> H. Fischer, Über Porphyrinurie, Vortrag im Ärztlichen Verein zu München am 26. I. 16, veröffentlicht in der Münchner Mediz. Wochenschrift 1916, Nr. 11, S. 377.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschr., Bd. 97, S. 148.

<sup>3)</sup> Herr Prof. Dr. H. Fischer hatte seinerzeit die Freundlichkeit, mich zu benachrichtigen, daß der Kranke Petry die Münchener Klinik verlassen würde, und brachte seine Aufnahme in unsere Anstalt in Vorschlag. Herr Prof. Dr. E. Fraenkel, seit Kriegszeit stellvertretender ärztlicher Direktor des Eppendorfer Krankenhauses, hat die Ausführung dieses Planes in wohlwollendster Weise unterstützt, sodaß die Aufnahme des Kranken in unsere Anstalt ermöglicht werden konnte. Ich erhielt dadurch die Gelegenheit, die hier beschriebenen Untersuchungen am Blut und den Ausscheidungen des Kranken auszuführen.

ferte ein schwach opalisierend getrübtes Serum von eigenartiger, schon in ein Zentimeter Schichtdicke deutlich bräunlich-gelber Farbe, das wenig Oxyhämoglobin, aber ziemlich reichlich Hämatin<sup>1)</sup> und eine sehr geringe, aber zweifellos nachweisbare Menge Porphyrin enthielt. Dagegen ließ sich ein pathologisch erhöhter Bilirubingehalt nicht feststellen. Das Blut war dem Kranken am 2. Juni 1916 nachmittags, 2 Stunden nach dem Mittagessen, von Herrn Dr. Brütt durch Venenpunktion entnommen worden. Die Sera aus beiden Zentrifugengläsern verhielten sich vollständig gleich. Der Gehalt an Hämatin war Ht. 8. Am nächsten Tage wurde dem Kranken nach dem ersten Frühstück morgens 10 Uhr von Herrn Dr. Brütt nochmals Blut (70—80 ccm) entnommen, in peinlichst gereinigten trockenen Zentrifugengläsern aufgefangen und sogleich von mir untersucht. Das Serum glich nahezu dem des vorigen Tages, war aber klar und anscheinend noch etwas stärker bräunlich gefärbt. Der Gehalt an Hämatin war Ht. 10; die Reaktionen auf Porphyrin noch etwas deutlicher als bei dem Serum des vorigen Tages. Ein erhöhter Bilirubingehalt war nicht festzustellen. Das Blut hat demnach eine ausgesprochen pathologische Beschaffenheit. Ob die positive Porphyrinreaktion auch eine speziell-pathognomonische Bedeutung hat, läßt sich noch nicht sagen, da das Blut bei anderen Formen von Hämatoporphyrinurie einer gleich scharfen Prüfung bislang noch nicht unterworfen worden ist. Der Gehalt des Serums an Hämatin ist ungefähr so stark, wie ich ihn zum Beispiel bei mehreren Fällen von perniziöser Anämie im Stadium starker Verschlechterung und bei Fällen von schwerer Dinitrobenzolvergiftung gefunden habe.

Während das Hämatin bei so beträchtlichem Gehalt verhältnismäßig leicht aufzufinden ist, gelingt der einwandfreie Nachweis des Porphyrins nur, wenn man die Untersuchung mit einem sehr genau eingestellten Spektrometer ausführt, dessen optische Verhältnisse so gewählt sind, wie es nach meinen

<sup>1)</sup> Vgl. O. Schumm, Über den Nachweis von Hämatin im menschlichen Blutserum, diese Zeitschr. Bd. 87, 1913, S. 177: Hämatin als pathologischer Bestandteil des Blutes, diese Zeitschr. Bd. 97, 1916, S. 32.

früher bereits mitgeteilten Feststellungen für solche Aufgaben notwendig ist. Auch muß der Spalt des Spektrometers so fehlerfrei sein, daß das Spektrum noch bei 0,02 — 0,03 mm Spaltbreite vollkommen rein erscheint. Der unten mitgeteilte Auszug aus den Versuchsprotokollen läßt erkennen, daß die einfache spektroskopische Beobachtung des Serums den Porphyrinnachweis nicht ermöglichte, daß aber der Zusatz von Kalilauge oder von wenig Salzsäure genügte, um die zutreffenden Porphyrinspektren deutlich genug hervorzurufen.

Im Hinblick auf die von H. Fischer aufgeworfene Frage, ob im Organismus zuerst das Kotporphyrin entsteht oder das Urinporphyrin, wäre es von Bedeutung, das im Blute aufgefundene Porphyrin näher zu kennzeichnen. Leider lassen sich über seine Art vorläufig nur Vermutungen äußern. Ich halte es auf Grund der unten angeführten Messungsergebnisse für unwahrscheinlich, daß das Kotporphyrin überwiegt, für ziemlich sicher, daß das Blutporphyrin spektralanalytisch dem Urinporphyrin oder allenfalls einem Porphyringemisch gleicht, in dem das Urinporphyrin überwiegt. Für die Vermutung, daß im Organismus des Kranken noch ein anderes Porphyrin gebildet werde, das bei abweichender chemischer Zusammensetzung spektralanalytisch nicht vom Harnporphyrin zu unterscheiden sei, fehlt vorläufig jeder Anhaltspunkt; denn daß das von mir bei unserem früheren Falle von kongenitaler Hämatorporphyrie<sup>1)</sup> im Knochengerüst aufgefundene Porphyrin von Fischers Harnporphyrin verschieden sei, ist bislang nicht erwiesen. Die tatsächlichen Feststellungen widerstreiten also der Vermutung, daß im Blute vorwiegend Kotporphyrin vorhanden sei, stehen aber sehr wohl im Einklang mit der Annahme, daß das Blut überwiegend oder ausschließlich Harnporphyrin enthalte. Leider liegt eine Identifizierung so geringer Mengen von Porphyrin auf rein chemischem Wege vorläufig jenseits aller Möglichkeiten. Es bleibt noch zu erörtern, ob das Porphyrin im Blut frei (oder anorganisch gebunden) oder in Gestalt einer leicht spaltbaren Vorstufe vorhanden ist.

<sup>1)</sup> C. Hegler, Eug. Fraenkel und O. Schumm, Zur Lehre der Haematoporphyria congenita, Deutsche medizin. Wochenschrift 1913, Nr. 18.

Für die letztere Annahme hat sich ein sicherer Anhaltspunkt bislang nicht ergeben. Dagegen bin ich nicht überzeugt, daß das Blut vollkommen frei von der Leukobase des Porphyrins ist. Der Versuch, in dem Blutserum unter dem Einfluß eines Oxydationsmittels einen Zuwachs an Porphyrin zu beobachten, hatte kein sicheres Ergebnis. Ich hatte aber den Eindruck, daß das Serum unter dem Einfluß des Sonnenlichts im Laufe eines Tages etwas nachdunkelte. Diese Frage bedarf noch der Nachprüfung.

Es fragt sich, ob das Porphyrin ganz oder teilweise durch Einwirkung der Kalilauge oder Salzsäure auf das im Blutserum vorhandene Hämatin gebildet sein könnte. Eine solche Annahme erscheint mir nicht berechtigt, weil es mir trotz zahlreicher Versuche nicht gelungen ist, die Bildung von Porphyrin in Mischungen aus Körpern der Hämatin-Gruppe mit Kalilauge oder Salzsäure in der Kälte unter den hier in Betracht kommenden Bedingungen zu beobachten, und weil zur genauen Beobachtung gut geeignete pathologische Sera anderer Kranker mit verschieden starkem Hämatin-gehalt bei gleicher Behandlung nicht die Porphyrinspektren lieferten. Nicht ganz auszuschließen ist die Möglichkeit, daß in obigem Blutserum eine bisher unbekannte Vorstufe des Porphyrins enthalten sei, aus der durch wenig Salzsäure bei gewöhnlicher Temperatur Porphyrin abgespalten wird und die sowohl in hämatinhaltigem und hämatin-freiem Serum anderer Kranker als auch im Serum Gesunder fehlt. Damit würde natürlich die biologisch wichtige Tatsache des Vorkommens einer unbekannteren Stufe zwischen Oxyhämoglobin (bezw. Hämatin) und Porphyrin im Blutserum bei Hämatoporphyrin bewiesen sein. Eine Abspaltung kleiner Mengen von Porphyrin aus dem Oxyhämoglobin des Serums bei Zusatz von Salzsäure oder Kalilauge kommt, wie ich mich wiederholt überzeugt habe, nicht in Frage.

Als unmittelbarer Anhaltspunkt für die Uranwesenheit von Porphyrin im Blut sind folgende Eigentümlichkeiten des vom reinen Serum erzeugten Spektrums geltend zu machen: Die Form der Absorption im Rot, d. h. die Andeutung eines Streifens ungefähr auf  $\mu\mu$  615 neben der weiter nach Rot ausgedehnten Absorption des Hämatins. Der theoretisch zu fordernde

zweite Streifen dürfte durch den ersten Oxyhämoglobinstreifen übertönt sein, während das Maximum des dritten Streifens ( $538\frac{1}{2}$ ) mit dem dritten Streifen des Porphyrins übereinstimmt (vgl. Abschnitt V). Ein Methämoglobinstreifen kommt nicht in Betracht. Der zweite, bekanntlich schwächere Oxyhämoglobinstreifen wird also offenbar durch den verhältnismäßig starken dritten Streifen des Porphyrins übertönt. Für die Zulässigkeit obiger Auffassung spricht die Tatsache, daß ich noch kürzlich im Blutserum zweier Fälle von perniziöser Anämie, die beide neben einem schwachen Oxyhämoglobingehalt einen Hämatiningehalt von Ht 8 aufwiesen, den ersten Streifen des Oxyhämoglobins zu  $577\frac{3}{4}$ , den zweiten zu ca. 542 bestimmen konnte. Es verdient noch hervorgehoben zu werden, daß die Anwesenheit selbst eines beträchtlichen Hämatiningehalts sich beim Nachweis des Porphyrins in genügend KOH enthaltender Lösung nicht störend bemerkbar macht, da die dem Hämatin eigene Absorption im Grün dann verhältnismäßig recht schwach ist. Auch ein gleichzeitiger Gehalt an Oxyhämoglobin stört nicht erheblich, da dieses unter dem Einfluß des Kaliumhydroxydes ja ebenfalls in einen hämatinartigen Körper umgewandelt wird. Eine Anzahl Sera von Kranken mit verschieden starkem Oxyhämoglobingehalt und von Gesunden wiesen bei den unten näher angegebenen Proben keine Spur von Porphyrin auf.

Angesichts der Tatsache, daß das Blut des Patienten Petry jetzt eine ausgesprochen pathologische Beschaffenheit aufweist, erhebt sich naturgemäß die Frage, ob es diese geschilderten Eigenschaften erst seit kurzem angenommen hat, oder ob sie bei früheren Untersuchungen unemerkt geblieben sind. Eine Untersuchung auf Hämatin ist in H. Fischers Arbeiten nicht erwähnt.<sup>1)</sup> Die von O. Neubauer als hellgelb bezeichnete Farbe des Serums schließt die Anwesenheit von Hämatin ebensowenig aus wie diejenige einer kleinen Menge Porphyrin. Dieses kann trotz darauf gerichteter Untersuchung bei der Schwierigkeit des Nachweises sehr wohl

<sup>1)</sup> Bekannt ist das Vorkommen von Hämatin im Blutserum bei pathologischem Blutkörperchenzerfall erst seit 1912 (O. Schumm, Diese Zeitschrift, Bd. 80, S. 1, dort Spektraltafel).

übersehen worden sein, zumal wenn der Gehalt des Blutes an Porphyrin zeitweilige Schwankungen erleidet. Einer solchen Annahme steht nichts im Wege, solange nicht die Stetigkeit im Porphyringehalt des Blutes erwiesen ist. Es könnte dann vom Zufall abhängen, ob man bei der Blutentnahme gerade die Phase trifft, in der der Porphyringehalt den Schwellenwert der Nachweisbarkeit erreicht hat. Vorläufig liegt auch kein Grund vor, anzunehmen, daß der Hämatin Gehalt des Blutes erst neuerdings aufgetreten sei, und etwa als Erscheinung einer Komplikation oder Verschlimmerung gedeutet werden müsse.<sup>1)</sup> Das Befinden des Patienten ist subjektiv das gleiche wie während seines Münchener Aufenthaltes.<sup>2)</sup>

Nachschrift: Am 23. vormittags 10 Uhr wurde dem Kranken von Herrn Dr. Brütt nochmals Blut entnommen und von mir sogleich untersucht. Das Serum war nach meiner Schätzung um ein geringes heller als bei der ersten und zweiten Blutentnahme. Immerhin war es in 1 cm noch deutlich braunstichig-gelb. Es enthielt wenig Oxyhämoglobin, in mäßiger Menge Ht (Ht 5) und nur in eben nachweisbarer Menge Porphyrin.

<sup>1)</sup> Für die perniziöse Anämie ist das anfallsweise Auftreten bzw. zeitweilige Verschwinden des Hämatins aus dem Blutserum sicher erwiesen und wird von mir in Übereinstimmung mit den die Fälle überwachenden Klinikern auf jäh einsetzenden, also schubweise erfolgenden Blutkörperchenzerfall zurückgeführt.

<sup>2)</sup> Herr Dr. med. Theys hatte die Freundlichkeit mir zu berichten, daß bei den von ihm Anfang und Mitte Oktober 1916 vorgenommenen eingehenden Untersuchungen des Kranken außer den schon von anderer Seite beschriebenen Krankheitssymptomen neue nicht beobachtet werden konnten. Nur war der Färbeindex des Blutes 1,1. — Die Anfang Oktober ausgeführte Blutuntersuchung ergab: Rote Blutkörperchen 2'980'000, Hämoglobin 66%, Färbeindex 1,1, weiße Blutkörperchen 6700. Bei einer weiteren, Mitte Oktober vorgenommenen Untersuchung erhob Herr Dr. Theys etwa den gleichen Befund, die Zahl der roten Blutkörperchen war noch ein wenig geringer. Gleichzeitig wurde von mir nochmals eine Untersuchung des Blutserums ausgeführt. Das Blut wurde vormittags durch Venenpunktion entnommen und sogleich verarbeitet. Das Blutserum war in 1 cm Schichtdicke bräunlich-gelb und klar und verhielt sich bei den Reaktionen auf die pathologischen Farbstoffe wie das Serum bei der zweiten, 4<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Monate früher vorgenommenen Blutentnahme, Hämatin Gehalt 11, Porphyrinreaktionen positiv, kein pathologisch erhöhter Bilirubingehalt, Spur Oxyhämoglobin, Reaktionen auf Methämoglobin negativ.

Es unterliegt demnach keinem Zweifel, daß der Gehalt an Hämatin sowohl wie an Porphyrin bei diesem Falle bedeutende Schwankungen aufweist. Bei dieser letzten,<sup>1)</sup> ungefähr 3 Wochen nach den beiden ersten erfolgten Blutentnahme liegt der Porphyringehalt nahe an der Grenze der Nachweisbarkeit, während der Hämatingehalt leicht erkennbar ist. Ein ursächlicher Zusammenhang zwischen der Höhe des Gehaltes an Hämatin und Porphyrin und der Einwirkung des Sonnenlichtes auf den Kranken ist vorläufig nicht feststellbar gewesen. Leider ist eine fortlaufende Beobachtung der zeitlichen Schwankungen in kleinen Zeitabständen nicht zugänglich, weil die Untersuchungen an ganz kleinen Blutmengen nicht durchführbar sind.

#### Belege.

Erste Blutentnahme: 2 Uhr nachmittags, 2 Stunden nach dem Mittagessen. Blutserum bräunlich-gelb, schwach opalisierend getrübt.

##### a) Reines Serum:

In 1 cm Schichtdicke: Sehr schwacher Schatten im Rot, schmaler symmetrischer Streifen auf 577, dunklerer und etwas breiterer symmetrischer Streifen, Mitte etwa 538<sup>1/2</sup>. Verwaschene Absorption im Rest des Grüns und im Blau.

In 2 cm Schichtdicke: Schwacher breiter Schatten im Rot, rotwärts nicht abgegrenzt, gelbwärts bis etwa 610 reichend, Streifen wie oben.

In 3 cm Schichtdicke: Schwacher, aber sehr breiter Streifen im Rot, etwa wie bei hämatinreichem Serum, rotwärts nicht deutlich abgegrenzt, aber mit einem geringen, schwer erkennbaren Maximum auf ungefähr 615. Die Absorption reicht bis etwa 605. Die übrigen Streifen wie oben, natürlich stärker, Blau und Violett ausgelöscht.

b) Zusatz von etwas konzentrierter Sodalösung bewirkt weder Abschwächung der Absorption im Rot, noch eine andere deutliche Veränderung, es zeigt sich nicht der Streifen des alkalischen Methämoglobins.

c) Auch die Reaktion auf Methämoglobin mit Schwefelammonium zur Überführung in Oxyhämoglobin (Zusatz einer

<sup>1)</sup> Vgl. aber die Angabe über die vierte Blutuntersuchung in Anm. 2 auf voriger Seite.

Spur Schwefelammonium und Schütteln mit Luft) läßt die Anwesenheit von Methämoglobin nicht erkennen.

d) Überschichtet man das Serum im Absorptionsgefäß mit wenig Äther, setzt Schwefelammonium hinzu und mischt durch vorsichtiges Umrühren, so verschwindet der breite Schatten im Rot; ob ein Rest der Absorption auf ca. 615 bestehen bleibt, ist nicht einwandfrei feststellbar. Gleichzeitig mit dem Schwächerwerden der beiden Absorptionsstreifen im Gelb und Grün entsteht zwischen beiden ein schmaler neuer I. Absorptionsstreifen des Hämochromogens; der Ort des Streifens wird zu 559 bestimmt. Auch der zweite viel schwächere Absorptionsstreifen des Hämochromogens ist wahrnehmbar; ziemlich stark positive Hämatinreaktion. Der Hämatin Gehalt wird bestimmt zu Ht 8 (d. h. der erste Absorptionsstreifen des Hämochromogens ist noch in 0,5 cm Schichtdicke eben deutlich erkennbar und meßbar).

e) Serum mit der 3fachen Menge 25%iger Salzsäure verdünnt, in 4 cm Schichtdicke: Kein Porphyrinspektrum.

Serum mit gleichviel 25%iger Salzsäure verdünnt, Flüssigkeit klar, in 2 cm Schichtdicke: Porphyrinspektrum nicht identifizierbar, in 3 cm: Porphyrinspektrum angedeutet.

1 ccm Serum und 3 Tropfen 25%ige Salzsäure: Eiweißfällung macht die Beobachtung unmöglich.

1½ ccm Serum mit 1 Tröpfchen 25%iger Salzsäure gut gemischt, in 2 cm Schichtdicke: «Porphyrin-Säurespektrum», sehr zarter Streifen auf etwa  $\mu\mu$  593, breiterer und etwas dunklerer symmetrischer Streifen auf etwa 549. Zwischen beiden Andeutung eines dritten Streifens.

2 ccm Serum und 1 Tropfen 25%iger Salzsäure, in 3 cm Schichtdicke: Porphyrin-Säurespektrum, I. Streifen etwa 592½, II. Streifen etwa 549, dazwischen eben wahrnehmbar der schwächste dritte Streifen auf ungefähr 572.

Derselbe Versuch wiederholt: gleiches Ergebnis.

3 ccm Serum und 2 Tropfen 25%iger Salzsäure, in 2 cm: Porphyrin-Säurespektrum, in 3 cm noch deutlicher, Zusatz von ¼ Vol. 15%iger Kalilauge: alkalisches Porphyrin-

spektrum, I. sehr zarter Streifen im Orange auf etwa 612, II. eben angedeuteter Streifen auf etwa 560, III. deutlicher schmaler symmetrischer Streifen auf 538, starke Absorption von ungefähr 507 ab, nach Violett nicht deutlich abgegrenzt.

Derselbe Versuch wiederholt: gleiches Ergebnis; für das alkalische Spektrum: I.  $611\frac{1}{2}$ , II.  $560\frac{1}{2}$ , III.  $538\frac{1}{2}$ ; bei Zusatz von Chlorzink zu der alkalischen Flüssigkeit: Umwandlung in das zweistreifige metallische Porphyrinspektrum: I. verhältnismäßig breiter Streifen auf 579 (Fehlerbereich der Messung zu  $1-1\frac{1}{2}$   $\mu\mu$  geschätzt), II. breiter Streifen auf ungefähr 539 (Fehlerbereich zu einigen  $\mu\mu$  geschätzt.)

3 ccm Serum und 2 Tropfen Salzsäure: Porphyrin-Säurespektrum; bei genauester Untersuchung des zweiten Hauptstreifens zeigt sich, daß er symmetrisch ist und im mittleren Teil nicht das schmale Minimum zeigt, wie es das Spektrum des Kotporphyrins in salzsaurer Lösung an dem entsprechenden Streifen deutlich aufweist (vgl. Abschnitt V).

Zweite Blutentnahme: am nächsten Vormittage, 10 Uhr.

Blutserum bräunlich-gelb, vollkommen klar, spektroskopische Untersuchung noch in 4 cm Schichtdicke gut ausführbar. Spektralerscheinungen wie am Serum des vorigen Tages, wegen der vollkommenen Klarheit noch etwas deutlicher. Alle oben beschriebenen chemisch-spektroskopischen Proben wurden an diesem Serum wiederholt. Das Serum zeigt dabei das gleiche Verhalten wie das vorige, nur wird der Hämatingehalt etwas höher gefunden (Ht. 10), und die Porphyrinspektren erscheinen noch um ein geringes deutlicher. Die oben mitgeteilten Werte für den Ort der Absorptionsstreifen wurden bestätigt. Mischungen aus 3 ccm Serum und 2 Tropfen 25%ige Salzsäure sind auch diesmal klar genug, um in 3 cm Schichtdicke spektrometrisch einwandfrei untersucht werden zu können. Im Gemisch aus Serum und etwa  $\frac{1}{4}$  Raumteil 15%iger Kalilauge ist das Porphyrin an dem alkalischen Porphyrinspektrum zu erkennen. Eine Probe Serum, die mit sehr wenig verdünnter Kaliumpermanganatlösung und danach vor-

sichtig mit Salzsäure versetzt wird, ließ die Absorptionsstreifen des Porphyrins nicht sicher stärker erscheinen als im analogen Versuch ohne Kaliumpermanganat, sodaß die Anwesenheit von Porphyrinogen durch diese Probe nicht erwiesen worden ist. Serum wurde mit einer kleinen Menge des zugehörigen Blutkörperchenbreis gemischt und der Probe mit Salzsäure allein unterworfen: der I. Streifen des Porphyrin-Säurespektrums ist identifizierbar, der II. durch den sehr starken Streifen im Grün verdeckt, der dem durch die Salzsäure gebildeten zu reichlich vorhandenen Umwandlungsprodukt des Oxyhämoglobins angehört. Nach Zusatz einer genügenden Menge Kalilauge wird das alkalische Porphyrinspektrum bemerkbar, nach Zusatz von Chlorzink wird das zweistreifige metallische Porphyrinspektrum erkennbar.

Wässrige Auszüge des Blutkörperchenbreis, die in möglichst hoher Konzentration untersucht werden, lassen einen dem Methämoglobin oder Porphyrin zukommenden Streifen im Rot oder Orange nicht erkennen.

Dritte Blutentnahme, 20 Tage nach der zweiten.

Serum nahezu klar, nur sehr schwach opalisierend, in 3 cm Schichtdicke folgendes Spektrum: Verdunklung im Rot, höchst schwacher, rotwärts nur undeutlich abgegrenzter Absorptionsstreifen, ungefähr auf 618—608, dunkelste Stelle etwa auf 614, deutlicher Streifen auf  $577\frac{1}{4}$ , breiterer und etwas dunklerer Streifen auf etwa 539. Grün bis 515 ziemlich stark, der Rest des Spektrums (Blau und Violett) stark verdunkelt. Hämatin sehr deutlich nachweisbar; noch in 0,8 cm Schichtdicke positiv, Hämatiningehalt demnach = Ht. 5. Methämoglobin ist nicht nachweisbar; der Streifen auf  $577\frac{1}{4}$  ist in ein Zentimeter Schichtdicke noch eben erkennbar, aber nicht mehr genau meßbar. Der Gehalt an Oxyhämoglobin ist mithin so gering, daß daraus, wenn überhaupt, nur auf eine ganz minimale Hämolyse geschlossen werden könnte. (Der Umstand, daß der Absorptionsstreifen auf 539 deutlich dunkler ist als der auf  $577\frac{1}{4}$ , beweist, daß er nicht lediglich durch die absorptive Wirkung des Oxyhämoglobins bedingt ist, dessen zweiter Streifen bekanntlich schwächer als der erste ist und sein

Maximum etwas gelbwärts von 539 hat.) Die Reaktionen auf Porphyrin fielen bei diesem Serum nur noch eben erkennbar positiv aus. Für ein Gemisch aus 3 ccm Serum und 2 Tropfen 25%iger HCl konnte ich den Ort der beiden Hauptstreifen wieder angenähert zu 593 und 549 bestimmen, während zwischen beiden der dritte Streifen kaum angedeutet war. In stark alkalihaltiger Mischung konnte ich das alkalische Porphyrinspektrum durch die Streifen I. auf etwa 612, II. auf etwa 561,5, III. auf  $538\frac{3}{4}$  erkennen, während die starke Verdunkelung des Blau und Violett die Auffindung seines IV. Streifens im Blau nicht ermöglichte. Mischungen aus Serum und wesentlich mehr Salzsäure sind infolge der Eiweißfällung trüb und deshalb zur Beobachtung ungeeignet. Erst bei sehr starkem Salzsäurezusatz löst sich das ausgeschiedene Eiweiß wieder auf, solche Mischungen zeigten aber infolge der durch den starken Säurezusatz bewirkten Verdünnung auch in 4 cm Schichtdicke das Porphyrinspektrum nicht mehr deutlich genug, nur der II. Hauptstreifen ließ sich noch einigermaßen genau messen zu etwa 553, zeigte also die dem starken Salzsäuregehalt der Lösung entsprechende (der Theorie nach zu verlangende) Verschiebung nach Rot. Ähnlich verhielten sich filtrierte Mischungen aus Blutserum und dem mehrfachen Volumen 5–10%igen Salzsäurealkohols.

Wässrige Auszüge aus den Blutkörperchen ließen einen Gehalt an Methämoglobin oder Schwefelhämoglobin nicht erkennen.

Vierte Blutentnahme, 17. Okt. 1916, vormittags. Blutserum bräunlich-gelb, vollkommen klar. In  $2\frac{1}{2}$ –3 cm Schichtdicke: breiter, mäßig starker, rotwärts nicht deutlich abgegrenzter Absorptionsstreifen von ungefähr 645–610 mit einer geringen Aufhellung bei ungefähr 626 und einem schmalen Maximum bei etwa 615, schmaler schwacher Streifen auf 577, breiterer und dunklerer symmetrischer Streifen auf  $538\frac{1}{2}$ , Andeutung eines Streifens bei ungefähr 563. Reaktionen auf Methämoglobin (s. oben) negativ, auf Hämatin stark positiv, noch in  $3\frac{1}{2}$  mm Schichtdicke deutlich, demnach Ht 11; bei dieser Probe zwischen dem scharfen ersten und dem sehr zarten zweiten Streifen des entstandenen Hämochromogens ( $558\frac{1}{2}$  und

527<sup>1/2</sup>) noch schwach der Streifen auf 538<sup>1/2</sup> wahrnehmbar. Setzt man zu 4 ccm Serum 4 bis 6 Tropfen gesättigter Soda-lösung, so wird das schwache Maximum des ersten Streifens ein wenig deutlicher und liegt auf ungefähr 612 oder 613, im übrigen erfolgt keine nachweisbare Veränderung. Ein Gemisch aus 4 ccm Serum und etwa 1 ccm 15%iger Kalilauge läßt in 3 cm Schichtdicke schwach den ersten und zweiten (angenähert 612 und 561), sehr deutlich den dritten Streifen (538) des alkalischen Harnporphyrinspektrums erkennen, das Blau ist sehr stark verdunkelt; ferner besteht der Schatten im dunkleren Rot. Ein Gemisch aus 3 ccm Serum und 2 Tropfen 25%iger Salzsäure weist in 2—3 cm Schichtdicke den schmalen zarten Streifen I (etwa 592<sup>3/4</sup>) und den breiten dunkleren Streifen III (etwa 549<sup>1/2</sup>) des Porphyrin-Säurespektrums, dazwischen kaum erkennbar den Streifen II (angenähert auf 572) auf.

Es wurden Kontrollversuche im Sinne der vorstehend angewandten chemisch-spektroskopischen Proben ausgeführt mit frischem Blutserum folgender geeigneter Fälle: mehrerer Fälle von perniziöser Anämie mit verschieden starkem Hämingehalt, eines Falles mit negativer Hämatinreaktion, eines Falles von Malaria mit sehr schwachem Hämingehalt, zweier Fälle von Malaria mit negativer Hämatinreaktion, eines Falles von Schwangerschafts-eklampsie mit hohem Hämingehalt (Ht 14), eines Falles mit negativer Hämatinreaktion, mehrerer Fälle von sekundärer Anämie mit negativer Hämatinreaktion, mit dem Blutserum Gesunder, dem in verschiedenen Versuchen abgestufte Mengen Oxyhämoglobin aus den zugehörigen Blutkörperchen zugefügt waren. In keinem Falle habe ich das Auftreten von Porphyrin beobachten können.

## II. Das Verhalten des Harns bei Haematoporphyrin congenita gegenüber einigen chemischen Proben.<sup>1)</sup>

Der frische Harn ist klar, seine Farbe schwankt von hellportweinfarben bis dunkelbraunrot. Harn von anderer Farbe

<sup>1)</sup> Wegen der in früherer Zeit am Harn dieses Falles angestellten chemischen Reaktionen vergleiche man die Beschreibung H. Günthers

ist während der ganzen Beobachtungszeit (ungefähr ein halbes Jahr) nicht ausgeschieden worden. — Beim Aufbewahren dunkelt er nach; unter Chloroformzusatz aufbewahrter Harn zeigte noch nach Monaten vorwaltende Rotfärbung. Gegen Lackmus reagieren die einzelnen Portionen Harn verschieden, teils amphoter, teils sauer oder alkalisch. Er gibt nicht die Zuckerreaktion nach Fehling und nicht die Blutproben nach Almén (mit Guajakonsäure) und Adler (mit Benzidin). Versetzt man den Harn mit etwas Kali- oder Natronlauge und kocht ihn auf, so entsteht eine Ausscheidung feiner, rötlich gefärbter Flocken, die sich abfiltrieren lassen und nach dem Auswaschen auf dem Filter als dunkelrosafarbener Belag erscheinen. Kocht man den Harn auf und setzt wenig Essigsäure hinzu (auf 10 ccm Harn 2—3 Tropfen 30%ige Essigsäure), so bleibt der Harn entweder wirklich klar oder er zeigt wenigstens nicht sogleich eine augenscheinliche Trübung; manche Portionen Harn erleiden dabei aber eine bald einsetzende, durch Fasern und Flöckchen bedingte Trübung, die freilich oft erst deutlich erkennbar ist, wenn man die Probe in einem parallelwandigen Glaskästchen in ca. 1 cm Schichtdicke beobachtet. Schichtet man den Harn vorsichtig auf Salpetersäure, so ist ein Eiweißring nicht erkennbar. Mischt man ihn mit  $\frac{1}{4}$  Raumteil 15%iger Kalilauge, so wird der Farbton gelblich und heller als in der nur mit  $\frac{1}{4}$  Raumteil Wasser hergestellten Kontrollprobe. Der Zusatz von Kalilauge bewirkt im allgemeinen teilweise Farbstoffausfällung (ob bei allen Harnportionen ist nicht geprüft), die abfiltrierbar ist und nach dem Auswaschen als rosafarbener Belag auf dem Filter bleibt. Durch gleichviel 3%ige Zinkacetatlösung entsteht eine so weitgehende Farbstofffällung, daß das Filtrat oft kaum anders gefärbt ist als der Harn Gesunder. Wurde der Harn gleich mit  $\frac{1}{10}$  Raumteil 25%iger HCl versetzt, so

im Deutschen Archiv für klinische Medizin, Bd. 105, Heft 1 und 2 vom 20. Dezember 1911. S. 89—146 und die Abhandlungen H. Fischers, Diese Zeitschr., Bd. 95, S. 34, 1915; Bd. 96, S. 148, 1915, ferner „Über die Giftigkeit, die sensibilisierende Wirkung und das spektroskopische Verhalten der natürlichen Porphyrine. Abbau des Urinporphyrins zum Kotporphyrin, Bd. 97, S. 109, 1916 und Beobachtungen am frischen Harn und Kot von Porphyrinpatienten, Bd. 97, S. 148, 1916.

schlug die Farbe mehr oder weniger deutlich nach Rosa um, er blieb aber klar (ob bei allen Portionen, ist nicht untersucht). Bei Zusatz von nur 2 Tropfen 25%iger Salzsäure zu 10 ccm Harn trat dagegen im allgemeinen nach kurzer Zeit starke feinflockige Farbstoffausscheidung ein, die bei einigen daraufhin geprüften Portionen Harn bei weiterem Zusatz von 25%iger Salzsäure bis zu  $\frac{1}{10}$  Raumteil trotz stundenlangen Stehens nicht wieder in Lösung ging. — Beim Ansäuern mit verdünnter Essigsäure verhielten sich die einzelnen Portionen Harn verschieden, in einigen trat bald eine feinflockige Trübung auf, in anderen nicht. Bisweilen war ein starker Essigsäurezusatz nötig, um die Farbstofffällung zu erreichen, wie folgender, an ganz frischem Harn ausgeführter Versuch zeigt:

20 ccm u. 1 Tropfen Eisessig,	nach 1	Stunde	noch klar,
10 „ „ 1 „ „ „	1	„ „ „	„ „ „
10 „ „ 2 „ „ „	1½	„	höchst feine Trübung,
10 „ „ 3 „ „ „	ca. 20 Min.	„	höchst feinflockige Trübung,
10 „ „ 4 „ „ „	einigen Minuten	„	Trübung,
10 „ „ 5 „ „ „	„	„	„
10 „ „ 6 „ „ „	„	„	„

Die von der Essigsäurefällung abfiltrierte Flüssigkeit hat nicht mehr den roten Farbton des reinen Harns, sondern ist braun. —

Säuert man den Harn stark mit Essigsäure an, und zieht ihn mit gleichviel Äther oder Essigäther aus, so geht ein kleinerer Teil des Harnfarbstoffs in Lösung. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels bleibt ein Farbstoff zurück, der sich spektralanalytisch im wesentlichen wie Fischers Kotporphyrin verhält, Fischers Urinporphyrin kann jedenfalls höchstens in untergeordneter Menge beigemischt sein. Das erscheint insofern bemerkenswert, als nach H. Fischers <sup>1)</sup> Ansicht H. Günther bei dem Harnhämatoporphyrin ein mit dem des Nenckischen Hämatoporphyrens identisches spektroskopisches Verhalten festgestellt haben soll. Günthers Messungen sind aber teilweise gerade an Präparaten ausgeführt, die nach

<sup>1)</sup> H. Fischer schreibt in seiner Abhandlung «Über das Urinporphyrin», Bd. 95, S. 37, 1915: Spektroskopisch stellte H. Günther die absolute Übereinstimmung des im Urin enthaltenen Porphyrins mit Hämatoporphyrin fest.

obigem (Saillets) Extraktionsverfahren gewonnen waren. Wie ich an anderer Stelle nachgewiesen habe, stimmen Günthers zugehörige spektrometrische Werte in der Tat gut zu denen des Kotporphyrins! Das ist vollkommen verständlich, nachdem auch aus den von mir geprüften Harnportionen durch das Extraktionsverfahren ein überwiegend aus Kotporphyrin (oder einem ihm spektralanalytisch und in seinem allgemeinen Verhalten täuschend ähnlichen Porphyrin) bestehender Stoff gewonnen worden ist. Nenckis Hämatoporphyrin und Fischers Urinporphyrin verhalten sich, wie unten erörtert werden wird, wesentlich anders. — Es ist mir bislang nicht gelungen, in den Essigsäure-Ätherauszügen dieses Harns einen Farbstoff aufzufinden, der die Reaktion des Hämatins gibt. Bilirubin habe ich ebenfalls nicht aufgefunden. Indikan war stets in mäßigen Mengen vorhanden, «Urobilin» bald in Spuren, bald in beträchtlicheren Mengen. — Der Porphyringehalt des Harns tritt wegen des überwiegenden Gehalts an Harnporphyrin verhältnismäßig wenig hervor, insofern besteht ein starker Gegensatz zu dem Verhalten des Harns in dem von Roedelius und mir beschriebenen Falle von Hämatoporphyrinogenurie. —

#### Der Gehalt an essigsäurefällbarem Porphyrin.

Um einen Anhaltspunkt für den Porphyringehalt des Harns zu gewinnen, habe ich den unter Chloroformzusatz gesammelten Harn von 24 Stunden sogleich filtriert, aus Durchschnittsproben von je 200 ccm das durch Essigsäure fällbare Porphyringemisch abgeschieden, ausgewaschen, in  $n/20$ -Kalilauge auf dem Filter gelöst, das Filtrat auf etwa 100 ccm verdünnt, mit Essigsäure gefällt, den Farbstoffniederschlag abfiltriert, ausgewaschen, nach dem Trocknen bei 105 bis 110° gewogen und den Aschegehalt bestimmt; er betrug 1—1½%. Danach waren im 24stündigen Harn folgende in umseitiger Tabelle angeführten Mengen von essigsäurefällbarem Porphyrin enthalten.

Die Schwankungen im Gehalt an essigsäurefällbarem Porphyrin waren demnach im August verhältnismäßig nicht groß. Ein deutlicher Anstieg bei sonnigem Wetter ist in

		Harn- menge ccm	Spez. Gewicht	essigsäurefällbares Porphyrin	
				in %	in g
31. 7. bis	1. 8. 1916	1800	1015	0,0180	0,324
1. 8. >	2. 8. 1916	3500	1012	0,0090	0,315
7. 8. >	8. 8. 1916	1930	1014	0,0193	0,372
8. 8. >	9. 8. 1916	2000	1015	0,0175	0,350
14. 8. >	15. 8. 1916	2000	1012	0,0167	0,334
15. 8. >	16. 8. 1916	2970	1011	0,0108	0,321
21. 8. >	22. 8. 1916	1800	1016	0,0190	0,342
28. 8. >	29. 8. 1916	1400	1018	0,0283	0,396
29. 8. >	30. 8. 1916	1950	1018	0,0164	0,320

dieser Zeit nicht nachweisbar gewesen. Freilich ging der Kranke an sonnigen Tagen nur wenig hinaus. Die etwas niedrigeren Werte vom 1.—2. und 15.—16. August erklären sich vielleicht dadurch, daß an diesen beiden Tagen große Mengen, 3,5 bzw. 3 l dünnen Harns entleert wurden, aus dem der Farbstoff weniger gut ausfällbar war.

In seiner ersten Mitteilung<sup>1)</sup> (vom 2. Juli 1915) schätzt H. Fischer die „Gesamtmenge an Farbstoff zu etwa 0,24 g im Liter Harn. Eine spätere Mitteilung<sup>2)</sup> bringt Angaben über den Porphyringehalt des Harns aus der Zeit vom November 1915 bis Februar 1916. Fischer gibt an, daß man, ohne einen größeren Fehler zu begehen, die Rohausbeutezahlen an Ester gleich dem wahren Farbstoffgehalt setzen könne. Danach wären z. B. folgende Farbstoffmengen ausgeschieden worden:

Im November 1915 täglich zwischen 0,3 und 0,5 g, im Dezember zwischen 0,27 und 0,5 g, im Januar 1916 zwischen 0,17 und 0,33 g, im Februar zwischen 0,3 und 0,57 g (im Mittel vom 1.—4. Februar täglich 0,4 g, vom 4.—7. 0,33 g, vom 7.—10. 0,57 g, vom 10.—14. 0,38 g, vom 14.—17. 0,4 g, vom 17.—21. 0,3 g, vom 21.—23. 0,38 g.)<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr., Bd. 95, S. 43.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschr., Bd. 97, S. 160.

<sup>3)</sup> In seiner Mitteilung in der Münchn. med. Wochenschrift (Nr. 11, 1916) berichtet H. Fischer kurz, daß der Kranke im Tage ungefähr 0,4 g Farbstoff ausscheidet, davon 0,3 im Harn und 0,1 g im Kot.

Nach Ausweis meiner Bestimmungen hätte der Kranke im August 1916 in Hamburg ungefähr dieselben Mengen Porphyrin im Harn ausgeschieden wie nach H. Fischers Bestimmungen im Dezember 1915.

### III. Die Absorptionserscheinungen des Harns bei Haematorporphyrin congenita im normalen (Gitter)-Spektrum.

Trotzdem der Harn während mehrerer Monate fortlaufend untersucht ist und häufig alle Einzelportionen eines Tages beobachtet wurden, habe ich ausnahmslos das vollständige 4-bandige «alkalische Hämatoporphyrinspektrum» beobachtet<sup>1)</sup> (vgl. Spektraltafel, Spektrum 1). In mehreren Portionen des Harns war der Porphyringehalt so hoch, daß er noch in 1 mm Schichtdicke deutlich das vierstreifige Spektrum zeigte. Als Beispiel für die gelegentlich bei den einzelnen Portionen des gleichen Tages vorkommenden starken Schwankungen im Porphyringehalt führe ich folgendes an:

Erster Vormittagsharn	Zweiter Vormittagsharn
<p>Mit Wasser auf das 5fache verdünnt, in 1 cm Schichtdicke: die ersten 3 Streifen nur eben angedeutet, der 4. noch deutlich. Zusatz einiger Tropfen Salzsäure zu 5 ccm Harn: Porphorin-Säurespektrum noch eben deutlich zu erkennen, Ort des I. und III. Streifens noch ziemlich gut zu bestimmen.</p>	<p>Mit Wasser auf das 40fache verdünnt, in 1 cm Schichtdicke: die ersten 3 Streifen nur eben angedeutet, der 4. noch deutlich. Zusatz einiger Tropfen Salzsäure zu 5 ccm Harn: Porphyrin-Säurespektrum noch eben deutlich erkennbar, Ort des I. und III. Streifens noch ziemlich gut zu bestimmen.</p>
	<p>Bei 50—60facher Verdünnung des Harns ist nach Zusatz einiger Tropfen Salzsäure nur noch der III. Streifen des Porphyrin-Säurespektrums erkennbar.</p>

<sup>1)</sup> H. Günther berichtet auf S. 135: «Der native Harn zeigt das 2bandige und nach Alkalisierung das 4bandige Spektrum des Hp». S. 137 wird auf Grund einer Untersuchung von Ende Dezember 1910 für den nativen alkalischen Urin angegeben: Schatten bis 681,0, 619,5—610,0, 583,0—557,5, schwacher Schatten, dann starkes Band 546,0—531,0 und starke Absorption von 513,2.

Verdünt man den Harn allmählich, so werden zunächst die beiden ersten Streifen unsichtbar, dann der dritte und vierte.

Das Absorptionsbild des Harns entsprach im allgemeinen dem in der Spektraltafel abgebildeten Spektrum 1, jedoch mit gewissen Einschränkungen: Die Lage des ersten Streifens im Rot schwankte nicht unbedeutend; je stärker sauer der Harn reagierte, desto mehr war er durchweg nach Rot verschoben. Der vierte, im Verhältnis zu dem dritten stets stärkere Streifen war verschieden breit, und der zweite Streifen zeigte feine Verschiedenheiten in seiner Form. Meistens war der zweite Streifen auffallend unsymmetrisch, derart, daß die dunkelste Stelle rechts von seiner Mitte lag; seltener war er annähernd symmetrisch, er zeigte dann bisweilen 2 Absorptionsmaxima, von denen das des links (gelbwärts) gelegenen Teils stets weniger deutlich war. Bei der Anwesenheit zweier Absorptionsmaxima hatte der zweite Streifen öfter eine deutliche Aufhellung des mittleren Teils, die aber niemals so ausgeprägt war, daß eine Teilung in zwei selbständige Streifen vorgelegen hätte.<sup>1)</sup> Der erste Streifen im Rot war oft etwas unsymmetrisch, sodaß das Maximum etwas links von der Mitte lag. Der dritte Streifen ist symmetrisch; er ist nach Form und Lage am wenigsten veränderlich. In manchen frischen Harnportionen habe ich noch einen, im Vergleich zu den vier übrigen, sehr zarten schmalen Streifen auf etwa 592 (einigemal auf 594) beobachtet, häufiger einen zarten, bisweilen kaum wahrnehmbaren Streifen im dunkleren Rot auf etwa 638 (einmal auf 641). Bei dem gewöhnlichen vierstreifigen Spektrum bestand am häufigsten ein Stärkeverhältnis, wie es auf der Spektraltafel die Absorptionskurve (zwischen Spektrum 1 und 2) zum Ausdruck bringt. Bei manchen Harnen war der vierte Streifen verhältnismäßig noch dunkler und breiter. Sehr oft waren der erste Streifen und

<sup>1)</sup> Bei der Beobachtung mit einem Prismenspektroskop zeigt sich der zweite Streifen bei vorschriftsmäßig enger Spaltstellung im allgemeinen nicht als Doppelstreifen. Öffnet man aber den Spalt des Prismenspektroskops unzulässig weit, so erscheinen bei manchen Portionen Harn statt des unsymmetrischen zweiten Streifens zwei getrennte Streifen.

das schmale Maximum des zweiten etwa gleich dunkel, der dritte Streifen dunkler, der vierte mindestens ebenso dunkel, oft noch dunkler. Setzt man dem Harn wenig verdünnte Essigsäure hinzu, so verschiebt sich der erste Streifen weiter nach Rot und wird verwaschener.

Als Beispiel für die Breitenverhältnisse der einzelnen Streifen führe ich folgende, an einer Harnportion festgestellten Werte an:

I. Streifen etwa  $617\frac{1}{2}$ — $609\frac{1}{2}$ , II. etwa  $578$ — $558\frac{1}{2}$  (die Strecke von  $578$ — $565\frac{1}{2}$  ist wesentlich heller als die das Dunkelheitsmaximum enthaltende Strecke von  $565\frac{1}{2}$ — $558$ ), III. etwa  $543$ — $534\frac{1}{2}$ , IV. etwa  $515$ — $476$ .

Über den Ort der einzelnen Streifen bei Harnproben verschiedener Reaktion gibt folgende Zusammenstellung Auskunft, zu der ausdrücklich bemerkt sei, daß ich alle Messungen an frischen Harnportionen von verschiedenen Tageszeiten ausgeführt habe. Bemerkenswert ist die Unveränderlichkeit der dunkelsten Stelle des III. Streifens.

Reaktion gegen Lackmus	I. Streifen	II. Streifen	III. Streifen	IV. Streifen
sauer	$618\frac{1}{2}$	Maxima auf ungefähr 575 und 565	$538\frac{3}{4}$	ungefähr 501
„	$617\frac{1}{2}$	fast symmetrisch, Maxima auf ungefähr 575 und 565	$538\frac{1}{2}$	„
„	$616\frac{1}{2}$	fast symmetrisch, 2 Maxima, zwisch. beiden Minimum auf ungefähr 570	$538\frac{1}{2}$	„
„	616	unsymmetrisch, Maximum rechts von der Mitte auf ungefähr 562	$538\frac{3}{4}$	ungefähr 500
„	616	dasselbe	$538\frac{3}{4}$	„
„	$614\frac{1}{2}$	Maxima auf ungefähr $574\frac{1}{2}$ und 562	$538\frac{1}{4}$	ungefähr 501
„	614	unsymmetrisch, Maximum rechts von der Mitte auf ungefähr $561\frac{1}{2}$	$538\frac{3}{4}$	ungefähr 498

Reaktion gegen Lackmus	I. Streifen	II. Streifen	III. Streifen	IV. Streifen
amphoter	615 1/2	unsymmetrisch, Maximum rechts von der Mitte auf ungefähr 562 1/2	538 3/4	ungefähr 500
„	615	unsymmetrisch, Maxima auf ungefähr 574 (undeutlich) und auf 562	538 3/4	„
„	615	unsymmetrisch, Maximum rechts von der Mitte auf ungefähr 562	538 3/4	ungefähr 499
„	614 1/2	unsymmetrisch, Maxima auf ungefähr 576 (undeutlich) und auf 562 1/2	538 3/4	ungefähr 500
„	613 1/2	unsymmetrisch, Maxima auf ungefähr 574 (undeutlich) und auf 560 1/2	538 1/2	„
„	613 1/2	unsymmetrisch, Maximum rechts von der Mitte auf ungefähr 561 1/2	538 3/4	ungefähr 498
„	613 1/2	dasselbe	538 3/4	„
„	613	dasselbe 561	538 1/2	„
„	613	„ 560	538 3/4	ungefähr 502
alkalisch	613	unsymmetrisch, Maximum rechts von der Mitte ungefähr auf 560	538 3/4	ungefähr 502
„	613	dasselbe 560 3/4	538 3/4	„
„	613	„ 561	539	ungefähr 500
„	613	„ 560 1/2	538 3/4	ungefähr 499
„	613	„ 560 1/2	538 1/2	ungefähr 500
„	612	„ 561	538 3/4	ungefähr 499
„	611 1/2	„ 560	538	ungefähr 500
„	611 1/2	„ 560	538	„
„	611	„ 560	538 1/2	„

Die Verschiebung des Rotstreifens (I) beim Ansäuern zeigen folgende Beispiele:

	I.	II.	III.	IV.
1. Harn ohne Zusatz	613 (schmal und sehr deutlich)	561 unsymmetrisch	539	500
200 ccm Harn und 3 Tropfen Eisessig (keine Trübung!)	619 (breiter und weniger deutlich)	562 fast symmetrisch	539 1/2	499
2. Harn ohne Zusatz	611 1/2	560	538	500
20 ccm Harn und 1 Tropfen Eisessig	620	nicht bestimmt	nicht bestimmt	nicht bestimmt

Die Verschiebung des Rotstreifens bei Zusatz von Kalilauge zeigen folgende Beispiele:

	I.	II.	III.	IV.
1. Harn ohne Zusatz	613	561	538 3/4	499
Harn und gleichviel n/10-Kalilauge	611 1/2	559	538 1/2	501
2. Harn ohne Zusatz	617	nicht bestimmt	nicht bestimmt	nicht bestimmt
Harn und 1/4 Raumteil n/10-Kalilauge	614	„	„	„
Harn und gleichviel n/10-Kalilauge	612 1/2	560 1/2	538 1/2	502

Schon früher habe ich darauf hingewiesen,<sup>1)</sup> daß der Harn eine eigentümliche Lichtreaktion zeigt, wie sie in analoger Weise von mir bei dem reinen Hämatorporhyrin Nencki

<sup>1)</sup> O. Schumm, Über Vorkommen und Nachweis einiger pathologisch wichtiger Abbauprodukte des Blutfarbstoffs, Festschrift des Eppendorfer Krankenhauses 1914, S. 198. Verlag von Leopold Voss, Leipzig-Hamburg.

beobachtet und genauer beschrieben worden ist.<sup>1)</sup> Mischt man 3 Teile frischen Harn mit 1 Teil 15%iger Kalilauge und setzt die Flüssigkeit in z. B. 1 cm Schichtdicke im offenen Glaskästchen (an einem hellen Tage  $\frac{1}{4}$  bis 1 Stunde) dem Tageslichte aus, so zeigt sie neben den 4 Streifen des «alkalischen Porphyrinspektrums» mehr oder weniger deutlich einen neuen allmählich stärker werdenden gut begrenzten Absorptionsstreifen auf 463, der nicht etwa mit dem «Urobilinastreifen» zu verwechseln ist. Wurde vollkommen frischer Harn unter Lichtabschluß mit Kalilauge stehen gelassen, so trat die Spektralreaktion erst nach längerem Stehen auf. Harn, der  $\frac{1}{4}$  bis 1 Tag gestanden hatte, zeigte oft schon gleich nach Zusatz von  $\frac{1}{3}$  Raumteil 15%iger Kalilauge schwach den angegebenen Absorptionsstreifen, der bei kurzem Erwärmen auf 30—50° bisweilen noch deutlicher wurde. Es sei bemerkt, daß frischer Harn in keinem Falle den Streifen auf 463 zeigte.

Der Harn gibt ferner die bekannte Spektralreaktion mit ammoniakalischer Chlorzinklösung, das sog. metallische Hämatoporphyrinspektrum (vergl. Abschnitt V). Wurden 10 ccm Harn mit einem Tropfen 10%iger Chlorzinklösung und 1 ccm 10%iger Ammoniakflüssigkeit versetzt, so entstand eine rote Lösung, die nicht mehr den Streifen im Rot, sondern nur noch 2 Streifen im Grün und einen mehr oder weniger starken Streifen auf der Grenze von Grün zu Blau zeigte. Von den beiden Streifen im Grün ist der zweite (auf etwa 541 $\frac{1}{2}$ ) dunkler und breiter als der erste (auf 577 $\frac{3}{4}$ ). Setzt man mehr Ammoniakflüssigkeit hinzu, so verschieben sich die beiden Streifen im Grün nach Rot: z. B. lagen sie bei einer Mischung aus 10 ccm Harn, 1 Tropfen 10%iger Chlorzinklösung und 5 ccm Ammoniakflüssigkeit (10%) auf etwa 579 und 543. Nimmt man statt Ammoniakflüssigkeit 15%ige Kalilauge, so entsteht das angegebene Spektrum erst allmählich, nach Minuten, z. B.: 5 ccm Harn, 5 Tropfen 10%ige

<sup>1)</sup> O. Schumm, Untersuchungen über die Absorptionsercheinungen des Hämatoporphyrins und Mesoporphyrins im Gitterspektrum, Diese Zeitschr., Bd. 90, S. 12, 1914.

Chlorzinklösung und 5 ccm 15%ige Kalilauge gaben nach 10 Minuten I. Streifen auf  $577\frac{3}{4}$ , II. etwa  $542\frac{1}{2}$  (III. bei den einzelnen Harnen verschieden stark, ungefähr 506, vergl. nächsten Abschnitt).

Versetzt man den Harn mit Salzsäure, so tritt der bräunliche Ton zugunsten einer stärkeren Rotfärbung zurück, und die Flüssigkeit gibt mehr oder weniger stark das Porphyrin-Säurespektrum und noch einen unscharf begrenzten Streifen auf der Grenze zwischen Grün und Blau. Bei Mischungen aus 5 Teilen Harn und 1 Teil 25%iger Salzsäure findet man den I. Streifen auf etwa 594, den III. auf etwa 551, in Mischungen aus gleichen Raumteilen Harn und Salzsäure liegen die Streifen ein wenig weiter nach Rot, z. B. der erste Streifen auf etwa  $594\frac{3}{4}$ .

Befreit man den Harn durch Zusatz von Eisessig und Abfiltrieren des allmählich entstandenen Niederschlages von der Hauptmenge der Porphyrinfarbstoffe, so erhält man ein braunes Filtrat, das einen breiten nicht ganz symmetrischen Absorptionsstreifen auf ungefähr 494 gibt.

Durch Ausschütteln des Harns (auch solcher Portionen, die an sich sauer reagieren) mit der gleichen Menge Äther erhielt ich durchweg kaum oder höchst schwach gefärbte Ätherauszüge, die nach dem Filtrieren und Eindampfen einen geringen braunen oder gelben, in Alkohol,  $n/10$ -Kalilauge und beim Anreiben mit 25%iger Salzsäure auch hierin wenigstens zum größten Teil löslichen Rückstand hinterlassen. Die alkoholische Lösung zeigt einen einfachen oder einen Doppelstreifen auf der Grenze von Grün zu Blau, nach Zusatz einiger Tropfen alkoholisch-ammoniakalischer Chlorzinklösung nur einen ziemlich gut begrenzten Streifen auf etwa 506. Die Lösung in 25%iger Salzsäure zeigt ebenso wie die in  $n/10$ -Kalilauge einen starken Streifen auf der Grenze von Grün zu Blau und in dicker Schicht eine Andeutung des Kotporphyrin-Spektrums. Der ätherische Auszug des Harns enthält demnach neben belanglosen Spuren von Porphyrin vorwiegend einen urobilinartigen Farbstoff. Säuert man den mit Äther ausgezogenen Harn mit Essigsäure an (10 Tropfen Eisessig

auf 100 ccm Harn) und schüttelt ihn von neuem mit Äther aus, so erhält man einen ziemlich stark bräunlichgelb bis rötlichbraun gefärbten Ätherauszug, der nach dem Klären und Eindampfen einen ziemlich beträchtlichen rötlich braunen, in 25%iger Salzsäure wie auch in n/10-Kalilauge wenigstens teilweise löslichen Rückstand hinterläßt. Beide Lösungen geben die zutreffenden Porphyrinspektren, außerdem noch den «Urobilinstreifen» und mehr oder weniger deutlich einen unbekanntem Streifen im Rot. Näheres darüber ist im folgenden Abschnitt angegeben. Derjenige Anteil an Porphyrin, der sich aus dem mit Essigsäure angesäuerten Harn durch Äther oder (nach Saille's Verfahren) durch Essigäther gewinnen ließ, war stets viel geringer als der Gesamtgehalt des Harns an Porphyrin.

Wird der angesäuerte und mit Äther gründlich ausgezogene Harn mit mehr Eisessig (1,5 ccm Eisessig auf 100 ccm Harn) versetzt und von dem nach einiger Zeit entstandenen Farbstoffniederschlag abfiltriert, so erhält man ein gelbbraunes Filtrat, das (auch bei sehr porphyrinreichen Harnportionen) kaum eine Andeutung des Porphyrinspektrums zeigte, sondern nur einen starken unscharf begrenzten Streifen auf der Grenze von Grün zu Blau (z. B. etwa 480—506) mit dem Maximum auf etwa 494 gab; bei Zusatz von  $\frac{1}{3}$  Raumteil 25%iger Salzsäure entstanden nun folgende weitere Absorptionsstreifen (in 2—3 cm Schichtdicke wahrnehmbar, in 1 cm nur ein Streifen auf etwa 495): rotwärts undeutlich abgegrenzter Streifen auf etwa 620, äußerst schwacher schmaler Streifen auf ungefähr 593, sehr schwacher breiterer Streifen auf etwa 550, zwischen beiden Andeutung eines sehr zarten Streifens. Bei Zusatz von mehr Salzsäure das gleiche Spektrum mit der durch den größeren Säuregehalt bedingten geringen Verschiebung der Porphyrinstreifen (593, 550) nach Rot. Fraglos enthält diese Flüssigkeit noch Porphyrin, daneben aber sicher weit überwiegend einen oder mehrere unbekannte gelbbraune Farbstoffe.

#### IV. Das aus dem Harn durch Essigsäure und Äther oder (nach Sailleurs Verfahren) durch Essigsäure und Essigäther ausziehbare Farbstoffgemisch.

In diesen Versuchen wurden jedesmal größere Mengen vollkommen frischen Harns,  $\frac{1}{4}$ —1 Liter und darüber, verarbeitet.

##### a) Auszüge mit Essigsäure und Äther.

Der klar abgetrennte und filtrierte Ätherauszug wurde verdampft.

##### 1. Roher Verdampfungsrückstand.

Auszug mit 25% Salzsäure (rot): schwacher, nach Rot bisweilen nicht deutlich abgegrenzter Streifen auf etwa  $637\frac{1}{2}$ , schwacher «Urobilinstreifen» auf etwa 495, dazwischen vollständiges Porphyrin-Säurespektrum, I. 593,5, II. etwa 574, III. 550 (Einstellung auf das feine Minimum in der Mitte des Streifens), IV. schwach, auf etwa 525, V. äußerst schwacher Doppelstreifen etwa 509 (Einstellung auf das feine Minimum zwischen beiden äußerst schwachen Streifen).

Auszug mit  $\frac{n}{10}$ -KOH (braun): schwacher Streifen auf etwa 638 und Porphyrinspektrum: I.  $617\frac{1}{2}$ , II. unsymmetrisch, Maximum rechts von der Mitte auf etwa  $564\frac{1}{2}$ , III. symmetrisch,  $538\frac{1}{2}$ , IV. etwa 505 (teilweise durch «Urobilin» bedingt). I., II. und III. annähernd gleich dunkel, IV. viel dunkler und breiter. Der Versuch wurde zu verschiedenen Zeiten mit dem gleichen Ergebnis wiederholt.

##### 2. Aus dem Verdampfungsrückstand abgeschiedenes Rohporphyrin.

Bei einer Anzahl weiterer Versuche wurde der Verdampfungsrückstand zur Trennung der darin enthaltenen Farbstoffe mit  $\frac{n}{10}$ -Kalilauge ausgezogen, die filtrierte Lösung mit Essigsäure gefällt und der bisweilen erst allmählich in Flocken sich abscheidende Niederschlag abfiltriert, gewaschen und abgepreßt. Die Lösungen des Niederschlags gaben folgende Spektren.

Lösungen in 25% HCl (violett): Porphyrin-Säurespektrum wie bei Kotporphyrin (s. unten) I.  $593\frac{1}{2}$ , II. ungefähr  $573\frac{3}{4}$ , III. 550, IV. 525, V. ungefähr 509 (Einstellung auf die

Aufhellung zwischen den beiden Maxima); bisweilen Andeutung eines Streifens im Rot auf 638.

Lösungen in  $n_{10}$ -Kalilauge (braunstichig-rot): Porphyrinspektrum wie bei Kotporphyrin (s. unten), I. 617 $\frac{1}{2}$ , II. unsymmetrisch, Maximum rechts von der Mitte, etwa 564 $\frac{1}{2}$ , III. 538 $\frac{1}{2}$ , IV. etwa 505; bisweilen Andeutung eines Streifens auf 637.

Die vom Rohporphyrin abfiltrierte essigsäure Flüssigkeit war stets stark gelb gefärbt, gab einen Absorptionsstreifen auf etwa 637 oder 638 und einen weiteren Streifen auf der Grenze von Grün zu Blau.

In einem Versuche wurden aus einer größeren Portion Harn die durch Essigsäure ausfällbaren Farbstoffe entfernt, das saure Filtrat mit Äther ausgezogen und der verhältnismäßig wenig gefärbte Ätherauszug eingedampft. Der Rückstand wurde wie oben in sehr verdünnter Kalilauge gelöst, das Filtrat mit Essigsäure gefällt, und der Niederschlag abfiltriert und ausgewaschen. Das essigsäure Filtrat enthielt noch ein Gemisch von Farbstoffen. Die Lösungen des Niederschlags enthielten vorwiegend Porphyrin, sie gaben folgende Spektren: Lösungen in 25% HCl: das Porphyrin-Säurespektrum (Hauptstreifen 593 $\frac{1}{2}$  und 549 $\frac{3}{4}$  wie bei Kotporphyrin, s. unten) und schwachen Streifen auf ungefähr 637; Lösung in  $n_{10}$ -Kalilauge: ziemlich starken Streifen auf ungefähr 638 und vier weitere Streifen wie bei Kotporphyrin (I. etwa 617, etwas unsymmetrisch, Maximum links von der Mitte, II. etwa 565, unsymmetrisch, Maximum rechts von der Mitte), III. 538, IV. ungefähr 501. Die Lösungen des Niederschlags enthielten vorwiegend Porphyrin.

Die Essigsäure-Ätherauszüge des Harns enthalten demnach vorwiegend Kotporphyrin<sup>1)</sup> oder ein Porphyrin, das sich spektroskopisch wie Kotporphyrin verhält, und unbekannte gelbe Farbstoffe, die den sog. «Urobilin-Streifen» und einen Absorptionsstreifen im Rot auf ungefähr 638 aufweisen.

#### b) Auszüge mit Essigsäure und Essigäther:

Die mehr oder weniger stark bräunlich-gelb bis rötlich-braun gefärbten Auszüge hinterlassen nach dem Verdampfen einen beträchtlichen braunen Rückstand.

<sup>1)</sup> H. Fischer isolierte das Kotporphyrin zuerst aus dem Filtrat des mit Essigsäure ausgefällten Harns durch Ausfällen mit Chlorbaryum, Verestern des Niederschlags und Abtrennung des darin noch enthaltenen Urinporphyrins (Diese Zeitschr., Bd. 95, S. 55, 1915, vgl. auch Bd. 96, S. 164).

### 1. Roher Verdampfungsrückstand.

Die Auszüge mit 25%iger HCl und  $n/10$ -Kalilauge verhielten sich wie beim Essigsäure-Ätherextrakt, gaben also die Spektra des Kotporphyrins und mehr oder weniger deutlich den beschriebenen Streifen auf etwa 638.

2. Das aus dem alkalischen Auszug mit Essigsäure ausgefällte, ausgewaschene und abgepreßte Rohporphyrin löste sich in 25%iger Salzsäure mit violett-roter, in  $n/10$ -KOH mit roter Farbe und gab folgende Spektra: Lösung in 25%iger HCl: I. 593 $\frac{1}{2}$ , II. 574, III. 550, IV. etwa 524, V. etwa 509; Lösung in  $n/10$ -KOH: I. 617 $\frac{1}{2}$ , II. etwa 564 $\frac{1}{2}$ , III. 538 $\frac{1}{4}$ , IV. ungefähr 504. Die vom Porphyrin abfiltrierte essigsäure Lösung war stark gelb und enthielt nur belanglose Spuren Porphyrin.

Demnach wird aus dem Harn auch durch Essigsäure und Essigäther neben gelben Farbstoffen vorwiegend ein Porphyrin vom spektralanalytischen Verhalten des Kotporphyrins ausgezogen.

## V. Die Absorptionserscheinungen der Porphyrine aus Urin und Faeces.

Aus dem Harn unseres Kranken läßt sich, wie H. Fischer nachgewiesen hat, durch starkes Ansäuern mit Eisessig ein Farbstoffgemisch ausfällen, aus dem man nach Fischers Verfahren wenigstens 2 verschiedene Porphyrine abscheiden kann, Fischers Urinporphyrin (= Harnhämatorporphyrin) und Kotporphyrin, von denen das erste zurzeit in weit überwiegender Menge vorhanden ist. Filtriert man die durch Eisessigzusatz entstandene Ausscheidung am nächsten Tage ab, so erhält man, wie Nebelthau<sup>1)</sup> und auch Fischer<sup>2)</sup> richtig angeben, Gemische aus Farbstoff und Harnsäure. Um die Beimengung von Harnsäure und namentlich die von essigsäurefällbaren Eiweißstoffen möglichst zu beschränken, habe ich bei allen Untersuchungen das Farbstoffgemisch in der Weise abgeschieden, daß ich den frischen Harn nach dem Filtrieren durch

<sup>1)</sup> E. Nebelthau, l. c.

<sup>2)</sup> H. Fischer, Über das Urinporphyrin, Diese Zeitschr., Bd. 95. 1915.

gehärtete Filter mit einer solchen Menge Eisessig (zwischen 1 und 2%) versetzte, daß die Farbstoffausfällung sehr bald erfolgte, und den Niederschlag schnell abfiltrierte und zweimal mit Wasser auswusch. Auch bei diesem Vorgehen wurde, wie die spektroskopische Prüfung des Filtrates ergab, wenigstens das eigentliche Harnporphyrin zum weitaus größten Teile aus dem Harn abgeschieden. Die gewaschene «Essigsäurefällung» bildet eine braune Masse, ich bezeichne sie weiterhin als «Roh-Porphyrin» aus Harn. Ich habe wiederholt Lösungen von Roh-Porphyrin, das teils aus Einzelportionen Harn, teils aus Mischharn hergestellt war, in  $n_{10}$ -KOH und in 25%iger Salzsäure spektrometrisch geprüft und mit solchen Lösungen verglichen, zu deren Herstellung durch Umfällen aus sehr verdünnter Kalilauge gereinigtes Roh-Porphyrin benutzt worden war. Dabei hat sich keinerlei Unterschied ergeben, aus dem hätte geschlossen werden können, daß sich das im Roh-Porphyrin gegebene Mischungsverhältnis der Porphyrine durch die Umfällung geändert hätte. Alle Präparate Roh-Porphyrin lösten sich in Wasser unter Zusatz von wenig  $n_{10}$ -KOH oder in  $n_{50}$ -Kalilauge mit schön roter Farbe leicht auf, beim Ansäuern mit Essigsäure fiel das Farbstoffgemisch in braunen Flocken aus, und das Filtrat hiervon war in manchen Fällen hell bräunlich-gelb, in anderen nahezu farblos, sodaß das Porphyringemisch jedenfalls bis auf Spuren wiedergewonnen wurde.

### 1. Absorptionserscheinungen des Roh-Porphyrins aus Harn.

a) in 25%iger Salzsäure: klare rotviolette Lösung.

Die einfache Besichtigung gibt dasjenige Spektralbild, das unter der Bezeichnung «saures Hämatoporphyrinspektrum» bekannt ist. Man erkennt auch in schwachen Lösungen leicht die drei ersten Streifen, deren Ort ich durch okulare Messungen zu  $\mu\mu$  596,6, 577 $\frac{1}{4}$  und 553 $\frac{1}{4}$  bestimmte, in stärkeren Lösungen auch den vierten Streifen auf etwa 527 und den fünften, un-symmetrischen, Mitte ungefähr 512 $\frac{1}{2}$ ; alte Präparate lieferten öfter noch einen zarten Streifen auf 462 $\frac{1}{2}$  (vgl. Spektraltafel, Spektrum 5). Der erste und dritte Streifen sind symmetrisch, der dritte ist breiter und dunkler; er ist einheitlich wie der

des reinen Harnhämatorporphyrins (= Fischers Urinporphyrin), zeigt also nicht die deutliche Aufhellung des mittleren Teils, die der entsprechende Streifen beim Kotporphyrin aufweist (s. unten).

Durch spektrogrammetrische Bestimmungen fand ich für die am genauesten bestimmbaren Hauptstreifen (I, III, VI) 597, 553<sup>1</sup>/<sub>2</sub>, 410, 4, für den weniger genau bestimmbaren Streifen II etwa 576. Der nur photographisch bestimmbare Streifen VI auf 410, 4 ist weitaus am stärksten, zu seiner photographischen Aufnahme eignen sich Lösungen, die in 1 cm kaum oder nicht mehr erkennbar gefärbt sind. Man erhält ihn dann ebenso wie bei anderen von mir untersuchten Porphyrinen als schmalen, gut meßbaren Streifen. Einige Präparate Rohporphyrin zeigten außerdem noch deutlich einen Streifen auf etwa 462<sup>1</sup>/<sub>2</sub> (spektrogrammetrisch bestimmt: 462,8), den ich aber weder bei frisch dargestelltem reinen Harnhämatorporphyrin noch Kotporphyrin beobachtet habe (s. unten).

Die Lage der ganzen Streifengruppe einschließlich des Violetstreifens (VI) verschiebt sich bei weniger Salzsäure enthaltenden Lösungen nach Violett, wie ich das für die künstlich aus Hämin dargestellten Porphyrine genauer beschrieben habe.<sup>1)</sup> Deshalb lassen sich durchweg aus Angaben über die Lage der Absorptionsstreifen eines Porphyrins in salzsaurer Lösung Schlüsse auf seine Art nur dann ziehen, wenn der Gehalt der Lösung an Salzsäure wenigstens annähernd bekannt ist. Für das durch Umfällen (Lösen in <sup>n</sup>/<sub>50</sub>—<sup>n</sup>/<sub>20</sub>-Kalilauge, Filtrieren, Ausfällen mit Essigsäure, Filtrieren, Waschen mit Wasser) gereinigte Porphyrin fand ich durch okulare Messungen folgende Zahlen I. 596<sup>1</sup>/<sub>2</sub>, II. 577, III. 553<sup>1</sup>/<sub>4</sub>, IV. etwa 526, V. ungefähr 512<sup>1</sup>/<sub>2</sub>; in Anbetracht der für die einzelnen Streifen gültigen Fehlerbreite der Messung sind diese Zahlen mit den oben für das Roh-Porphyrin angegebenen als gleichwertig zu betrachten.

b) in Kalilauge: klare violettrote Lösung.

Die einfache Besichtigung ergibt ein Absorptionsbild, das auf den ersten Blick als das sogenannte alkalische Hämato-

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr., Bd. 90, S. 1, 1914.

porphyrinspektrum erscheint. Lösungen in Kalilauge von 0,1 bis 0,6% Kaliumhydroxyd zeigten das gleiche Absorptionsbild ohne nennenswerte oder nachweisbare Unterschiede. Auch habe ich bei mehreren Präparaten von Rohporphyrin aus verschiedenen Harnportionen keine nennenswerten Unterschiede im Spektrum festgestellt. Hieraus und aus den unten angeführten Werten für den Ort der Absorptionsstreifen im Vergleich mit denen des reinen Harn- und Kotporphyrins läßt sich mit Wahrscheinlichkeit schließen, daß das Harnhämatorporphyrin (= Fischers Urinporphyrin) den Hauptbestandteil des Rohporphyrins bildet. Das auf der Spektraltafel dargestellte Spektrum 4 der alkalischen Lösungen entspricht im wesentlichen dem Absorptionsbild alkalischer oder mit Kalilauge versetzter Harne, bei denen indessen besonders die gleichzeitige Anwesenheit des unbekanntes braunen Farbstoffs eine oftmals wesentlich stärkere Absorption im dunkleren Grün und Blau bedingt.

Durch okulare Messung bestimmte ich den Ort der 4 Streifen für Lösungen in  $n/10$ -Kalilauge zu  $611\frac{3}{4}$ , etwa 559,  $538\frac{1}{2}$ , etwa 500. Genau bestimmbar ist der dritte Streifen auf  $538\frac{1}{2}$ , etwas weniger genau der erste, noch etwas weniger genau der auffallend unsymmetrische zweite Streifen, dessen Maximum bedeutend rechts von der Mitte liegt. Der 4. Streifen (500) ist nur angenähert bestimmbar, da er recht breit und violettwärts nicht scharf genug begrenzt ist. Für Lösungen in 0,1%iger Kalilauge fand ich die in Anbetracht der hier zutreffenden Fehlerbreite mit den obigen gleichwertigen Zahlen  $611\frac{1}{2}$ , 559,  $538\frac{1}{2}$ , 501. Der erste Streifen und das Maximum des zweiten sind etwa gleich dunkel, der erste erschien gelegentlich ein wenig dunkler, der dritte scharf begrenzte Streifen ist breiter als der erste, schmaler als der zweite, dunkler als beide; der vierte ist etwa so dunkel wie der dritte, aber breiter. Frische Lösungen zeigten ausnahmslos nur 4 Streifen.

**Kali-Lichtreaktion.** Kaliumhydroxyd enthaltende Lösungen des Rohporphyrins verhielten sich unter der Einwirkung des Sonnenlichts im wesentlichen wie der Harn; sie zeigten nach einiger Zeit noch einen fünften Streifen im Blau auf etwa  $462\frac{1}{2}$ , der schon nachweisbar ist, ehe sich die

damit einhergehende Veränderung des Farbstoffs durch einen Farbumschlag kundgibt. Unter allmählichem Stärkerwerden des Blaustreifens und Schwächerwerden der übrigen 4 Streifen verblaßt die rote Farbe und geht endlich in Gelb über. Diese Umwandlung erfolgt um so schneller, je mehr das Sonnenlicht eingewirkt hat. Bei vollkommen frischen Präparaten, die aus eben entleertem Harn dargestellt waren, trat die Reaktion nicht so schnell ein wie bei älteren Präparaten, oder solchen, die aus weniger frischem, mit oder ohne Chloroformzusatz aufbewahrttem Harn gewonnen waren. Lösungen vollkommen frischer, durch unverzügliche Verarbeitung eben entleerten Harns gewonnener Präparate zeigten, wenn sie in überschüssiger  $n/10$ -Kalilauge gelöst waren, unter der Einwirkung zerstreuten Tageslichts auch an hellen Tagen oft erst nach Stunden den Streifen auf  $462^{1/2}$ ; er entstand dagegen ohne weiteres, wenn die gleichen Präparate in wesentlichen stärkerer, z. B. überschüssiger 4%iger Kalilauge gelöst wurden. Einen Tag im zerstreuten Tageslicht an der Luft feucht aufbewahrte Präparate zeigten, in überschüssiger  $n/10$ -Kalilauge gelöst, oft schon nach 10 Minuten langem Stehen im hellen zerstreuten Tageslicht den Blaustreifen auf etwa  $462^{1/2}$  sehr deutlich. Er verschwindet in allen Fällen, wenn man die Lösungen mit Salzsäure stark ansäuert und trat in solcher Lösung auch bei 10 Minuten langem Stehen im hellen Tageslicht in keinem Falle auf. Übersättigt man dagegen die angesäuerten Lösungen mit Kalilauge, so fehlt der genannte Streifen im ersten Augenblick oder ist höchstens eben angedeutet; innerhalb einer oder weniger Minuten erscheint er aber von neuem in allmählich zunehmender Stärke, um bei neuerlichem Ansäuern mit Salzsäure wieder zu verschwinden. Schon hier sei erwähnt, daß die beschriebene eigenartige sinnfällige Kalilichtreaktion an den von Fischer als Harnporphyrin bezeichneten Hauptbestandteil des Rohporphyrins aus Harn gebunden ist. Das Kotporphyrin gibt, wie unten näher beschrieben wird, eine ähnliche, aber viel weniger deutliche Reaktion.

**Chlorzink-Ammoniakreaktion.** Wurde Rohporphyrin aus Harn in 10 ccm Wasser und 3 Tropfen  $n/10$ -Kalilauge gelöst,

1 Tropfen 10%iger Chlorzinklösung und 1 ccm Ammoniakflüssigkeit (10% NH<sub>3</sub>) zugesetzt, so entstand sogleich eine rot-violette Lösung, die zwei Absorptionsstreifen auf  $\mu\mu$  577<sup>1</sup>/<sub>2</sub> (I) und etwa 541<sup>1</sup>/<sub>2</sub> (II) zeigte. Streifen I auf 577<sup>1</sup>/<sub>2</sub> ist symmetrisch, schmaler und weniger dunkel als der angenähert symmetrische Streifen II (sog. metallisches Porphyrinspektrum). Die Reaktion ist im wesentlichen auf den Hauptbestandteil des Rohporphyrins, Fischers «Harnporphyrin», zurückzuführen. Das Kotporphyrin gibt eine analoge Reaktion mit abweichender Lage der beiden Streifen (s. unten).

Anm. Für das durch Umfällen (Lösen in <sup>n</sup>/<sub>50</sub>-Kalilauge, Filtrieren, Fällen mit Essigsäure, Filtrieren, Waschen mit Wasser) gereinigte Rohporphyrin fand ich durch okulare Messungen bei Lösungen in <sup>n</sup>/<sub>10</sub>-Kalilauge für Streifen I. 611<sup>1</sup>/<sub>2</sub>, II. etwa 560, III. 538<sup>1</sup>/<sub>2</sub>, IV. etwa 502; Streifen I und das Maximum des II. sind etwa gleich dunkel, III. dunkler, IV. noch etwas dunkler. Innerhalb der Fehlerbreite stimmen diese Werte mit den für das Rohporphyrin gefundenen überein. Bezüglich der Kali-Lichtreaktion und der Chlorzink-Ammoniakreaktion gilt das dort Gesagte.

## 2. Absorptionserscheinungen des nach H. Fischers Verfahren aus dem Urinporphyrinmethylester hergestellten Urinporphyrins (= Hämätoporphyris).

«H. Fischer<sup>1)</sup> hat Lösungen von Urinporphyrin und Kotporphyrin in <sup>n</sup>/<sub>10</sub>-KOH und in 19%iger Salzsäure spektroskopisch untersucht und berichtet über das Urinporphyrin folgendes:

«0,02 g freies Porphyrin gelöst in 100 ccm <sup>n</sup>/<sub>10</sub>-KOH. Urinporphyrin unterscheidet sich vom Kotporphyrin sehr deutlich, Von Hämätoporphyris ebenfalls, indem es einen Streifen mehr zeigt wie dieses.

mit <sup>n</sup>/<sub>10</sub>-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),»

<sup>1)</sup> H. Fischer, Diese Zeitschr., Bd. 97, S. 126, 1916.

Da nach meinen Beobachtungen bei Lösungen des Harnporphyrins in 25%iger HCl die Absorptionsstreifen ungefähr  $\frac{3}{4}$  bis  $1 \mu$  weiter nach Rot liegen als bei Lösungen in 19%iger HCl, so würde sich aus Fischers Zahlen der Ort der Hauptstreifen I und III des Harnporphyrins in 25%iger HCl berechnen zu etwa 595 und 552.

Für das rohe Porphyringemisch aus diesem Harn habe ich schon früher Werte gefunden,<sup>1)</sup> die von Fischers eben angeführten Zahlen ziemlich beträchtlich abweichen; da nun Fischers Zahlen für Lösungen des Urinporphyrins in Salzsäure so nahe mit den von mir für das Nenckische Hämatorporphyrin festgestellten Werten übereinstimmen, daß ihre Richtigkeit mir nicht zweifellos erschien, so habe ich dreimal größere Mengen des Urinporphyrinmethylesters nach Fischers Verfahren dargestellt, mehrfach umkrystallisiert und daraus das Harnporphyrin jedesmal rein abgeschieden und spektroskopisch und spektrographisch untersucht. Ich habe bei den 3 Präparaten für die genau bestimmbaren Streifen Werte gefunden, die innerhalb der Fehlerbreite der Meßmethoden übereinstimmen (s. unten). Soweit es sich um Lösungen in Salzsäure handelt, weichen meine Zahlen von denjenigen H. Fischers stark ab. Die Richtigkeit meiner Zahlen ist einwandfrei bewiesen durch die weitgehende Übereinstimmung der von mir einerseits durch okulare Spektrometrie, andererseits durch das spektrogrammetrische Verfahren gewonnenen Zahlen. Diese Übereinstimmung ist um so überzeugender, als für die beiden Verfahren zwei ganz verschiedene Apparate, ein Spektrometer mit einem Gitter von 3600 Furchen und ein Spektrograph mit einem Gitter von 14486 Furchen pro Zoll engl. benutzt worden sind. Den ersten Apparat habe ich nach den Fraunhoferschen Linien des Sonnenlichts geeicht (Eichung vor jeder Beobachtungsreihe!), beim zweiten Apparat wird nach den Heliumlinien gemessen (Mikrometrie der Spektrogramme).

<sup>1)</sup> O. Schumm, Über Vorkommen und Nachweis einiger pathologisch wichtiger Abbauprodukte des Blutfarbstoffs. Festschrift des Eppendorfer Krankenhauses. 1914. S. 198. Verlag von Leopold Voß, Leipzig und Hamburg.

Zur Gewinnung des erforderlichen Rohporphyrins benutzte ich frischen, durch harte Filter filtrierten Harn. Er wurde mit Eisessig versetzt, der nach kurzer Zeit entstandene Farbstoffniederschlag unter möglichster Abhaltung des Tageslichts sogleich abfiltriert, mit Wasser ausgewaschen und im Dunkeln aufbewahrt. Die Filter mit dem braunen Farbstoffbelag wurden mit  $n_{150}$ -Kalilauge ausgezogen, die violettrote Lösung schnell vor Licht geschützt filtriert, mit Essigsäure gefällt, der ausgefallene Farbstoff abfiltriert, mit Wasser ausgewaschen, scharf abgepreßt, abgekratzt, gewogen, mit der vorgeschriebenen Menge Methylalkohol im Porzellanmörser fein verrieben,<sup>1)</sup> in einen Kolben gespült, und unter sorgfältigem Kühlen mit Eis-Kochsalz-Mischung durch andauerndes Einleiten trockener, gasförmiger Salzsäure verestert, wobei unter starker Zunahme des Volumens eine klare Lösung entstand. Nach 24stündigem Stehen wurde sie mit gleichviel Methylalkohol verdünnt; abgesehen von Filtrierpapierfasern war sie klar. Sie wurde filtriert. Auf dem Filter blieben nur Filtrierpapierfasern, das Rohporphyrin war demnach bei der Veresterung vollständig in Lösung gegangen. In dieser Weise habe ich wiederholt größere Mengen Rohporphyrin in Portionen von wenigen Grammen bis zu 28 g verestert; in keinem Falle verblieb ein Rückstand, aus dem man hätte schließen können, daß das Rohporphyrin ganz oder zu einem beträchtlichen Teil aus einem Porphyrin-Eiweißpaarling bestanden hätte. In Chloroform war das Produkt der Veresterung freilich in keinem Falle vollständig<sup>2)</sup> löslich, selbst nicht bei überreichlicher Dauer der Behandlung mit Salzsäuregas.

H. Fischer<sup>3)</sup> berichtet nun, daß beim Verestern von 12 g feuchtem (= 6 g trockenem) rohem Farbstoff 2,7 g (trocken) Rückstand verblieben sei, dem «bei nochmaliger Behandlung mit Methyalkoholsalzsäure» kein Farbstoff mehr entzogen werden konnte. Fischer konnte aus dem Rück-

<sup>1)</sup> Unterläßt man die feine Verteilung, so geht der Farbstoff schwieriger vollständig in Lösung.

<sup>2)</sup> Einen in Chloroform unlöslichen Anteil des Veresterungsprodukts beobachtete auch H. Fischer.

<sup>3)</sup> Bd. 95, S. 49.

stand nach Hydrolyse mit rauchender Salzsäure ein Gemisch von Aminosäuren erhalten und schließt daraus auf die vorherige Anwesenheit eines zur Eiweißgruppe gehörigen Stoffes. Nach seiner ersten Angabe<sup>1)</sup> hätte das Rohporphyrin aus Harn etwa  $\frac{1}{3}$  Eiweiß enthalten, wobei Fischer es unentschieden läßt, ob eine feste Verbindung zwischen dem Eiweißkörper und dem Porphyrin vorgelegen hat oder nicht. In der zweiten Mitteilung<sup>2)</sup> über diesen Gegenstand schreibt Fischer: «Der größte Teil des Farbstoffs ist in eiweißfreier Form vorhanden und wird durch Essigsäure niedergeschlagen. Ein Teil dieses Niederschlags ist dann in Methylalkohol-Salzsäure (trockner HCl) unlöslich, dies ist eine Farbstoff-Eiweißverbindung. Ob es sich hier um eine feste Verbindung handelt oder nur um Adsorption, ist schwer zu entscheiden». Vielleicht ist der Umstand nicht ganz ohne Bedeutung, daß in Fischers Versuchen Bedingungen bestanden, die das Ausfallen eines eiweißartigen Harnbestandteils begünstigten (die Essigsäurefällung wurde anscheinend erst abfiltriert, nachdem das Gemisch über Nacht gestanden hatte).

Die Esterlösung wurde in die 4fache Menge Wasser gegossen, unter Eiskühlung mit Soda alkalisiert und mit mehreren Portionen Chloroform ausgeschüttelt. Vor der Abtrennung der Chloroformschicht steht zwischen ihr und der oberen wässrigen, zuletzt nur noch sehr schwach gefärbten Flüssigkeit eine noch rot gefärbte trübe Schicht, die ebenfalls abgetrennt und mit Chloroform erschöpft wird.

Die vereinigten Chloroformauszüge wurden filtriert, im Vakuum eingedampft, der Rückstand je nach seiner Menge in ungefähr 5—25 ccm Chloroform gelöst, filtriert und die 4fache Menge siedenden Methylalkohols zugemischt, wonach sehr bald eine reichliche krystallinische Ausscheidung eintrat. Die vielfach zu Büscheln vereinigten Einzelkrystalle entsprachen der Abbildung H. Fischers. Der nach dem Erkalten abfiltrierte und abgepreßte Krystallniederschlag wurde durch Lösen in Chloroform und Zusatz siedenden Methylalkohols mehrfach umkrystallisiert und dadurch leicht ein vollkommen einheitlich krystallisiertes Präparat erhalten.

Anm. H. Fischer<sup>3)</sup> hat Lösungen des Urinporphyrinmethylesters in Chloroform spektroskopisch untersucht und macht darüber folgende Angaben:

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr., Bd. 95, S. 45 und 46.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschr., Bd. 97, S. 148.

<sup>3)</sup> Diese Zeitschr., Bd. 97, S. 127 (1916).

•0,02 g Ester in 100 ccm Chloroform	0,01 g Ester in 100 ccm Chloroform
I. 628—620 (624)	I. 629—620 (624,5)
II. Zarter Streifen bei 597	II. Schatten bei 597
III. 586—564 (575)	III. 583—565 (574)
IV. 541—526 (533,5)	IV. 539—527 (533)
V. 513—485 (499)	V. 512—491 (501,5)

Bei der Untersuchung von Lösungen des Urinporphyrinmethylesters in Chloroform habe ich mit dem Gitterspektrometer folgendes feststellen können: Das Spektrum zeigt vier Hauptstreifen und einen viel schwächeren schmalen Nebenstreifen (auf etwa 598).

Von den vier Hauptstreifen ist der erste nahezu symmetrisch (Maximum 625). Der zweite ist unsymmetrisch, er erscheint bei Lösungen von bestimmter Verdünnung fast als Doppelstreifen, hat ein sehr schwaches Maximum auf ungefähr  $581\frac{1}{2}$  und ein deutliches Maximum auf etwa  $570\frac{1}{2}$ . Der dritte Streifen ist etwas unsymmetrisch, sein Maximum liegt links von der Mitte auf ungefähr 536. Der vierte Streifen ist ebenfalls unsymmetrisch, nach rechts unscharf begrenzt, Maximum auf ungefähr  $499\frac{1}{2}$ . Beim Vergleich dieser Zahlen mit denen H. Fischers ist zu beachten, daß Fischer auch bei den unsymmetrischen Hauptstreifen II, III und IV (von ihm als III, IV, V bezeichnet) als Ort der Streifen mit den eingeklammerten Zahlen den Wert für die Mitte angibt, während ich den Ort dieser Streifen durch Angabe der Dunkelheitsmaxima gekennzeichnet habe. Wenn man die beiderseitigen Angaben unter Berücksichtigung dieses Umstandes genau prüft, so zeigt sich, daß eine befriedigende Übereinstimmung besteht. Das gilt auch für den ziemlich genau bestimmbaren Streifen I.

Da sich mir zur Verseifung des Methylesters die zweite Vorschrift Fischers besser bewährte als die erste, so habe ich die für die unten beschriebene Untersuchung erforderlichen Präparate nach der zweiten hergestellt.<sup>1)</sup> Je 0,4 g des umkrystallisierten Harnporphyrinmethylesters wurden mit 40 bis 50 ccm 10%iger Natronlauge am Rückflußkühler unter Schutz vor hellem Tageslicht gekocht, wobei sich der Ester bald auflöste. Nach einstündigem Kochen wurde die Flüssigkeit abgekühlt, mit 50 ccm Eisessig versetzt und viermal mit einer reichlichen Menge Äther ausgeschüttelt, wobei ebenso wie in Fischers Versuch nur Spuren Farbstoff in den Äther gingen. Nach Abtrennung des Äthers wurde das freie Porphyrin aus der sauren wässrigen Flüssigkeit abfiltriert, abgesogen, in Natriumbicarbonatlösung aufgelöst, filtriert, mit Eisessig gefällt und gut ausgewaschen. Der Einfluß des Tageslichts

<sup>1)</sup> H. Fischer, Über das Urinporphyrin. Diese Zeitschr., Bd. 96, S. 53—54 (1915).

wurde auch hierbei möglichst ausgeschaltet, namentlich, soweit alkalische Lösungen in Betracht kamen. Die spektrographische und spektroskopische Untersuchung des reinen Porphyrins habe ich jeweils unmittelbar nach seiner Fertigstellung ausgeführt.

Lösungen des reinen Urinporphyrins (= Harnhämatorporphyrins) in 25%iger Salzsäure (spez. Gew. 1,124).

Sie geben das bekannte Bild des «Hämatoporphyrin-Säurespektrums». Ich fand für die 5 Streifen des sichtbaren Spektrums durch okulare Messungen:

	I.	II.	III.	IV.	V.
Präparat 1 . . . . .	596 1/2	576 1/2	553 1/4	527	511 3/4
„ 2 . . . . .	597	577 1/2	553 1/2	526	511 3/4
„ 3 . . . . .	596 1/2	577	553 1/2	526	511 3/4

Bei der spektrogrammetrischen Bestimmung fand ich für die 3 Hauptstreifen<sup>1)</sup>

	I.	III.	VI.
Präparat 1 . . . . .	597,1	554,1	411
„ 2 . . . . .	597	554	410,5
„ 3 . . . . .	nicht bestimmt	nicht bestimmt	410,6

Bei verfärbten, offenbar zersetzten Lösungen von Harnporphyrin in 25%iger Salzsäure beobachtete ich einen weiteren starken Absorptionsstreifen auf ungefähr 456 (okulare Messung; spektrogrammetrisch bestimmt: 454,5). In geringerer Stärke beobachtet man ihn bei in Zersetzung begriffenen Lösungen schon, bevor eine deutliche Farbänderung sich bemerkbar macht.

Lösungen des reinen Urinporphyrins in n/10-Kalilauge.

Sie zeigen das vom Rohporphyrin her bekannte Spektrum; durch okulare Messungen fand ich für den Ort der 4 Streifen bei frischen Lösungen

	I.	II.	III.	IV.
Präparat 1 . . . . .	611 1/2	559	538 1/2	501
„ 2 . . . . .	611 1/2	560	538 1/2	502
„ 3 . . . . .	611	559	538 1/4	502 1/2

<sup>1)</sup> Für den schwächeren Streifen II angenähert 576 1/2.

Der zweite Streifen ist unsymmetrisch, sein Maximum (559) liegt rechts von der Mitte; ein zweites Maximum liegt links von dem ersten, aber eine Zweiteilung des Streifens habe ich bei frischen Lösungen nicht beobachten können (vgl. Spektrum 10. auf der Spektraltafel). Der vierte Streifen war nicht ganz symmetrisch (Mitte etwa 503, Maximum etwa 501). Der dritte Streifen ist symmetrisch. Frische stärkere Lösungen zeigten noch einen äußerst zarten, nur eben wahrnehmbaren Streifen auf ungefähr 587.

**Kali-Lichtreaktion.** Auch das reine Harnporphyrin gibt diese oben näher beschriebene Probe in ausgesprochener Weise. Bei Lösungen mit geringem Gehalt an Kaliumhydroxyd erfolgt die von dem Auftreten des neuen Absorptionsstreifens im Blau (auf etwa  $462\frac{1}{2}$ ) begleitete Umwandlung nur sehr langsam, bei Gegenwart von mehr Kaliumhydroxyd in kürzerer Zeit, bei Lösungen in 4%iger Kalilauge sehr schnell, innerhalb einiger Minuten und ohne besondere Belichtung. Das reine Kotporphyrin verhält sich bei dieser Reaktion wesentlich anders (s. unten).

**Chlorzink-Ammoniakreaktion.** Löst man reines Harnporphyrin in 10 ccm Wasser und 3 Tropfen  $\frac{n}{10}$ -Kalilauge, und setzt 1 Tropfen 10%iger Chlorzinklösung und 1 ccm Salmiakgeist (10%  $\text{NH}_3$ ) hinzu, so wird die Lösung sogleich violettrot und zeigt zwei Absorptionsstreifen auf  $\mu\mu$   $577\frac{1}{4}$  (I) und etwa  $541\frac{1}{2}$  (II). Streifen I ist symmetrisch, schmaler und weniger dunkel als der angenähert symmetrische Streifen II (sog. metallisches Porphyrinspektrum). Das reine Kotporphyrin gibt eine analoge Reaktion mit abweichender Lage der Streifen.

**Absorptionserscheinungen des nach H. Fischers Verfahren aus Kot dargestellten Kotporphyrins.**

Die Anwesenheit eines Porphyrins in den Faeces unseres Kranken ist bereits von H. Günther<sup>1)</sup> in Bonn nachgewiesen worden. H. Fischer<sup>2)</sup> isolierte das Porphyrin aus den Faeces

<sup>1)</sup> l. c.

<sup>2)</sup> H. Fischer, Diese Zeitschr., Bd. 96, S. 148 (1915).

Anm. Es ist H. Fischer gelungen, auch in den Faeces eines anderen Kranken, der schwach porphyrinhaltigen Harn entleerte, Kotporphyrin nachzuweisen, vgl. Diese Zeitschr., Bd. 97, S. 168 (1916).

auf dem Wege über den Methyl- und Äthylester, stellte gemeinsam mit Dr. Lieb in Graz die elementare Zusammensetzung fest, beschrieb das allgemeine chemische Verhalten dieses Farbstoffs und prüfte ihn auf seine photodynamische Wirkung.

Der Porphyringehalt der Faeces war, so lange sich der Kranke in Hamburg aufhielt, schon bei Verarbeitung kleiner Mengen regelmäßig nachweisbar. Etwa 3—5 g der Faeces wurden sofort nach der Entleerung mit einem Gemisch aus gleichen Raumteilen Alkohol und Äther fein verrieben, filtriert, mit Alkoholäther, dann mit Äther nachgewaschen, der Äther abgesogen, der Faecesrückstand auf dem Filter mit 25%iger Salzsäure ausgezogen, das dunkle Filtrat mit 25%iger Salzsäure verdünnt, so daß der Gehalt an Salzsäure angenähert zu 25% angenommen werden konnte. Die braune Lösung zeigte in geeigneter Schichtdicke deutlich das Porphyrin-Säurespektrum, der erste Streifen wurde zu  $\mu\mu$  593 $\frac{1}{2}$  bestimmt, der dritte, der in der Mitte die für diesen Streifen des Kotporphyrins von mir nachgewiesene (s. unten) feine Aufhellung zeigte, durch Messung der Stelle des Minimums zu 550. Diese Zahlen stimmen genau mit denen des reinen Kotporphyrins überein (s. unten).

### Rohes Kotporphyrin.

Der Gesamtkot einer Entleerung (1—2tägige Menge) wurde sogleich mit viel Alkohol fein verrieben, filtriert, mit einem Gemisch aus Alkohol und Äther, zuletzt mit Äther nachgewaschen, bis das Filtrat nur noch schwach gefärbt war. In dieser Weise wurden zwei Tagesmengen verarbeitet. Die Filtrate wurden nicht benutzt; die Rückstände wurden nach H. Fischers<sup>1)</sup> Vorschrift mit einigen Litern 1%iger Natriumbicarbonatlösung angerieben, am nächsten Morgen durch harte Filter abfiltriert. Die klaren Filtrate wurden mit Eisessig angesäuert und nach mehrstündigem Stehen die höchst feine Trübung durch harte Filter abfiltriert. Der auf den Filtern verbleibende Farbstoffbelag wurde in Wasser unter Zusatz von

<sup>1)</sup> H. Fischer, Diese Zeitschr., Bd. 97, S. 109 (1916).

$n_{10}$ -Kalilauge gelöst, mit Wasser verdünnt (Farbe bei stärkerer Verdünnung braunrosa), filtriert, mit Essigsäure gefällt, der Niederschlag abfiltriert und ausgewaschen (= rohes Kotporphyrin). Die Untersuchung mehrerer in dieser Art hergestellter frischer Präparate ergab folgendes:

Lösungen in 25%iger Salzsäure, violettrot.

Sie geben das Porphyrin-Säurespektrum. Die ganze Streifengruppe verschiebt sich mit abnehmendem Gehalt der Lösung an freier Salzsäure nach Violett. Der dritte Streifen zeigte stets die schon oben angegebene Andeutung einer Zweiteilung, ein feines schmales Minimum etwa in der Mitte des Streifens, das bei genügend eng gestelltem Spalt des Spektrometers deutlich wahrnehmbar ist. Durch Einstellung der Okularmarke auf dieses Minimum ist der Ort dieses Streifens genau zu bestimmen. Durch okulare Messungen fand ich für den Ort der Streifen I.  $\mu\mu$  593 $\frac{1}{2}$ , II. etwa 573 $\frac{1}{2}$ , III. 549 $\frac{3}{4}$ , IV. etwa 525, V. zur Ortsbestimmung nicht deutlich genug abgegrenzt (vgl. Spektrum 8 und 9 auf der Spektraltafel). Die spektrographische Bestimmung ergab für I. 593,7, II. etwa 572,4, III. 550,2, VI. 405,9. Der Streifen VI (Violettstreifen) ist, wie der des Harnporphyrins, nur spektrographisch, so aber an höchst schwachen Lösungen als schmaler Streifen genau bestimmbar.

#### Alkalische Lösungen.

Lösungen in  $n_{10}$ -Kalilauge zeigten 4 Absorptionsstreifen in folgender Lage: I. 617 $\frac{3}{4}$ , II. etwa 566 $\frac{1}{2}$ , III. 539, IV. etwa 504. (Okulare Messungen.) Streifen I ist am schmalsten, II unsymmetrisch, etwa doppelt so breit als I, Maximum rechts von der Mitte, III ist etwas breiter, aber nur wenig dunkler als I; II und III etwa gleich dunkel, IV ist bedeutend breiter und etwas dunkler als III (vgl. Spektrum 7 auf der Spektraltafel.)

Lösungen des einen Präparates in  $n_{10}$ -Kalilauge zeigten dasselbe Spektrum, nur war der zweite Streifen diesmal fast symmetrisch (seine Mitte wurde zu 571 bestimmt) und der

vierte Streifen wurde zu  $502\frac{1}{2}$  gefunden. Anscheinend macht sich bei dem Rohporphyrin aus Faeces in alkalischer Lösung die nicht vollkommene Reinheit etwas bemerkbar.

Lösungen der Präparate in 0,1%, also in schwächerer Kalilauge zeigten in allen Fällen im Orange einen Doppelstreifen oder einen Streifen mit 2 Maxima (auf  $617\frac{1}{2}$  und etwa 607), die übrigen Streifen auf etwa 567,  $536\frac{1}{2}$  und  $502\frac{1}{2}$ .

Lösungen in 2%iger Sodalösung zeigten wie die in  $\frac{n}{10}$ -Kalilauge vier Absorptionsstreifen, I.  $617\frac{3}{4}$ , II. etwa 568, III.  $539\frac{1}{2}$ , IV. etwa  $505\frac{1}{2}$ ; Streifen I, III, IV ungefähr gleich stark, II etwas schwächer. (Streifen II nicht ganz symmetrisch, Maximum etwas rechts von der Mitte, Mitte etwa 571, Maximum etwa 568.)

Kali-Lichtreaktion.<sup>1)</sup> Bei dieser Probe verhält sich sowohl das rohe als auch das mehrfach umgefällte Kotporphyrin wesentlich anders als das Harnporphyrin. Alle Präparate lieferten (auch in Lösungen mit 4%igem Kaliumhydroxyd) nur einen schwachen, wenig deutlichen, ziemlich breiten und nach Violett nicht gut abgegrenzten Streifen auf ungefähr 461.

Chlorzink-Ammoniakreaktion. Löst man zweimal umgefälltes Kotporphyrin in 10 ccm Wasser und 3 Tropfen  $\frac{n}{10}$ -Kalilauge und setzt 1 Tropfen 10%ige Chlorzinklösung und 1 ccm Salmiakgeist (10%  $\text{NH}_3$ ) hinzu, so entsteht sogleich eine rote Lösung, die zwei Absorptionsstreifen auf 575 (I.) und etwa  $538\frac{1}{2}$  (II.) zeigt. Der erste Streifen ist schmaler und weniger dunkel als der zweite.

#### Aus dem Methylester nach H Fischers Verfahren rein dargestelltes Kotporphyrin.

H. Fischer hat Lösungen des Kotporphyrins in  $\frac{n}{10}$ -Kalilauge und in 19%iger Salzsäure spektroskopisch untersucht. Er fand für eine Lösung des Kotporphyrins in Salzsäure (0,01 g in 100 ccm 19%iger HCl)<sup>2)</sup>:

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

<sup>1)</sup> Vgl. oben bei Harnporphyrin.

<sup>2)</sup> H. Fischer. Diese Zeitschr., Bd. 97, S. 126 (1916).

Daraus würde sich nach meinen Versuchen über die Verschiebung der Absorptionsstreifen mit steigendem Salzsäuregehalt für den Ort der Hauptstreifen I und III bei einer Lösung in 25%iger HCl berechnen: I. 592,5, III. 548,5. Da ich für Lösungen des rohen und des durch Umfällen gereinigten Kotporphyrins in Salzsäure Werte fand, die mit obigen von H. Fischer mitgeteilten Zahlen nicht genau übereinstimmen, so habe ich dreimal Kotporphyrinmethylester dargestellt und daraus das reine Kotporphyrin nach Fischers Vorschrift abgeschieden. Die drei Präparate sind von mir spektrometrisch und spektrographisch untersucht worden und haben gut übereinstimmende Zahlen ergeben. Meine durch die okulare Spektrometrie gefundenen Zahlen sind durch die spektrogrammetrischen Bestimmungen bestätigt (s. unten). Hiernach weisen H. Fischers Zahlen für die salzsaure Lösung noch eine deutliche Abweichung von dem richtigen Werte wenigstens für den Ort des zweiten Hauptstreifens (III) auf.

Aus einer Anzahl Stuhlentleerungen wurde durch Verarbeitung jeder Portion in frischem Zustande eine genügende Menge rohen Kotporphyrins in der oben angegebenen Weise hergestellt, zweimal aus sehr verdünnter Kalilauge umgefällt, gewaschen, scharf abgepreßt und in Mengen von je etwa 4 bis 6 g (feucht) mit 100 bis 150 ccm Methylalkohol fein verrieben, durch Einleiten von Salzsäuregas unter guter Eiskühlung verestert, wobei der Farbstoff vollständig in Lösung ging, am nächsten Tage gleichviel Methylalkohol zugesetzt und von den Filtrierpapierfasern abfiltriert. Das Filtrat wurde wie beim Urinporphyrin nach Zusatz von viel Wasser und Alkalisieren mit Soda mit Chloroform ausgeschüttelt, die zuletzt noch bestehende trübe Zwischenschicht nach dem Abtrennen nochmals für sich mit Chloroform behandelt. Die Chloroformlösungen wurden im Vakuum eingedampft, der Rückstand in 20—25 ccm Chloroform gelöst, mit der mehrfachen Menge siedenden Methylalkohols gemischt, die bald eintretende krystallinische Ausscheidung nach dem Erkalten abfiltriert. Die Krystalle wurden zweimal aus Chloroform-Methylalkohol umkrystallisiert und das nur aus gut ausgebildeten

## Krystallen bestehende reine Präparat zur Gewinnung des reinen Kotporphyrins verseift.

Anm. H. Fischer<sup>1)</sup> hat Lösungen des Kotporphyrinmethylesters in Chloroform spektroskopisch untersucht und macht darüber folgende Angaben:

### «Kotporphyrinmethylester:

	0,01 g Ester in 100 ccm Chloroform
I. 625—615 (620)	I. 624—616 (620)
II. Zarte Streifen bei 595	II. Schatten bei 595
III. 580—561 (570,5)	III. 579—561 (570)
IV. 538—523 (530,5)	IV. 537—526 (531,5)
V. 512—483 (497,5)	V. 510—487 (498,5)
	V. Besteht möglicherweise aus zwei Streifen, jedenfalls 2 Maxima.»

Bei der Untersuchung von Lösungen des Kotporphyrinmethylesters in Chloroform mit dem Gitterspektrometer habe ich folgendes feststellen können. Das Spektrum zeigt 4 Hauptstreifen und einen viel schwächeren schmalen Nebenstreifen (auf etwa 595). Von den vier Hauptstreifen ist der erste nahezu symmetrisch (Maximum 621), der zweite ist unsymmetrisch, bei Lösungen von bestimmter Verdünnung erscheint er fast als Doppelstreifen; er hat ein sehr schwaches Maximum auf ungefähr 577<sup>1</sup>/<sub>2</sub> und ein deutliches Maximum auf 566. Der dritte ist etwas unsymmetrisch, sein Maximum liegt links von der Mitte auf ungefähr 533<sup>1</sup>/<sub>2</sub>. Der vierte Streifen ist unsymmetrisch, nach rechts unscharf begrenzt, Maximum auf ungefähr 498. Die ganze Streifengruppe liegt demnach weiter nach Violett als bei dem im übrigen täuschend ähnlichen Absorptionsbild des Urinporphyrinmethylesters. Durch genaue Ortsbestimmung der Streifen sind Lösungen dieser Ester in Chloroform leicht zu unterscheiden.

Je 0,2 g Kotporphyrinmethylester wurden mit 20 ccm 10% iger Natronlauge am Rückflußkühler gekocht, bis vollständige Lösung eingetreten war, was, wie schon Fischer angegeben hat,<sup>2)</sup> viel länger dauert als beim Urinporphyrinmethylester. Zur Sicherheit habe ich dann wie Fischer noch eine Stunde weitergekocht, die klare Lösung abgekühlt, mit Wasser verdünnt, filtriert, mit Eisessig angesäuert und den Niederschlag abfiltriert und ausgewaschen. In einem Versuche wurde er auch noch umgefällt, wonach er übrigens das gleiche Verhalten zeigte. Fischers Beobachtung,<sup>1)</sup> daß das Kotporphyrin die Eigentümlichkeit besitzt, recht beständige kolloidale Lösungen zu bilden, habe ich bestätigen können.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr., Bd. 97, S. 127.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschr., Bd. 96, S. 171.

## Lösungen des reinen Kotporpyrins in 25%iger Salzsäure.

Sie zeigen das Porphyrin-Säurespektrum in der beim rohen Kotporphyrin beschriebenen Weise mit dem Unterschied, daß die Form und Begrenzung des fünften sehr schwachen Streifens deutlicher erkennbar sind. Die okularen Messungen ergaben bei

	I.	II.	III.	IV.	V.
Präparat 1 . . . . .	593 <sup>1</sup> / <sub>4</sub>	573 <sup>3</sup> / <sub>4</sub>	550	525	510
> 2 . . . . .	593	573 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	550	524 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	509
> 3 . . . . .	593	573 <sup>1</sup> / <sub>4</sub>	549 <sup>3</sup> / <sub>4</sub>	524	509

Streifen I ist schmal, symmetrisch, genau bestimmbar, II weniger genau, III zeigt bei passender Schichtdicke bezw. Farbstoffkonzentration deutlich das fast genau in der Mitte liegende schmale Minimum, durch dessen Einstellung auf die Okularmarke der Streifen genau bestimmbar ist. IV ist schwach und in dünneren Lösungen undeutlich, V ebenfalls schwach, aus zwei einander äußerst eng benachbarten zarten Streifen auf ungefähr 512 und 505 bestehend, die leicht als ein einheitlicher Streifen angesehen werden. Die Aufhellung zwischen beiden Streifen liegt auf ungefähr 509.

Bei der spektrogrammetrischen Bestimmung fand ich für die Hauptstreifen <sup>1)</sup> bei

	I.	III.	VI.
Präparat 1 . . . . .	593,7	550,2	405,8
> 2 . . . . .	593,5	550,2	405,7
> 3 . . . . .	nicht bestimmt	nicht bestimmt	405,8

Streifen VI ist in sehr dünnen Lösungen genau bestimmbar, wie schon bei der Beschreibung des rohen Kotporphyrins erwähnt worden ist.

Verfärbte offenbar zersetzte Lösungen von reinem Kotporphyrin in 25%iger Salzsäure gaben einen weiteren starken Absorptionsstreifen in Blau auf ungefähr 455 <sup>1</sup>/<sub>2</sub>; (okulare Messung; spektrogrammetrisch bestimmt: 455).

<sup>1)</sup> Für den Streifen II etwa 572,8.

## Lösungen des reinen Kotporphyrins in Kalilauge.

Lösungen in  $n/10$ -Kalilauge geben das vierbandige Spektrum (vgl. Spektrum 11. auf der Spektraltafel) I. Streifen  $617\frac{1}{2}$ , II. unsymmetrisch, Maximum rechts von der Mitte auf etwa  $565\frac{1}{2}$ , III.  $538\frac{1}{4}$ , IV. ungefähr  $503\frac{1}{2}$  (okulare Messungen).

Ich fand bei

	I.	II.	III.	IV.
Präparat 1 . . . . .	$617\frac{1}{2}$	$565\frac{1}{2}$ <sup>1)</sup>	$538\frac{1}{4}$	$503\frac{1}{2}$ <sup>1)</sup>
> 2 . . . . .	$617\frac{1}{2}$	566 <sup>1)</sup>	538	$502\frac{1}{2}$ <sup>1)</sup>
> 3 . . . . .	$617\frac{1}{2}$	565 <sup>1)</sup>	$538\frac{1}{2}$	504 <sup>1)</sup>

Bei Lösungen in 0,1%iger Kalilauge zeigte sich der erste Absorptionsstreifen im Orange mehr oder weniger deutlich als Doppelstreifen bzw. als Streifen mit zwei Absorptionsmaxima, von denen das erste auf  $617\frac{1}{4}$  viel deutlicher hervortritt als das zweite (auf ungefähr  $606\frac{1}{2}$ ). Bei den Streifen II und III besteht außerdem ein geringer Lageunterschied gegenüber denen der Lösungen in  $n/10$ -Kalilauge. Lösungen in 0,05%iger Kalilauge zeigten ein deutlich abweichendes Spektrum.

**Kali-Lichtreaktion.** Das Kotporphyrin erleidet dabei ähnlich dem Harnporphyrin eine Umwandlung, die sich durch das Auftreten eines neuen Absorptionsstreifens im Blau auf etwa 459 und allmähliche Veränderung der Farbe kundgibt. Der Streifen auf 459 ist ziemlich breit, nach Violett nicht deutlich abgegrenzt, und fällt viel weniger auf als der unter den gleichen Umständen beim Harnporphyrin auftretende scharf begrenzte Streifen auf  $462\frac{1}{2}$ . Im Gegensatz zum Harnporphyrin tritt beim Kotporphyrin auch in 4% KOH enthaltenden Lösungen der neue Streifen nicht so leicht auf wie bei jenem.

**Chlorzink-Ammoniakreaktion.** Löst man reines Kotporphyrin in 10 ccm Wasser und 3 Tropfen  $n/10$ -Kalilauge und setzt 1 Tropfen 10%iger Chlorzinklösung und 1 ccm Salmiakgeist (10%  $\text{NH}_3$ ) hinzu, so entsteht sogleich eine violettstichigrote Lösung, die zwei Absorptionsstreifen, auf  $574\frac{1}{2}$  (I.) und  $538\frac{1}{2}$  (II.) zeigt, von denen der erste symmetrisch, schmaler und weniger dunkel ist als der zweite.

<sup>1)</sup> Nur angenähert bestimmbar.

**VI. Vergleich der neu festgestellten spektrometrischen Grundwerte für die natürlichen Porphyrine mit den zugehörigen Werten des nach Nenckis Verfahren aus Blutfarbstoff dargestellten Hämatoporphyrins und Mesoporphyrins.**

I. Lösungen in wässriger Salzsäure vom spez. Gew. 1,124 (= 25% HCl).

	Zeichen der Absorptionsstreifen	Harnhämatoporphyrin (= Fischers Urinporphyrin), nach H. Fischers Verfahren aus dem Methyl ester dargestellt	Hämatoporphyrin aus Hämin, nach Nenckis Verfahren dargestellt <sup>1)</sup>	Kotporphyrin, nach H. Fischers Verfahren aus dem Methyl ester dargestellt	Mesoporphyrin aus Hämin, nach Nenckis Verfahren dargestellt <sup>2)</sup>
Okulare Bestimmungen mit dem Gitterspektrometer	I.	596,7	595,3	598,1	592,7
	II.	577	574,5	573,5	572,5
	III.	553,4	552	549,9	549,7
	IV.	526,3	526	524,5	524
	V.	511,8	511	509,3	509
Spektrogrammetrische Bestimmungen nach Aufnahmen mit dem Gitterspektrographen	I.	597,1	595,5	598,6	592,8
	III.	554,1	551,7	550,2	549,7
	VI.	410,7	407,5	405,8	404,7

II. Lösungen in  $\frac{1}{10}$ -Kalilauge.

	Zeichen der Absorptionsstreifen	Harnhämatoporphyrin (= Fischers Urinporphyrin), nach H. Fischers Verfahren aus dem Methyl ester dargestellt	Hämatoporphyrin aus Hämin, nach Nenckis Verfahren dargestellt <sup>1)</sup>	Kotporphyrin, nach H. Fischers Verfahren aus dem Methyl ester dargestellt	Mesoporphyrin aus Hämin, nach Nenckis Verfahren dargestellt
Okulare Bestimmungen mit dem Gitterspektrometer	I.	611,3	618,5	617,5	Ia 629 Ib 617
	II.	559,3	566	565,5	Form und Ort der übrigen Streif. etwas schwankend, genauere Angaben darüber: O. Schumm, Diese Zeitschrift, Bd. 90, S. 17.
	III.	538,4	541	538,3	
	IV.	501,8	504	503,3	

<sup>1)</sup> u. <sup>2)</sup> siehe Fußnoten nächste Seite.

Nach obiger Zusammenstellung weisen die Lösungen von Harnporphyrin, Nenckis Hämatoporphyrin und Kotporphyrin in 25%iger HCl so deutliche Unterschiede auf, daß diese 3 Porphyrine unter günstigen Umständen schon durch Untersuchung in salzsaurer Lösung erkannt werden können. Die Spektren von Kotporphyrin und Mesoporphyrin Nencki in 25%iger Salzsäure sind einander äußerst ähnlich; zu ihrer Unterscheidung reicht die Untersuchung in 25%iger HCl allein nicht aus, sie muß durch eine genaue Untersuchung der Lösung in  $n_{10}$ -KOH ergänzt werden, die bei Kotporphyrin und Mesoporphyrin deutliche Unterschiede aufweisen. In reinen Lösungen in  $n_{10}$ -KOH ist das Harnporphyrin sowohl von Nenckis Hämatoporphyrin als auch von Kotporphyrin und Mesoporphyrin mit Hilfe eines zuverlässigen Spektrometers leicht zu unterscheiden; weniger einfach ist in solchen Lösungen die Unterscheidung zwischen Hämatoporphyrin Nencki und Kotporphyrin, unter Umständen auch die von Mesoporphyrin. Die Unterscheidung aller angeführten Porphyrine ist bei reinen Lösungen auf spektralanalytischem Wege möglich, wenn man sie sowohl in 25%iger Salzsäure als auch in  $n_{10}$ -KOH untersucht. In meiner Abhandlung 'Über das Hämatoporphyrin' aus Harn und Knochen, <sup>3)</sup> habe ich darauf hingewiesen, daß eine eingehende spektrographische Untersuchung unter besonderer Berücksichtigung des Violetstreifens Aufklärung über den Umfang der spektralanalytischen Unterschiede zwischen Harnhämatoporphyrin und Nenckis Hämatoporphyrin bringen müßte. Jene Aufgabe ist in dieser Untersuchung mit zur Ausführung gekommen. Für den Violetstreifen der salzsauren Porphyrinlösungen, dessen Lage nur durch die spektrographische Methode genau bestimmt werden kann, haben sich sehr deutliche Unterschiede zwischen Harnhämatoporphyrin ( $\mu$  410,7) einerseits, Hämatoporphyrin Nencki (407,5), Kotporphyrin (405,8) und Mesoporphyrin (404,7) ander-

<sup>1)</sup> O. Schumm, Untersuchungen über die Absorptionserscheinungen des Hämatoporphyrins und Mesoporphyrins im Gitterspektrum. Diese Zeitschr., Bd. 90, S. 1 (1914).

<sup>2)</sup> Das nach H. Fischers Verfahren dargestellte Mesoporphyrin verhält sich ebenso (vgl. Diese Zeitschr.; Bd. 90, S. 7 u. 15).

<sup>3)</sup> Diese Zeitschr., Bd. 96, S. 183 (1915).

seits ergeben. Am geringsten ist der Unterschied zwischen Kotporphyrin und Mesoporphyrin. Der jetzt von mir festgestellte Wert, 410,7 für den Violetstreifen des reinen Harnporphyrins stimmt befriedigend überein mit dem schon früher<sup>1)</sup> von mir an 24% HCl enthaltenden Harn-Salzsäuremischungen des gleichen Falles gefundenen Werte (etwa 410). An Hand jenes Grundwertes läßt sich nachträglich feststellen, daß das in dem von Roedelius und mir beschriebenen Falle von Hämatoporphyrinogenurie<sup>2)</sup> nachgewiesene Porphyrin in der Lage des Violetstreifens (12 1/2% HCl enthaltende Harnsalzsäuremischung  $\mu\mu$  408,3, bei 25% HCl-Gehalt demnach etwa 410)<sup>3)</sup> mit dem Harnporphyrin des hier beschriebenen Falles übereinstimmt. Eine unter Verwertung der neueren Erfahrungen von mir neuerdings unternommene Aufarbeitung der aus jener Zeit noch vorhandenen rohen Farbstofffraktionen hat ergeben, daß das Harnporphyrin jenes Falles spektranalytisch keine nachweisbaren Unterschiede von Fischers Harnporphyrin bietet. Ich führe hier die neu ermittelten Werte für das aus jenem alten Rohmaterial abgeschiedene Porphyrin neben denen für das Harnporphyrin aus Petrys Harn an:

	Porphyrin aus dem Harn des Falles von Hämatoporphyrinogenurie	Urinporphyrin aus dem Harn bei Haematoporphyrin congenita
Lösung in 25% iger HCl	I. 596 3/4 II. etwa 577 III. 553 1/4 IV. etwa 526 1/2 V. 512	I. 596,7 II. etwa 577 III. 553,4 IV. 526,3 V. 511,8
Lösung in n/10-KOH	I. 611 1/2 II. unsymmetrisch, Maximum rechts von der Mitte etwa 559 III. 538 1/2 IV. ungefähr 500 2/3	I. 611,3 II. unsymmetrisch, Maximum rechts von der Mitte etwa 559,3 III. 538,4 IV. ungefähr 500,8

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr., Bd. 96, S. 192.

<sup>2)</sup> Roedelius und Schumm, Zeitschr. f. urologische Chirurgie, Bd. III (1914), S. 112.

<sup>3)</sup> Vgl. Diese Zeitschr., Bd. 96 (1915), S. 193.

In Anbetracht der Fehlerbreite der Messungen muß die Übereinstimmung als eine vollkommene bezeichnet werden. Es liegt somit einstweilen kein Anlaß vor, anzunehmen, daß das bei jenem Falle von Hämatorporphyrinogenurie unbekannter Ätiologie nachgewiesene Porphyrin von Fischers Urinporphyrin verschieden sei.<sup>1)</sup> Ein Zahn des Kranken wies keinen Porphyringehalt auf. Die Möglichkeit zur Untersuchung anderer Knochen bestand nicht.

Der Nachweis von Kotporphyrin in jenen alten Präparaten aus Harn ist mir zwar nicht gelungen, doch ist damit keineswegs gesagt, daß nicht in den porphyrinreichen Harnportionen, die bei jenem Falle in der ersten Woche nach Eintritt der Hämatorporphyrinurie ausgeschieden wurden, neben Harnporphyrin auch nachweisbare geringe Mengen von Kotporphyrin im Harn enthalten gewesen sind. Auch in dem jetzigen Falle (Petry) mit hochgradiger Hämatorporphyrinurie tritt im Harn das Kotporphyrin gegenüber dem Harnporphyrin zurück: bei dem Falle von Roedelius und mir war aber selbst in der ersten Woche der Gehalt des Harns an Gesamt-Porphyrin weit geringer<sup>2)</sup> als in dem Fall Petry.

Auf Grund der von mir bei einem Falle von Sulfonalporphyrinurie (1911)<sup>3)</sup> ausgeführten Untersuchungen läßt sich nicht sicher beurteilen, welches Porphyrin in jenem Harn enthalten war. Der Farbstoff ist damals nicht isoliert worden. Die spektrometrischen Werte gestatten aber den Schluß, daß das vorwaltende Porphyrin jenes Harns nicht Kotporphyrin oder Mesoporphyrin gewesen sein kann, sie nähern sich am meisten denen von Fischers Harnporphyrin. Es sei noch bemerkt, daß der Harn der Sulfonalporphyrinurie besonders reichlich das so genannte «Urofuscine» enthielt. —

---

<sup>1)</sup> Inwieweit bei isomeren Porphyrinen das spektralanalytische Verhalten durch die Unterschiede in der Struktur beeinflusst wird, ist meines Wissens noch nicht untersucht worden.

<sup>2)</sup> Vgl. Spektrogramm I. und II. der Spektraltafel in der Zeitschrift für urologische Chirurgie, Bd. III, 1914, S. 112.

<sup>3)</sup> Mitteilungen aus den Hamburgischen Staatskrankenanstalten, Bd. XII, H. 9, 1911.

Vor einigen Jahren<sup>1)</sup> habe ich bei einem Falle von kongenitaler Hämatorporphyrie, der von E. Fraenkel als solcher erkannt wurde, im Knochengüst ein Porphyrin ohne irgend eine chemische Vorbehandlung der Knochenschliffstücke durch spektrographische Aufnahmen, weiterhin durch spektroskopisch chemische Untersuchung an salzsauren und alkalischen Auszügen der Knochen nachgewiesen. Ein Vergleich der damals an den salzsauren Knochenauszügen festgestellten spektrogrammetrischen Werte mit den oben mitgeteilten Werten für das reine Harnhämatorporphyrin (= Fischers Urinporphyrin) ergibt nun eine geradezu überraschende Übereinstimmung<sup>2)</sup>, das gleiche gilt für die salzsauren Auszüge der braunroten Knochen an Osteohämochromatose leidender Tiere:

		Ort der 3 Hauptstreifen (spektrogrammetrisch bestimmt)		
		I.	III.	VI.
Harnhämatorporphyrin (= H. Fischers Urinporphyrin) in 25%iger Salzsäure (spez. Gew. 1,124)		597,1	554,1	410,7
etwa 23% Salzsäure enthaltende Auszüge von:	menschlichen Knochen bei Haematoporphyrin congenita	597	554	410,7
	braunroten Schweineknochen	597	554	410,3

Demnach war bei jenem von C. Hegler, Eug. Fraenkel und mir beschriebenen Falle von Haematoporphyrin congenita<sup>3)</sup> das vorwaltende Porphyrin der Knochen

<sup>1)</sup> C. Hegler, Eug. Fraenkel und O. Schumm, Zur Lehre der Haematoporphyrin congenita, Deutsche med. Wochenschrift 1913, Nr. 18.

<sup>2)</sup> Bei unserm Falle Petry hat H. Günther (vgl. l. c. S. 140) die Anwesenheit eines nicht näher gekennzeichneten Porphyrins in einem Zahne, H. Fischer in amputierten Knochen der Hand nachgewiesen (H. Fischer, Diese Zeitschr., Bd. 97, S. 167, ferner Münch. med. Wochenschrift Nr. 11, 1916).

<sup>3)</sup> In der unten besprochenen Abhandlung von A. Ellinger und O. Riesser ist in einer Zusammenstellung spektrogrammetrischer Befunde in der Tabelle auf S. 6 irrtümlich angegeben «Auszug der Knochen

weder mit Kotporphyrin noch mit Nenckis Hämatoporphyrin oder Mesoporphyrin, noch mit Phylloporphyrin identisch. Bei der nachgewiesenen Übereinstimmung der zuverlässig vergleichbaren spektrogrammetrischen Werte mit denen des reinen Harnhämatoporphyrins (= Fischers Urinporphyrin) wäre es das Nächstliegende, anzunehmen, daß in den Auszügen der Knochen das Urinporphyrin vorhanden war.

Wie ich schon früher erwähnt habe, enthielten diese Knochen, ebenso wie diejenigen der von mir untersuchten Knochen bei tierischer Osteohämochromatose<sup>1)</sup> neben dem Porphyrin noch anderen Farbstoff. Zur endgültigen Aufklärung über die chemische Zusammensetzung des Porphyrins der Knochen ist selbstverständlich die Isolierung der Farbstoffe notwendig.

Die wichtige Frage nach der Art des bei toxischer Porphyrinurie auftretenden Porphyrinfarbstoffs ist kürzlich von A. Ellinger<sup>2)</sup> und O. Riesser einer neuen Bearbeitung mit zeitgemäßen Methoden unterworfen worden. Den genannten Forschern ist es gelungen, aus dem Harn eines Falles von Trionalvergiftung den Porphyrinfarbstoff in Form seines Methyl-esters abzuscheiden und diesen in seiner elementaren Zusammen-

---

vom Falle Günther». Statt dessen muß es heißen: Auszug der Knochen vom Falle Hegler-Fraenkel-Schumm. Ferner ist in derselben Tabelle die Ziffer «IV» durch «VI» zu ersetzen, und die Bezeichnung «Violettstreifen» muß über der Ziffer «VI» stehen.

<sup>1)</sup> O. Schumm, Über das «Hämatoporphyrin» aus Harn und Knochen, Diese Zeitschrift, Bd. 96, S. 195, 1915. Wegen der früheren Literatur über diesen Gegenstand vergleiche man:

H. Tappeiner, Untersuchung pigmentierter Knochen vom Schweine. Sitzungsberichte der Gesellschaft für Morphologie und Physiologie in München. I, 1885; M. Schmey, Über Ochronose bei Mensch und Tier, Frankfurter Zeitschrift für Pathologie, Bd. XII, Heft 2, 1913, S. 232, und besonders O. R. Teutschländer, Zur Kenntnis der Osteohämochromatose («Tierochronose»), Virchow's Archiv für pathologische Anatomie, Bd. 217, S. 393, 1914.

<sup>2)</sup> Alexander Ellinger und Otto Riesser, Zur Kenntnis des im Harn nach Trionalvergiftung auftretenden Porphyrins, Diese Zeitschr., Bd. 98, 1916, S. 1.

setzung als übereinstimmend mit H. Fischers Urinporphyrinmethylester zu erweisen. Die spektroskopische und spektrographische Untersuchung des aus dem Harn nach Nebelthaus Verfahren abgeschiedenen Porphyrins ergab für die genau bestimmbaren Hauptabsorptionsstreifen Werte, die nach Ausweis der folgenden Tabelle mit den von mir bei H. Fischers Urinporphyrin gefundenen innerhalb der Fehlerbreite der Methode übereinstimmen. Das Porphyrin gab ferner gleich Fischers Urinporphyrin die oben beschriebene Kali-Lichtreaktion.

## I. Lösungen in wässriger 25 % iger Salzsäure (spez. Gew. 1,124).

	Zeichen der Absorptionsstreifen	Roh-Porphyrin aus dem Harn von Ellinger und Riessers Fall von Trionalvergiftung	Roh-Porphyrin aus dem Harn des Falles von kongenitaler Hämaturporphyrie	Nach H. Fischers Verfahren aus dem Urinporphyrinmethylester dargestelltes Urinporphyrin des Falles von kongenitaler Hämaturporphyrie
Okulare Bestimmungen mit dem Gitterspektrometer	I.	596 $\frac{3}{4}$	596,6	596,7
	II.	etwa 577	577 $\frac{1}{4}$	577
	III.	553 $\frac{3}{4}$	553 $\frac{1}{4}$	553,4
	IV.	ungefähr 527	ungefähr 527	526,3
	V.	„ 513	ungef. 512 $\frac{1}{2}$	511,8
Spektrogrammetrische Bestimmungen nach Aufnahmen mit dem Gitterspektrographen	I.	597,5	597	597,1
	III.	553,9	553 $\frac{1}{2}$	554,1
	VI.	411,3	410,4	410,7

 II. Lösungen in  $\frac{1}{10}$ -Kalilauge.

	Zeichen der Absorptionsstreifen	Roh-Porphyrin aus dem Harn von Ellinger und Riessers Fall von Trionalvergiftung	Roh-Porphyrin aus dem Harn des Falles von kongenitaler Hämaturporphyrie	Nach H. Fischers Verfahren aus dem Urinporphyrinmethylester dargestelltes Urinporphyrin des Falles von kongenitaler Hämaturporphyrie
Okulare Bestimmungen mit dem Gitterspektrometer	I.	611	611 $\frac{3}{4}$	611,3
	II.	559	etwa 559	559,3
	III.	538 $\frac{1}{4}$	538 $\frac{1}{2}$	538,4
	IV.	503 $\frac{1}{2}$	etwa 500	501,8

Wie bei dem von mir früher beschriebenen Falle von Sulfonalporphyrinurie enthielt auch der Harn der Trionalporphyrinurie eine reichliche Menge von braunem, chemisch nicht identifizierten Farbstoff. — Bei der Veresterung des Rohporphyrins aus dem Trionalharn fanden Ellinger und Riesser keinen eiweißartigen Rückstand. — Da sie an dem durch Umfällen gereinigten Rohporphyrin des Trionalharns auch die photodynamische Wirkung an weißen Mäusen haben nachweisen können, so kommen Ellinger und Riesser zu dem Schluß, daß der von ihnen aus dem Harn der Trionalvergiftung abgeschiedene Farbstoff mit dem von H. Fischer bei einem Falle von kongenitaler Hämatoporphyrin nachgewiesenen Urinporphyrin identisch oder isomer sei.

#### Erklärung der Spektraltafel.

- Spektrum 1.<sup>1)</sup> Morgenharn, schwach alkalisch. Schichtdicke 5 mm.  
 A. Absorptionskurve des Harnes.
- Spektrum 2. Nachmittagsharn, sauer. Schichtdicke 2 $\frac{1}{2}$  mm.  
 › 3. Vormittagsharn, amphoter. Schichtdicke 10 mm.  
 › 4. Aus Mischharn durch Essigsäure gefällter Farbstoff, in  $\frac{n}{10}$ -Kalilauge gelöst.  
 › 5. Derselbe Farbstoff in 25%iger Salzsäure (spez. Gew. 1,124) gelöst.  
 › 6. Derselbe Farbstoff, durch einmaliges Umfällen aus  $\frac{n}{40}$ -Kalilauge gereinigt und in  $\frac{n}{10}$ -Kalilauge gelöst.  
 › 6a. Beim Stehen der alkalischen Lösung (von Spektrum 6) im Lichte aufgetretener neuer Streifen auf etwa 462 $\frac{1}{2}$ .  
 › 7. Rohporphyrin aus Faeces, durch einmaliges Umfällen aus dünner Kalilauge gereinigt und in  $\frac{n}{10}$ -Kalilauge gelöst.  
 › 8. Derselbe Farbstoff in 25%iger Salzsäure gelöst.  
 › 9. Dieselbe salzsaure Lösung in geringerer Schichtdicke.  
 › 10. Aus Harnporphyrinmethylester dargestelltes reines Harnporphyrin in  $\frac{n}{10}$ -Kalilauge.  
 › 11. Aus Kotporphyrinmethylester dargestelltes reines Kotporphyrin in  $\frac{n}{10}$ -Kalilauge.  
 › 12. Aus Harnporphyrinmethylester dargestelltes reines Harnporphyrin in 25%iger Salzsäure.  
 › 13. Aus Kotporphyrinmethylester dargestelltes reines Kotporphyrin in 25%iger Salzsäure.

<sup>1)</sup> Zwecks Zeichnung der Spektren habe ich alle Beobachtungen bei einer Spaltweite des Spektrometers von 0,025 mm ausgeführt.