

Untersuchungen über die Absorptionserscheinungen des Hämatoporphyrins und Mesoporphyrins im Gitterspektrum.

Von

O. Schumm.

Mit zwei Tafeln in Lichtdruck.

(Aus dem chemischen Laboratorium des Allgemeinen Krankenhauses Hamburg-Eppendorf.)
(Der Redaktion zugegangen am 10. Januar 1914.)

Die bislang vorliegenden Angaben über die Absorptionserscheinungen des Hämatoporphyrins und Mesoporphyrins sind nicht bestimmt genug, um ohne weiteres ihre Identifizierung zu ermöglichen, lassen es vielmehr zweifelhaft erscheinen, ob eine sichere Unterscheidung auf diesem Wege möglich ist, umsomehr als die Angaben verschiedener Autoren in wichtigen Punkten stark abweichen. Es erschien daher notwendig, das absorptive Verhalten der beiden Porphyrine mit möglichst zuverlässigen Methoden zu untersuchen und die entscheidenden Merkmale genau zu bestimmen. Derartige Untersuchungen habe ich an frischen, nach Nenckis und Zaleskis Verfahren hergestellten Präparaten von krystallisiertem Hämatoporphyrin- und Mesoporphyrinchlorhydrat ausgeführt und gefunden, daß sich die beiden Porphyrine beim Einhalten bestimmter Versuchsbedingungen sicher unterscheiden lassen. Das gelingt sowohl durch die okulare Spektrometrie als auch mittels der spektrogrammetrischen Methode, bei letzterer selbst an Lösungen, die fast bis zur Farblosigkeit verdünnt sind. Die für die optischen Konstanten der beiden Porphyrine neu ermittelten Werte sollen unten mitgeteilt werden.

Historisches.

Die älteren Untersuchungen über die Absorptionserscheinungen des Hämatoporphyrins sind zum großen Teile an Lösungen

von Blut in Schwefelsäure, mithin an unreinen Präparaten ausgeführt worden. Betreffs der zugehörigen Abhandlungen sei auf deren Besprechung in den Arbeiten von Arthur Schultz,¹⁾ Rost, Franz und Heise,²⁾ B. v. Reinhold³⁾ und R. v. Zeynek⁴⁾ verwiesen.

Nencki und Zaleski⁵⁾ geben in ihrer ersten Mitteilung folgendes an: «Spektroskopisch ist das Mesoporphyrin vom Hämatoporphyrin sowohl in neutraler, wie alkalischer, oder saurer Lösung nicht zu unterscheiden. Die Absorptionsbänder resp. ihre Wellenlänge sind bei beiden Farbstoffen identisch.» In einer zweiten Abhandlung⁶⁾ äußert sich J. Zaleski etwas abweichend: «Endlich zeigen sowohl saure als auch alkalische, alkoholische wie auch wässrige Lösungen beider Produkte bei spektroskopischer Untersuchung eine gleiche Verteilung der Absorptionsstreifen, und nur bei gleichzeitiger Betrachtung solcher Lösungen bemerkt man beim Mesoporphyrin eine unbedeutende Verschiebung sämtlicher Absorptionsstreifen nach dem violetten Ende des Spektrums (Beobachtung von L. Marchlewski, Anz. Acad. Wiss. Krakau 1902, April).»

A. Gamgee⁷⁾ hat bereits im Jahre 1896 Untersuchungen über das absorptive Verhalten des Hämatoporphyrins von

¹⁾ A. Schulz, Das spektrale Verhalten des Hämatoporphyrins, Engelmanns Archiv für Physiologie, 1904, Supplementband, S. 271.

²⁾ E. Rost, Fr. Franz und R. Heise, Beiträge zur Photographie der Blutspektren. Berlin, bei J. Springer, 1909. (Sonderabdruck aus «Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt», Bd. 32, H. 2).

³⁾ B. v. Reinhold, Tierische Farbstoffe. Abderhaldens Biochemisches Handlexikon, Bd. 6, S. 242, 1911.

⁴⁾ R. v. Zeynek, Harn- und Blutfarbstoffe und deren Chromogene sowie Melanine, in C. Neubergs Handbuch «Der Harn», I, S. 928. Berlin, bei J. Springer, 1911.

⁵⁾ M. Nencki und J. Zaleski, Über die Reduktionsprodukte des Hämins durch Jodwasserstoff und Phosphoniumjodid und über die Konstitution des Hämins und seiner Derivate. Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. 34, 1901, S. 997.

⁶⁾ J. Zaleski, Untersuchungen über das Mesoporphyrin, Diese Zeitschrift, Bd. 37, 1902, S. 61.

⁷⁾ A. Gamgee, On the absorption of the Extreme Violet and Ultra-Violet Rays of the Spektrum by Haemoglobin, its Compounds and Certain of its Derivatives. Z. f. Biologie, N. F. 16, 1896, S. 524.

Nencki und Sieber ausgeführt. Bei sauren Hämatoporphyrinlösungen fand er die Mitte des ersten Hauptstreifens zu etwa μ 595, die des zweiten Hauptstreifens zu etwa μ 550. Bei alkalischen Lösungen beobachtete er ein vierbandiges Spektrum.

Das absorptive Verhalten im Violett hat er mit einem Quarzprismenspektrographen untersucht und berichtet «My observations have shown (see Plate III, Fig. 3), that solutions of haematoporphyrin of extreme dilution exhibit an absorption band in the extreme violet between h and H, the latter line being absorbed. If the solution be slightly more concentrated K is absorbed and with increasing concentration of the solution the absorption of the ultra-violet extends more and more. Alkaline solutions of haematoporphyrin absorb the same region of the spektrum as acid solutions but their absorbing power appears to be greater.»

Garrod,¹⁾ Nebelthau,²⁾ A. Schulz³⁾ haben darauf hingewiesen, daß die Lage der Absorptionsstreifen des Hämatoporphyrins durch den Gehalt an Säure und Alkali in bestimmter Weise beeinflusst wird. Mit steigendem Säuregehalt soll eine Verschiebung nach Rot, bei steigendem Alkaligehalt Verschiebung nach Violett eintreten. Auch bei langem Aufbewahren der Lösungen kann, wie Schulz an mehreren Beispielen gezeigt hat, eine Verschiebung in der Lage der Streifen eintreten. A. Schulz benutzte zu seinen Untersuchungen ein Präparat, das er mit Unterstützung von H. Thierfelder und Spiess nach dem Verfahren von Nencki und Zaleski hergestellt hatte, und bediente sich eines Steinheilschen Prismenspektroskops. Seine Abhandlung enthält wichtige Angaben über das absorptive Verhalten alkoholischer Hämatoporphyrinlösungen bei Zusatz von Essigsäure, Borsäure, sauren Sulfaten, Phosphaten, Zinkchlorid u. a. Für eine neutrale, 0,015%ige Lösung des Hämatoporphyrinchlorhydrats in 96%igem Alkohol gibt A. Schulz den Ort der Streifen auf Grund okularer Ablesungen an der Millimeterskala des Apparates folgendermaßen an:

¹⁾ Zit. nach A. Schulz.

²⁾ Zit. nach A. Schulz.

³⁾ A. Schulz, l. c.

I. 625—617	
II. 605—599	
III. Gruppe dreier eng benachbarter Streifen	$\left\{ \begin{array}{l} 573-568 \\ 566-562 \\ 558-555 \end{array} \right.$
IV. 543—525	
V. 514—486	

Eine 1% Schwefelsäure enthaltende alkoholische Lösung ergab:

I. 600—588
II. 580—571
III. 564—539
IV. 530—525
V. 518—506

Bei alkoholischer Lösung von stark alkalischer Reaktion (20% NH_3 (25%)) fand Schulz:

I. 624—614	$\left\{ \begin{array}{l} \text{hellere Strecke } 584-571 \\ \text{dunklere } \quad \quad 571-563 \end{array} \right.$
II. 584—563	
III. 543—525	
IV. 516—485	

Die im sichtbaren Spektrum auftretenden Absorptionsstreifen alkoholischer und HCl-haltiger alkoholischer Lösungen von Hämatoporphyrinchlorhydrat sind von Willstätter und Pfannenstiel beschrieben worden. Dieserhalb sei auf die Originalabhandlung¹⁾ verwiesen, in der die Spektren zeichnerisch dargestellt sind.

L. Lewin, A. Miethe und E. Stenger haben den Ort der Absorptionsstreifen von Hämatoporphyrinchlorhydrat und Mesoporphyrinchlorhydrat spektrogrammatisch an sauren und alkalischen Lösungen bestimmt. Über das saure Hämatoporphyrin machen sie auf S. 109 und 110 ihrer Abhandlung unter anderem folgende Angaben:

«Das von Frau Sieber freundlichst zur Verfügung gestellte Präparat zeigte in salzsaurer wässriger Lösung in geeigneter Konzentration sechs Streifen, von denen die vier ersten ohne sonderliche Mühe, die beiden letzten, im Grün liegenden, schwieriger und nur bei besonderer Beleuchtung als Schatten erkennbar sind. Alle sechs Streifen auf einmal photo-

¹⁾ Annalen der Chemie, Bd. 358, 1908, S. 262—265.

graphisch aufzunehmen, war wegen der Differenzen in der Dichtigkeit der Absorption nicht möglich. Es mußten deswegen getrennte Aufnahmen auf Isokolplatten mit Zirkonlicht gemacht werden. Die Lage der Streifen war die folgende: λ 593, λ 571, λ 550, λ 540, λ 520, λ 510. Als besonders bemerkenswert ist ferner die Feststellung von zwei weiteren Absorptionsstreifen anzusehen, von denen der eine als der Violettstreifen, also auf der Grenze zwischen Violett und Ultraviolett liegend, ein zweiter aber im ultravioletten Teil des Spektrums sich auf der Platte einzeichnete.» «Die entsprechenden Streifen sind zu finden bei $\lambda = 403$, $\lambda = 380$.» - - Auf S. 110/111 finden sich folgende Angaben: «Alkalisierte, schön rote Lösungen des reinen salzsauren Hämatoporphyrins, die unmittelbar nach der Herstellung photographiert wurden, zeigen analog den entsprechenden sauren Lösungen gegenüber den aus Blut erhaltenen ein Mehr an Absorptionsstreifen, die sich, fünf an der Zahl, vom Rot bis zum Blau erstrecken und deren Gestaltung durch die folgende Zeichnung illustriert wird.»¹⁾ «Die photographische Aufnahme von 0,5—1%igen Lösungen geschah auch hier auf Isokolplatten mit Nernst-Licht in wechselnden Schichtdicken und Expositionszeiten. Die folgenden Werte ergaben sich aus 80 Ablesungen an der Teilmaschine: $\lambda = 614$, $\lambda = 563$, $\lambda = 535$, $\lambda = 501$, $\lambda = 461$.» Das alkalische Hämatoporphyrin gibt nach Lewin, Miethe und Stenger außerdem einen Violettstreifen auf 388.

Das «in salzsaurer Lösung untersuchte Nenckische originale Mesoporphyrinchlorhydrat» ließ im sichtbaren Teil des Spektrums anfänglich 3 Absorptionsstreifen erkennen. Nach etwa 15 Minuten zeigte sich im Rot, nur okular im Vergleichsspektroskop feststellbar ein weiterer feiner Absorptionsstreifen. Die Lage dieser 4 Streifen war μ 608, 589, 567, 546 und die des photographisch nachgewiesenen Violettstreifens μ 399. Bei der Untersuchung des Mesoporphyrins in alkalischer Lösung

¹⁾ L. Lewin, A. Miethe und E. Stenger, Über die durch Photographie nachweisbaren spektralen Eigenschaften der Blutfarbstoffe und anderer Farbstoffe des tierischen Körpers. Pflügers Archiv für Physiologie, Bd. 118, 1907, S. 80.

finden sie folgendes: «Das Mesoporphyrinchlorhydrat in alkalischer Lösung liefert das an Absorptionsstreifen reichste Spektrum.» «Bei Zirkonlicht auf der Isokolplatte in Konzentrationen von 0,25—0,5% und wechselnden Schichtdicken und Expositionszeiten photographiert, ergab sich die Lage der sieben Absorptionsstreifen bei: $\lambda = 633$, $\lambda = 615$, $\lambda = 583$, $\lambda = 560$, $\lambda = 535$, $\lambda = 501$, $\lambda = 463$. Hierzu kommt als achte Absorption der Violettstreifen, der, mit Zirkonlicht auf der Perorthoplatte aufgenommen, einer Wellenlänge entsprach von $\lambda = 402$.»

Über den prozentualen Gehalt der Lösungen an Säure bzw. Alkali geben Lewin, Miethé und Stenger nichts an. Nach den Feststellungen von Garrod, Nebelthan und A. Schulz ändert sich aber der Ort der Absorptionsstreifen je nach der Höhe des Säure- bzw. Alkaligehalts. Deshalb haben die von Lewin, Miethé und Stenger mitgeteilten Zahlen für die Identifizierung der fraglichen Stoffe nur eine beschränkte Bedeutung.

In der Abhandlung von Rost, Franz und Heise¹⁾ finden sich unter anderem mehrere Gitterspektrogramme, zu deren Herstellung Lösungen des von A. Schulz nach Nencki und Zaleski dargestellten Präparats Hämatoporphyrinchlorhydrat benutzt wurde. In der zugehörigen Beschreibung (auf S. 261) sind vorwiegend die Hauptstreifen berücksichtigt. Für die neutrale alkoholische Lösung geben Rost, Franz und Heise vier Hauptstreifen an, für die 1%ige schwefelsaure Lösung drei Streifen.

Ch. Dhéré und S. Sobolewski²⁾ gewannen durch langes Auswaschen von frisch gefälltem Hämatoporphyrin reine Hämatoporphyrinlösungen vom Aussehen kolloidaler Lösungen; der Rotstreifen lag auf $\mu\mu$ 626. —

R. Willstätter und Max Fischer³⁾ haben kürzlich die

¹⁾ l. c.

²⁾ Ch. Dhéré und S. Sobolewski, Sur quelques propriétés de l'Hématoporphyrine. Extrait des Comptes rendus des séances de la Société de Biologie. (Sitzung vom 1. April 1911.)

³⁾ R. Willstätter, Untersuchungen über den Blutfarbstoff, I. Mitteilung: Über den Abbau des Hämins zu den Porphyrinen. Von R. Willstätter und Max Fischer. Diese Zeitschrift, Bd. 87, 1913, S. 467 u. 468.

Absorptionserscheinungen ätherischer Lösungen des reinen freien krystallisierten Hämatoporphyrins im sichtbaren Spektrum mit dem Löweschen Gitterspektroskop mit Wellenlängenschraube (der Firma Zeiß) untersucht und abgebildet. Die einzelnen Absorptionsstreifen sind durch Angabe des Orts ihrer seitlichen Begrenzung bestimmt worden.

Anordnung der Versuche.

Ich habe 3 Präparate von krystallisiertem Hämatoporphyrinchlorhydrat und 4 Präparate von krystallisiertem Mesoporphyrinchlorhydrat in gleicher Weise auf ihr absorptives Verhalten geprüft. Mit Ausnahme zweier Präparate Mesoporphyrinchlorhydrat,¹⁾ die mir in liebenswürdiger Weise von Herrn Dr. Hans Fischer (München) zur Verfügung gestellt worden waren, habe ich die Präparate selbst nach den Angaben von Nencki und Zaleski dargestellt. Als Ausgangsmaterial benutzte ich selbsthergestelltes Hämin. — Die Präparate wurden im Vakuumexsikkator getrocknet und danach sogleich untersucht.

Zu den okularen Messungen und zur Herstellung der Spektrogramme benutzte ich dieselben beiden Gitterapparate, deren ich mich bei meinen Untersuchungen über das Oxyhämoglobin²⁾ bedient hatte. Betreffs der optischen Einrichtung dieser Instrumente verweise ich auf die in jener Abhandlung gegebene Beschreibung.³⁾ Als Lichtquelle benutzte ich in allen Fällen Nernst-Lampe und Kondensorlinse von 10 cm Brennweite. Die Herstellung und Ausmessung der Spektrogramme habe ich an anderer Stelle⁴⁾ ausführlich beschrieben. Als Meßlinien dienten die Heliumlinien auf $\mu\mu$ 667,8, 587,6, 501,6, 447,2,

¹⁾ Das eine der Präparate war nach dem Verfahren von Hans Fischer und Heinr. Röse durch Einwirkung von Kaliummethylat auf Hämin gewonnen worden.

²⁾ O. Schumm, Untersuchungen über die Absorptionserscheinungen des Oxyhämoglobins im Gitterspektrum, Diese Zeitschrift, Bd. 83, 1913, S. 1.

³⁾ Vgl. auch die Abbildungen und Beschreibungen im Kapitel «Spektrographische Methoden» S. 393 und 397 in Abderhaldens Handbuch der Biochem. Arbeitsmethoden, Bd. VI, S. 389—434.

⁴⁾ l. c., S. 419, 429.

388,9. Die Aufnahmen und Messungen sind ebenso wie bei den Untersuchungen über das Oxyhämoglobin ausnahmslos von mir selbst ausgeführt worden. Ich benutzte wieder ausschließlich die von W. Gummelt¹⁾ empfohlenen Platten, die sich mir am besten bewährt haben.

Die Spaltweite betrug bei den okularen Messungen durchweg 0,01—0,02 mm, bei allen spektrographischen Aufnahmen 0,04 mm. Das untersuchte Gebiet reicht bis ca. μ 350.

Darstellung der Versuchsergebnisse.

Hämatoporphyrin.

Hämatoporphyrinchlorhydrat in wässriger Salzsäure.²⁾

Die bei den drei Präparaten beobachteten minimalen Abweichungen lagen innerhalb der Fehlergrenzen der spektralanalytischen Methoden, ein Unterschied in ihrem absorptiven Verhalten war nicht festzustellen.

Es bestätigte sich regelmäßig, daß die ganze Gruppe der Absorptionsstreifen sich mit steigendem Gehalt an HCl bedeutend nach dem roten Ende des Spektrums verschiebt. Entscheidende Bedeutung haben deshalb nur diejenigen Werte, die bei der Untersuchung von Lösungen mit bekanntem Gehalte an Salzsäure gewonnen sind.

Bei zunehmender Konzentration erscheinen außer den oft beschriebenen drei Streifen noch zwei weitere, von denen der

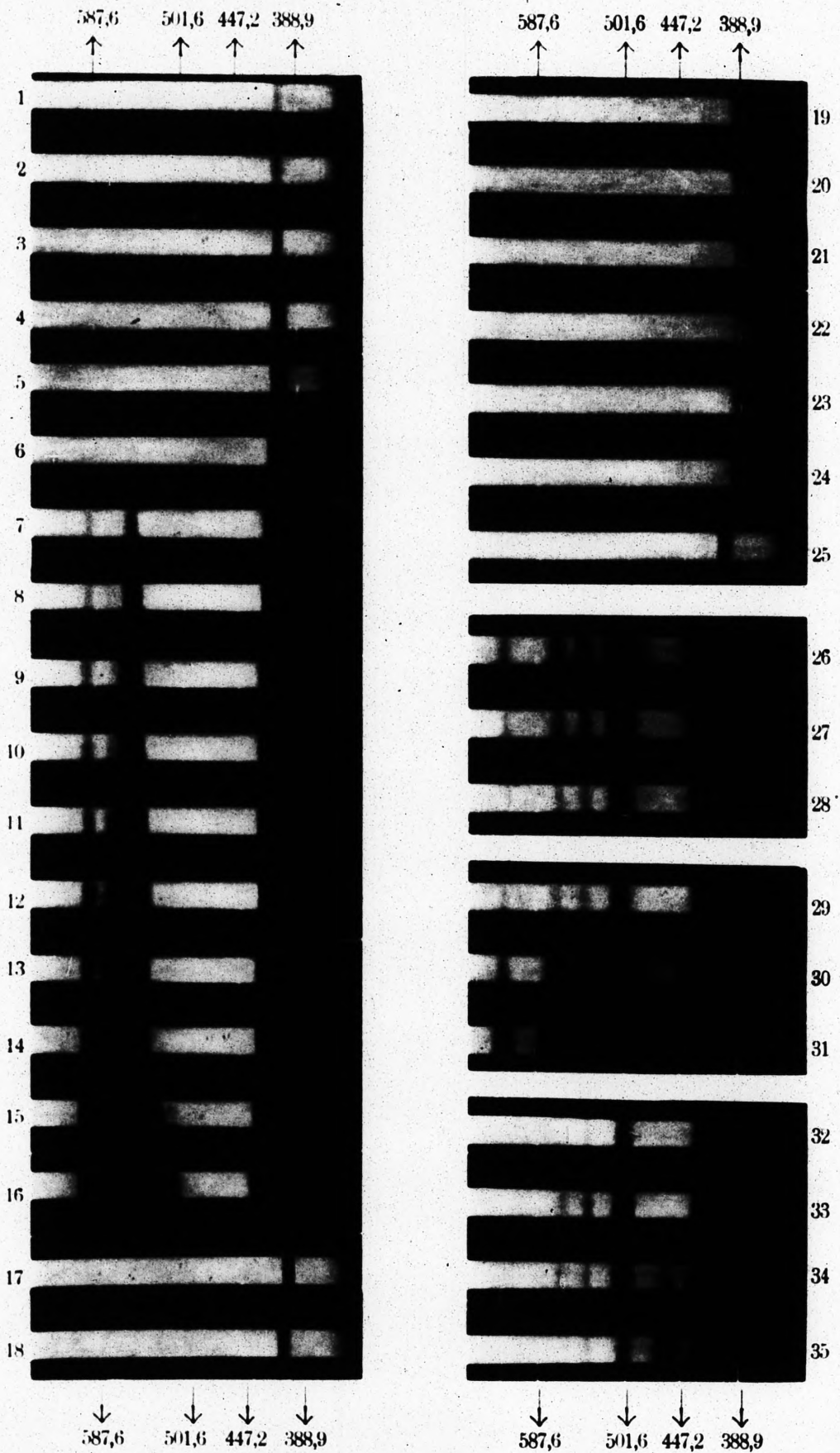
¹⁾ W. Gummelt, Zur Technik der Photographie von Absorptionsspektren. Fortschritte auf dem Gebiete der Röntgenstrahlen, Bd. 15, 3., S. 162, 1910. Vgl. auch O. Schumm, Spektrographische Methoden, l. c., S. 414/415. An dieser Stelle ist bei der Beschreibung der von Rost, Franz und Heise angegebenen Vorschrift zur Herstellung der Isokollösung statt «Isokol 1:1000» Isocol 1:100 angegeben. Ich stelle die Lösung nach folgender nahezu identischen Vorschrift her:

- 5 ccm Isokollösung (1 Teil Isokol in 1000 Teilen 90%igem Alkohol),
- 32 > 98%iger Alkohol,
- 1 > Salmiakgeist (spez. Gew. 0,96),
- 62 > destilliertes Wasser.

²⁾ Vgl. Spektraltafel I, Spektrogramme 1—16.

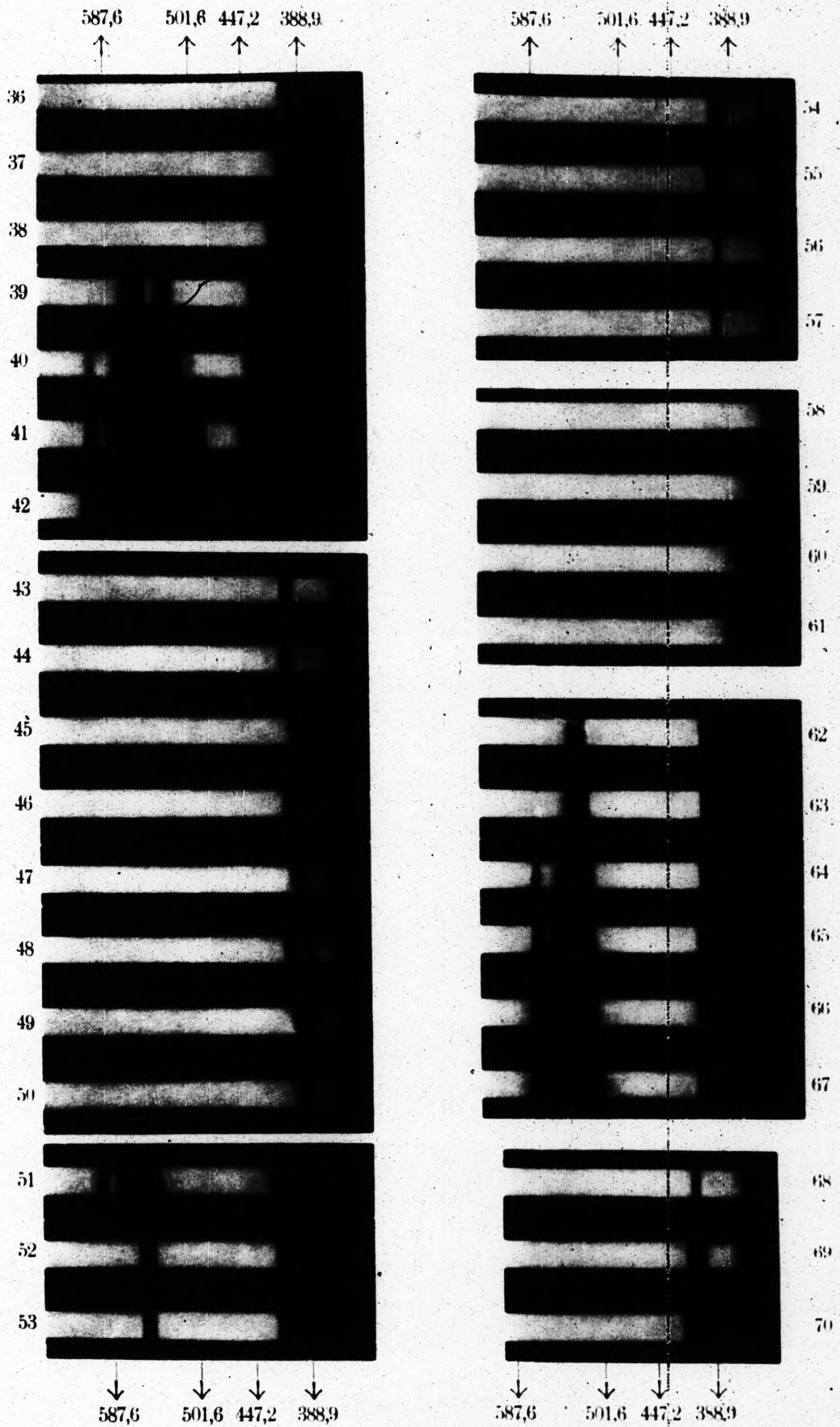


Tafel I.



O. Schumm, Absorptionserscheinungen des Hämatorporphyrins und Mesoporphyrins im Gitterspektrum.

Tafel II.



zweite eine feine Teilung aufweist, also als Doppelstreifen aufzufassen ist. Auch der relativ intensivste (der im sichtbaren Bezirk auftretenden) Streifen III läßt unter bestimmten Verhältnissen eine Andeutung von Zweiteilung erkennen, die auch auf dem Spektrogramm (— Negativ) wahrnehmbar sein kann. Derartige Feinheiten zeigen sich bei den Porphyrinspektren häufig und sind im Gitterspektrum bei richtig gewählter Konzentration und Spaltweite gut zu sehen, während sie photographisch zum Teil nur schwierig darzustellen sind und bei der Reproduktion nun andeutungsweise oder nicht zum Ausdruck kommen.

Am genauesten lassen sich der I. Streifen und der Violetstreifen (VI) bestimmen, nächstdem der III. Streifen und dann mit abnehmender Genauigkeit der II., IV. und V. Ich habe deshalb den Hauptwert auf die genaue Bestimmung der Streifen I, VI und III gelegt.

Okulare Bestimmung der Streifen mit dem Gitterspektrometer:

Sie ergab für die Lösung in wässriger Salzsäure¹⁾ vom spezifischen Gewicht 1,124 (= 25% HCl):

I. =	μμ	595,3 ²⁾	} 1. Maximum ca. 514 2. „ „ 507
II. =	„	574,5	
III. =	„	552	
IV. =	„	526 ³⁾	
V. = ca.	„	511 (Mitte)	

¹⁾ Zur Herstellung der Lösungen wurden Durchschnittsproben der exsikkatortrockenen Präparate mit 1 Tropfen gesättigter Sodalösung verrieben und dann mit viel Salzsäure versetzt. Bei der großen Färbekraft und der dadurch erforderlichen starken Verdünnung mit Salzsäure kommt die kleine Menge Sodalösung nicht in Betracht. Da der Sodazusatz beim Mesoporphyrinchlorhydrat wegen dessen Schwerlöslichkeit in Salzsäure notwendig war, wurde der Gleichmäßigkeit halber das Hämatorporphyrinchlorhydrat ebenso behandelt.

²⁾ Die durch ihre Intensität auffallenden Streifen sind durch fettgedruckte Ziffern hervorgehoben.

³⁾ Die Lösung in 1%iger Schwefelsäure gibt ebenfalls den IV. und V. Streifen.

Bei Lösungen von trockenem Hämatoporphyrinchlorhydrat in 98%igem Alkohol beobachtete ich ebenso wie Schulz ein vielstreifiges Spektrum.¹⁾ Da es selbst durch Spuren beigemengter Salzsäure wesentlich verändert wird, ist bei der Identifizierung eines fraglichen Stoffes in dieser Weise große Vorsicht geboten.

Eine Lösung von exsikkatortrockenem Hämatoporphyrinchlorhydrat in 98%igem Alkohol ergab z. B. folgendes Spektrum:

I. Schwacher, undeutlich zweiteiliger Streifen

(Mitte ca. 621,7) $\left\{ \begin{array}{l} \text{erstes Maximum } 623,3 \\ \text{zweites } \quad \quad \quad 619,7 \end{array} \right.$

II. Scharfer schmaler Streifen auf 602,6

III. Gruppe von vier verschieden starken, eng benachbarten Streifen auf $\left\{ \begin{array}{l} 1. 580 \\ 2. 571,2 \\ 3. 562,7 \\ 4. 554,3 \end{array} \right.$

IV. Gruppe von drei verschieden starken, eng benachbarten Streifen auf $\left\{ \begin{array}{l} 1. 533,6 \\ 2. 526 \\ 3. 518 \text{ (undeutlich)} \end{array} \right.$

V. Streifen mit Andeutung von Zweiteilung, Mitte ca. 497

Bei Zusatz eines Tropfens einer Mischung aus 1 ccm 25%iger HCl und 100 ccm 98%igem Alkohol zu 5 ccm obiger Lösung verschwanden die Streifen I und V, und die Streifen 3 und 4 der Gruppe III traten anscheinend etwas dichter zusammen.²⁾ Nach Zusatz von 5 Tropfen desselben HCl-haltigen Alkohols zeigte sich folgendes Spektrum:

Zweiteiliger Streifen mit Maximum auf . . . $\left\{ \begin{array}{l} 602,2 \\ 591,8 \end{array} \right.$

Drei eng benachbarte schwache Streifen auf $\left\{ \begin{array}{l} 579 \\ 572 \\ 562 \end{array} \right.$

Sehr starker Streifen auf 554,3

Zwei eng benachbarte Streifen auf $\left\{ \begin{array}{l} 532 \\ 525 \end{array} \right.$

¹⁾ Vgl. Spektraltafel II, Spektrogramme 36—42.

²⁾ Der Umstand, daß getrocknete Präparate von salzsaurem Hämatoporphyrin in alkoholischer Lösung den mit «I» bezeichneten Streifen im Rot teilweise nicht zeigen, erklärt sich daraus, daß ihnen noch eine Spur Salzsäure anhaftete. Schüttelt man eine solche Lösung mit etwas NaHCO_3 , so erscheint der Streifen auf 621,7.

Nach Zusatz von $\frac{1}{2}$ ccm desselben HCl-haltigen Alkohols ergab sich:

- I. Mäßig breiter schwacher, nicht deutlich geteilter Streifen auf . 595,3
- II. Unsymmetrischer Streifen auf ca. 572
- III. Starker breiter, ziemlich symmetrischer Streifen auf ca. . . . 552
- IV. Sehr zarter Streifen auf 524

Nach Zusatz von 1 Tropfen 25%iger HCl ergab sich:

- I. Mäßig breiter Streifen auf ca. 595
- II. Schwacher Streifen auf ca. 575
- III. Starker breiter, ziemlich symmetrischer Streifen auf ca. 552

Spektrographmetrische Bestimmungen.

Für die Lösungen in wässriger Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,124 (= 25% HCl) fand ich:

- I. 595,5
- II. 573,8
- III. 551,7
- IV. 526,3
- V. 514,3 (Andeutung eines zweiten Maximums auf ca. 507,8)
- VI. 407,5

Der Violettstreifen.

Lösungen von Hämatoporphyrinchlorhydrat in wässriger Salzsäure, die in 1 cm Schichtdicke kaum erkennbar gefärbt sind, geben bei 0,04 mm Spaltweite und geeigneter Schichtdicke einen äußerst scharfen Violettstreifen. Bei wässriger Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,124 (= 25% HCl) liegt er auf ca. 407/408, im Mittel auf 407,5. So sind in wässriger Salzsäure noch geringste Spuren Hämatoporphyrin nachweisbar. Wie bei den im sichtbaren Teil des Spektrums gelegenen Streifen ändert sich auch der Ort des Violettstreifens mit dem Säuregehalt.¹⁾ Ich fand ihn bei der Lösung des einen Präparates in wässriger Salzsäure

von 0,1% HCl auf	$\mu\mu$	401
> 12 $\frac{1}{2}$ %	> >	ca. > 405,5
> 25%	> >	> 407,5

Eine eigentümliche Erscheinung ist das Auftreten eines zweiteiligen oder zweier Violettstreifen. Lewin, Miethe und Stenger geben den Ort der Streifen zu 403 und 380 an.

¹⁾ Vgl. Spektraltafel I, Spektrogramme 17 u. 18.

Genauere Angaben über die Umstände, unter denen dieser doppelte Violettstreifen auftritt, finden sich bei den genannten Autoren nicht.

Ich habe nun gefunden, daß der doppelte bzw. zwei Violettstreifen dann auftreten, wenn man das exsikkatortrockne Hämatoporphyrinchlorhydrat in 98%igem Alkohol auflöst, dem eine Spur Salzsäure zugesetzt ist, sodaß die gegen Lackmus sauer reagierende Flüssigkeit Kongopapier nicht oder nur eben erkennbar bläut (vgl. Spektraltafel II, Spektrogramme 46, 48, 49). Je nachdem die Lösung um ein geringes schwächer oder stärker angesäuert wurde, war entweder der erste oder der zweite Streifen stärker. Eine Lösung, die gegen Lackmus deutlich, gegen Kongo eben erkennbar sauer reagierte, lieferte die beiden Violettstreifen auf μ 406,5 und 390.

Hämatoporphyrinchlorhydrat in Alkalilösungen.

Frische Lösungen von frischem unzersetzten Hämatoporphyrinchlorhydrat in 0,5—5%igen Sodalösungen und Kaliumhydroxydlösungen zeigten ausnahmslos ein vierstreifiges Spektrum.¹⁾ Eine Änderung des Alkaligehalts innerhalb der angegebenen Grenzen bewirkte keine nennenswerte Änderung des Orts der Streifen. Das Spektrum derartiger Lösungen ist für das Hämatoporphyrin in hohem Grade charakteristisch. Die Lösungen in Soda sind weniger zersetzlich als diejenigen, welche Kaliumhydroxyd enthalten.

Kaliumhydroxydhaltige Lösungen des Hämatoporphyrins, die im frischen Zustande nur die bekannten 4 Absorptionsstreifen zeigen, erleiden selbst nach relativ kurzer Belichtung mit Nernstlicht eine Veränderung, die sich durch das allmähliche Auftreten eines fünften Absorptionsstreifens im Blau (auf ca. μ 461) kundgibt.²⁾ Dieser Streifen kann schon deutlich sichtbar sein, wenn die Farbe der Lösung noch keine merkliche oder nennenswerte Änderung zeigt. Derartige belichtete Lösungen

¹⁾ Vgl. Spektraltafel I, Spektrogramme 26 bis 31.

²⁾ Vgl. Spektraltafel I, Spektrogramme 34 und 35.

werden langsam gelb (s. u.) und geben dann an der bezeichneten Stelle im Blau einen sehr starken Streifen. Bei oft wiederholter Untersuchung in abgestuften Verdünnungen ergaben frische alkalische Hämatorporphyrinlösungen in dem fraglichen Teile des Blau nur eine diffuse Absorption, höchstens einmal eine zweifelhafte Andeutung eines Streifens. Im Gegensatz zu Lewin, Miethe und Stenger, die einen starken Blaustreifen als dem (normalen) alkalischen Hämatorporphyrin-Spektrum zugehörig abbilden,¹⁾ zeigen meine Beobachtungen, daß er einem Umwandlungsprodukt des Hämatorporphyrins angehört. Das Fehlen dieses Streifens scheint mir eine gewisse Gewähr dafür zu bieten, daß das betreffende Präparat noch unzersetzt ist.²⁾

Okulare Messungen mit dem Gitterspektrometer:

Die frischen Soda bzw. Kaliumhydroxyd enthaltenden Lösungen gaben folgendes Absorptionsbild:

Nahezu symmetrischer Streifen, dunkelste Stelle	μ 619,5
Auffällig unsymmetrischer Streifen, dunkelste Stelle blauwärts von der Mitte liegend und nur annähernd genau bestimmbar zu	567
Symmetrischer Streifen, dunkelste Stelle	542
Nahezu symmetrischer Streifen, dunkelste Stelle ein wenig links von der Mitte etwa auf	507

Der erste und dritte Streifen haben fast die gleiche Form und Dunkelheit, der erste erscheint ein wenig dunkler als der dritte;³⁾ der zweite ist fast doppelt so breit als der dritte, doch ist nur seine blauwärts liegende Hälfte etwa so dunkel wie der dritte Streifen. Der vierte Streifen ist weitaus am breitesten und dunkelsten.

¹⁾ l. c., S. 111.

²⁾ Daß alkalische Hämatorporphyrinlösungen unter dem Einflusse intensiver Belichtung eine Farbenänderung erleiden, ist schon von W. Hausmann beobachtet worden, vgl. W. Hausmann, Die sensibilisierende Wirkung des Hämatorporphyrins, Biochem. Zeitschrift, Bd. 30, 1911, S. 282.

³⁾ Die photographische Aufnahme gibt den ersten Streifen schwächer als den dritten.

Spektrogrammetrische Bestimmungen.

0,5% krystallisiertes Natriumcarbonat enthaltende Lösungen.¹⁾

I. Streifen	$\mu\mu$	618,5
II. „	„	566,5
III. „	„	540,5
IV. „	„	505,5

0,1% KOH enthaltende Lösungen.¹⁾

I. Streifen	$\mu\mu$	618,5
II. „	„	566,8
III. „	„	540,5
IV. „	„	504,5

Der Blaustreifen.

Etwa 10 Minuten mit Nernst-Licht belichtete 0,1% KOH enthaltende Lösung gab bei der 5 Stunden später vorgenommenen spektrographischen Aufnahme einen starken Blaustreifen auf $\mu\mu$ 461. Ebenso verhielt sich eine 0,5% KOH enthaltende Lösung.²⁾ Eine Lösung in Ammoniakflüssigkeit von 2% NH_3 , sowie in dünner Sodalösung gaben unter denselben Bedingungen nicht den Blaustreifen.³⁾

Die Absorption im Violett.

Nach Lewin, Miethe und Stenger soll das Hämatoporphyrinchlorhydrat in alkalischer Lösung einen Streifen im Violett auf $\mu\mu$ 388 liefern.⁴⁾ Ich kann diese Angaben nicht bestätigen. KOH-haltige Lösungen des reinen Hämatoporphyrinchlorhydrats liefern im Violett, im Gegensatz zu den HCl-haltigen Lösungen, keinen deutlich abgegrenzten Absorptionsstreifen, sondern nur eine einseitige Absorption.⁵⁾ Durch spektrographische Auf-

¹⁾ Die erforderlichen Spektrogramme wurden von frischen Lösungen sofort nach ihrer Herstellung aufgenommen. Da alles Erforderliche vorbereitet war, kommt als Alter der Lösungen im wesentlichen nur die Dauer der Expositionszeit in Betracht.

²⁾ Vgl. Spektraltafel I, Spektrogramme 34 und 35.

³⁾ Vgl. Spektraltafel I, Spektrogramme 32 und 33.

⁴⁾ l. c., S. 111.

⁵⁾ Vgl. Spektraltafel I, Spektrogramme 19 bis 21.

nahmen von Lösungen abgestufter Konzentration kann man sich hiervon überzeugen. Ebenso verhielten sich Auflösungen in Sodalösung.¹⁾ Das gleiche Ergebnis erzielte ich ferner bei der spektrographischen Untersuchung des Farbstoffs aus hämatoporphyrinreichem Harn.

Anm.: Lösungen von Hämatoporphyrinchlorhydrat in ammoniakhaltigem Alkohol (98%iger Alkohol 99 ccm, wässrige Ammoniakflüssigkeit [spez. Gew. 0,96] 1 ccm) gaben im sichtbaren Spektrum 6 Streifen bzw. Gruppen von Streifen.

Die okulare Messung ergab folgendes:²⁾

Streifen mit Andeutung von Zweiteilung, Mitte	$\mu\mu$ 621
Sehr zarter Streifen	595,5
Streifen $\mu\mu$ 566 mit rotwärts anliegendem schwachen, undeutlichen Streifen auf etwa	576,2
Undeutlich dreiteiliger Streifen mit deutl. Maximum auf	530,5
Breiter Streifen mit zwei schmalen Maxima auf etwa	503,7 und 497
Schwacher, wenig auffallender Streifen auf	470

Mesoporphyrin.

Mesoporphyrinchlorhydrat in wässriger Salzsäure.

Die vier Präparate erwiesen sich bis auf geringfügige, ganz oder nahezu innerhalb der Fehlergrenzen der Methoden liegende Abweichungen als übereinstimmend. Das Absorptionsbild ist dem des Hämatoporphyrins täuschend ähnlich, doch liegen die Absorptionsmaxima der Streifen des Mesoporphyrins durchschnittlich etwa 2,5 $\mu\mu$ weiter nach Violett. Mit steigendem Gehalt an HCl tritt, wie beim Hämatoporphyrin, eine Verschiebung nach Rot ein. Eine Identifizierung auf diesem Wege ist demnach nur bei Berücksichtigung der Konzentration an HCl möglich.

Die Lösungen zeigen im sichtbaren Spektrum drei stärkere³⁾ und zwei schwächere Streifen,⁴⁾ von denen der nach Blau gelegene 2 Maxima hat (sog. Doppelstreifen). Der relativ inten-

¹⁾ Vgl. Spektraltafel I, Spektrogramme 22 bis 24.

²⁾ Vgl. unten: «Mesoporphyrin in ammoniakhaltigem Alkohol».

³⁾ Vgl. Spektraltafel, II, Spektrogramme 51—53.

⁴⁾ Die beiden schwächeren Streifen sind nur bei konzentrierteren Lösungen bzw. größerer Schichtdicke sichtbar und nicht mit photographiert worden.

sivste Streifen «III» weist unter bestimmten Verhältnissen (geeignete Schichtdicke der Lösung und enger Spalt) ein schmales Absorptionsminimum auf, das wie ein Halbierungsschnitt erscheint. Der Ort des Minimums läßt sich genau, derjenige der beiden Maxima ziemlich genau bestimmen. Das Mesoporphyrin zeigt analog dem Hämatoporphyrin einen intensiven Violettstreifen.¹⁾ Wie beim Hämatoporphyrin habe ich auch hier namentlich eine genaue Bestimmung der Streifen «I», «VI» und «III» angestrebt. Die Streifen «II», «IV», «V» lassen sich nicht mit der gleichen Schärfe bestimmen.

Okulare Bestimmung der Streifen mit dem Gitterspektrometer:

Sie ergab für die Lösung in wässriger Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,124 (= 25% HCl).

I.	μμ	592,7	
II.	»	572,5	
III.	»	549,7 (Mitte)	} 1. Maximum 554 2. » 546
IV.	»	524	
V.	»	509 (Mitte)	} 1. Maximum etwa 512,5 2. » » 505,5

Spektrographmetrische Bestimmung.

Für die Lösungen in wässriger Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,124 (= 25% HCl) fand ich:

I.	μμ	592,8
II.	»	571,5
III.		549,7
VI.	»	404,7. ²⁾

Der Violettstreifen.

Lösungen von Mesoporphyrinchlorhydrat in wässriger Salzsäure, die in 1 ccm Schichtdicke kaum mehr gefärbt sind, verhalten sich analog denen des Hämatoporphyrins, d. h. sie geben bei ca. 0,04 mm Spaltweite und geeigneter Schichtdicke einen sehr scharfen Violettstreifen,³⁾ dessen Ort sich mit dem

¹⁾ Vgl. Spektraltafel, II, Spektrogramme 54 und 56.

²⁾ Die Streifen «IV» und «V» wurden nicht mitbestimmt.

³⁾ Vgl. Spektraltafel, II, Spektrogramme 54 und 56.

Säuregehalt ändert. Bei Lösungen in wässriger Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,124 (= 25% HCl) liegt er auf etwa 404—405, im Mittel auf 404,7.¹⁾ Bei einem durch Oxydation von H. Fischers (Mesó-) Porphyrinogen gewonnenen Mesoporphyrin lag der Violetstreifen auf μ 404,5, stimmte also überein mit dem Mesoporphyrin nach Nencki und Zaleski.

Ob Lösungen von Mesoporphyrin in Alkohol, die mit einer Spur Salzsäure versetzt sind, gleich denen des Hämatoporphyrins²⁾ einen doppelten Violetstreifen geben, habe ich nicht geprüft; es ist aber wahrscheinlich.

Anm. Lösungen von trockenem Mesoporphyrinchlorhydrat in 98%igem Alkohol gaben ebenso wie die des Hämatoporphyrinchlorhydrats ein vielstreifiges Spektrum, dessen Einzelstreifen und Streifengruppen fast die gleiche Lage haben wie beim Hämatoporphyrin und ebenfalls schon durch eine Spur freier Salzsäure Veränderungen erleiden. Daraus folgt, daß die Unterscheidung beider Porphyrine durch die Spektren der alkoholischen Lösungen ihrer Chlorhydrate mit Schwierigkeiten verknüpft ist. Unter diesen Umständen habe ich von einer genaueren Beschreibung der Spektren solcher Lösungen abgesehen.

Mesoporphyrinchlorhydrat in Alkalilösungen.

KOH-haltige Lösungen von Mesoporphyrinchlorhydrat geben einen einfachen oder zwei eng benachbarte Streifen im Rot auf ca. 629¹/₂ bzw. 629¹/₂ und 617, einen zarten schmalen Streifen auf ca. 604 sowie drei weitere Streifen oder entsprechende Streifengruppen im Anfang und der Mitte des Grün und auf der Grenze von Grün zu Blau, deren Anordnung und Form je nach dem Gehalt der Lösung an KOH und ihrer Behandlung wechseln. Sind im Rot zwei Streifen vorhanden, so können beide gleich oder verschieden stark und zwar sowohl der erste als auch der zweite der dunklere sein. Einige Male erschien bei Lösungen in ⁿ/₃₀-KOH, die gleich im Absorptionsgefäß hergestellt und sofort beobachtet wurden, im

¹⁾ Der Unterschied in der Lage gegenüber dem Violetstreifen des Hämatoporphyrins ist auf der Spektraltafel II beim Vergleich der Spektrogramme 56 und 57 deutlich bemerkbar.

²⁾ Siehe oben unter Hämatoporphyrin.

Rot nur ein unsymmetrischer Streifen, dessen Maximum rechts von der Mitte auf etwa 617 lag; kurz darauf erschien, indessen auch der andere Rotstreifen auf ca. 629. Meistens ist der erste Streifen (auf $629\frac{1}{2}$) stärker als der zweite. Die Erscheinung zweier Rotstreifen trat besonders bei Lösungen mit schwächerem KOH-Gehalt (z. B. 0,25 oder 0,5%) ein, wenn man sie mit Luft schüttelte. Lösungen mit starkem KOH-Gehalt zeigten im Rot nur einen einfachen Streifen auf $629\frac{1}{2}$, allenfalls eine nach rechts sich anschließende geringe Verdunkelung; auch nach dem Schütteln mit Luft gaben sie keinen deutlichen zweiten Streifen im Rot. Den zarten Streifen auf 601 habe ich bei der Prüfung vieler Lösungen mit schwachem und starkem KOH-Gehalt bei genügender Schichtdicke bzw. Konzentration an Farbstoff fast ausnahmslos gesehen; in einigen Fällen war er freilich nur eben wahrnehmbar. Mesoporphyrinlösungen von stärkerem KOH-Gehalt mit nur einem Rotstreifen auf 629 liefern ein der KOH-haltigen Hämatoporphyrinlösung ähnliches Spektrum. Die Hämatoporphyrinlösungen zeigen aber nicht den feinen Streifen auf 601; ferner liegen die Streifen der alkalischen Hämatoporphyrinlösung weiter nach Violett als die entsprechenden Streifen der Mesoporphyrinlösung. Am auffallendsten ist der Unterschied bei dem Rotstreifen. (Mesoporphyrin 629, Hämatoporphyrin 619). Eine schwach KOH-haltige Mesoporphyrinlösung, die ja unter Umständen von den zwei Rotstreifen denjenigen auf 617 deutlicher hervortreten läßt, könnte bei oberflächlicher Beobachtung wohl einmal mit einer alkalischen Hämatoporphyrinlösung verwechselt werden.

Sodahaltige Lösungen des Mesoporphyrins geben im wesentlichen dasselbe Absorptionsbild wie die schwach KOH-haltigen Lösungen. Der Streifen auf 601,5 war nur äußerst zart, in mehreren Fällen kaum wahrnehmbar. Eine 1% krystallisierte Soda enthaltende Lösung gab folgende Absorptionserscheinung: Zwei eng benachbarte Streifen auf 629,5 und 616 (bedeutend schwächer). Äußerst zarter Streifen auf 601,5. Unsymmetrischer Streifen, Maximum rechts von der Mitte ca. 575. Unsymmetrischer Streifen, Maximum links von

der Mitte ca. 547. Breiter, nicht ganz symmetrischer Streifen, Maximum rechts von der Mitte ca. 509.

Die bei Mesoporphyrinlösungen mit verschieden starkem Gehalt an KOH¹⁾ von mir beobachteten Unterschiede im absorptiven Verhalten sind nicht unerheblich und mögen durch folgende Beispiele erläutert werden:

Okulare Bestimmungen mit dem Gitterspektrometer.

Lösungen in $n/40$ - oder $n/20$ -KOH:

Zwei eng benachbarte schmale Streifen	{ 629
	{ 617 (schwächer)
Sehr zarter Streifen	601,6
Streifen mit zwei Absorptionsmaxima	{ 585
	{ 575
Breiter Streifen mit ziemlich scharf abgegrenztem Maximum auf	527
Sehr schwacher Streifen	505

Lösung in $n/20$ -KOH, nicht filtriert, nicht geschüttelt, klar, gab im Rot nur einen unsymmetrischen Streifen, dessen Maximum etwa auf 617,5 lag. Dieselbe Lösung zeigte nach dem Schütteln mit Luft:²⁾

¹⁾ Alle Angaben beziehen sich auf Lösungen von Mesoporphyrinchlorhydrat. Auch bei den Lösungen mit geringstem KOH-Gehalt war KOH im Überschuß vorhanden.

²⁾ Die nach Nenckis und Zaleskis Verfahren hergestellten Präparate verhielten sich bei der Prüfung unter möglichst gleichen Versuchsbedingungen im ganzen gleich; jedenfalls ergaben sich erheblichere Abweichungen nur bei den an sich weniger ausgeprägten bzw. unsymmetrischen Streifen oder Streifengruppen im Grün. Z. B. zeigten filtrierte und mit Luft geschüttelte Lösungen eines anderen Präparates in $n/30$ -KOH:

Zwei eng benachbarten Streifen	{ 628 1/2
	{ 617 (schwächer)
Sehr zarten Streifen	602
Streifen mit zwei Absorptionsmaxima	{ 583
	{ 573
Annähernd symmetrischer Streifen, Maximum ungefähr	548
Breiten Streifen mit zwei Maxima	{ 525
	{ 508

Zwei eng benachbarte schmale fast gleichstarke Streifen	{	629	
		616	
Äußerst zarten Streifen		601,5	
Breiten Streifen mit	{	einem deutlichen Maximum	573,5
		zwei undeutlichen Maxima	{ ca. 583
			564
Annähernd symmetrischen Streifen, Maximum ungefähr		544	
Schwachen, nach Blau nicht deutlich abgegrenzten Streifen		525	
Sehr starken Streifen		508	

Lösung in $n_{/10}$ -KOH:

Zwei eng benachbarte Streifen	{	629	
		617 (viel schwächer)	
Sehr zarter Streifen		601	
Streifen mit 2 Absorptionsmaxima	{	584	
		574,5 (etwas stärker)	
Drei eng benachbarte Streifen	{	548 schwach	
		526,5 ziemlich stark	
		506,5 schwach	

Lösung in $n_{/4}$ -KOH:

Starker Streifen	629,6	{	mit rechts unmittelbar sich
			anschließendem schwachen
			Schatten
Sehr zarter Streifen	600,5		
Streifen mit 2 Absorptionsmaxima	{	582,5	
		574,5 (etwas stärker)	
Symmetrischer Streifen	549		
Streifen mit 2 Absorptionsmaxima	{	521	
		510 (etwas stärker)	

Lösung in $n_{/2}$ -KOH:

Starker Streifen (Maximum etwas rotwärts von der Mitte)	630		
Äußerst zarter Streifen	601,5		
Streifen mit 2 Absorptionsmaxima ¹⁾ {	580,5	}	hellerer Zwischenraum 577,5
Symmetrischer Streifen	548,2		
Streifen mit 2 Absorptionsmaxima ¹⁾ {	520,5	}	hellerer Zwischenraum 514

¹⁾ Die beiden Absorptionsmaxima sind bei den Lösungen in $n_{/2}$ -KOH nicht immer deutlich erkennbar, sondern erscheinen unter Umständen als einheitlicher Streifen.

b) Zwei eng benachbarte gleich starke Streifen	{	628 ^{1/2}
		617
Äußerst zarter Streifen		601
Breite Absorption mit deutlichem Streifen auf		573 ^{1/2}
Symmetrischer Streifen		544
Sehr breiter u. dunkler, annähernd symmetr. Str.		508

Lewin, Miethe und Stenger¹⁾ geben für die alkalische Lösung des Mesoporphyrins noch einen Streifen im Blau auf 463 an, der nach ihrer Darstellung scharf begrenzt und stärker ist als alle übrigen Streifen. Ich habe trotz sorgfältiger Prüfung vieler alkalischer Mesoporphyrinlösungen (bei genügend intensiver Beleuchtung) in abgestuften Verdünnungen einen derartigen auffallenden und scharf abgegrenzten Streifen im Blau niemals nachweisen können. Die Lösungen gaben im Blau nur eine mäßig starke diffuse Absorption, die in der Gegend um 458 ein wenig verstärkt, nach rechts aber nicht deutlich abgegrenzt erschien und so wenig auffiel, daß man sie nicht als Absorptionsstreifen bezeichnen kann. Den von den oben genannten Autoren der alkalischen Mesoporphyrinlösung zugeschriebenen starken Streifen im Blau habe ich nur bei offenbar zersetzten Lösungen gesehen. Es zeigte sich, daß Lösungen von Mesoporphyrin in $n/10$ -KOH durch intensive Belichtung eine Veränderung erfahren, die sich unter anderem auch durch das Auftreten eines weiteren Absorptionsstreifens im Blau bemerkbar machen kann. Dies Verhalten erinnert an das des Hämatoporphyrins. Durch vergleichende Versuche konnte ich jedoch feststellen, daß der Umwandlungsprozeß anders verläuft als bei Hämatoporphyrin. Lösungen von Mesoporphyrin müssen bedeutend länger belichtet werden bzw. nach der Belichtung viel länger stehen, ehe der neue Streifen auftritt. Beim Hämatoporphyrin tritt die eigenartige Umwandlung so glatt ein, daß man sie zur Charakterisierung dieses Porphyrins mitverwerten kann. Die vergleichenden Versuche über diese Umwandlung habe ich an dünnen Lösungen von je zwei Präparaten Hämatoporphyrin und Mesoporphyrin angestellt. — Der

¹⁾ l. c.

Harn eines Falles von kongenitaler Hämatorporphyrie, der mir von Herrn Professor Dr. P. Krause, Bonn, in liebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellt wurde, verhielt sich in dieser Hinsicht wie das «Hämatorporphyrin Nencki».

Lösungen von Mesoporphyrinchlorhydrat in ammoniakalischem Alkohol (98%iger Alkohol, 99 ccm, Ammoniakflüssigkeit vom spez. Gew. 0,96 l ccm) gaben ebenso wie diejenigen des Hämatorporphyrinchlorhydrats im sichtbaren Spektrum 6 Streifen bzw. Gruppen von Streifen: ¹⁾

Streifen mit Andeutung von Zweiteilung, Mitte	619,6
Sehr zarter Streifen	594
Streifen auf 565 mit eng anlieg. schwachen, undeutl. Str. auf ungefähr 575	
Undeutlich dreiteiliger Streifen mit deutlichem Maximum auf	529,5
Breiter Streifen mit 2 undeutlichen Maxima auf etwa	502,5 496
Schwacher, wenig auffallender Streifen auf etwa	

Das Absorptionsbild ist dem des Hämatorporphyrins analog, ein Unterschied besteht nur insofern, als beim Hämatorporphyrin die Streifen um durchschnittlich ungefähr 1 bis 1,5 μ weiter nach Rot liegen. Zur Unterscheidung der beiden Porphyrine erscheint die Auflösung in obigem Lösungsmittel sehr wenig geeignet. —

Spektrographische Bestimmungen.

Die spektrographische Untersuchung richtete sich auf die genaue Ortsbestimmung der Streifen im Rot und die Feststellung der Absorptionsverhältnisse im Violett.

Zur Bestimmung der Streifen im Rot dienten Spektrogramme von filtrierten Mesoporphyrinchlorhydrat-Lösungen in n_{10} - und $n_{1/4}$ -KOH, die sofort nach der Herstellung aufgenommen waren. Die Lage der beiden Streifen zeigte bei den verschiedenen Lösungen geringfügige Abweichungen, so schwankte der Ort des I. Streifens von 627,5 bis 628,7, der des zweiten von 617 bis 617,6. Diese Werte stimmen mit den durch okulare Messungen im Gitterspektrometer gefundenen Zahlen nahezu überein.

Die Absorption im Violett.

Nach Lewin, Miethe und Stenger²⁾ liefert das Mesoporphyrinchlorhydrat in alkalischer Lösung einen Violetstreifen

¹⁾ Die verschiedenen Präparate verhielten sich gleich.

²⁾ l. c., S. 112.

auf $\mu\mu$ 402. Ich kann diese Beobachtung nicht bestätigen. Trotzdem ich die Spektrogramme bei recht engem Spalt (0,04 mm) aufgenommen habe, also unter Umständen, die für den Nachweis schwacher Streifen am günstigsten sind, lieferten die Lösungen von Mesoporphyrinchlorhydrat in $n/10$ -KOH im Violett keinen abgegrenzten Streifen,¹⁾ sondern nur eine einseitige Absorption, verhielten sich also in dieser Beziehung analog den KOH-haltigen Lösungen des Hämatoporphyrinchlorhydrats. (Vgl. Spektraltafel II, Spektrogramme 58—61.)

Anhang: Phylloporphyrin.

Das absorptive Verhalten des von E. Schunck bei der Natronschmelze des Phyllocyanins gefundenen Phylloporphyrins in verschiedenen Lösungsmitteln ist von Schunck und Marchlewski untersucht und beschrieben worden.²⁾ Bei HCl-haltigen Lösungen beobachteten sie folgendes: «Die alkoholische mit HCl angesäuerte Lösung des Phylloporphyrins zeigte das nämliche Spektrum wie die Lösung der Substanz in konzentrierter Salzsäure und besteht nur aus drei Bändern (vgl. Spektrum III). Das erste derselben liegt hart an der Linie D, das dritte nahe an E und zwischen ihnen ist noch ein sehr mattes sichtbar.» Schunck und Marchlewski fanden für den Ort der Streifen:

I: $\lambda = 598$ bis $\lambda = 587$

II: $\lambda = 571$ > $\lambda = 563$

III: $\lambda = 551$ > $\lambda = 553$.

Die Lösung des Phylloporphyrins in konzentrierter Schwefelsäure zeigt nach Schunck und Marchlewski ein Spektrum mit 4 Bändern:

¹⁾ Diese Beobachtung bestätigte sich auch bei der Untersuchung alkalischer, durch Oxydation von Porphyrinogen hergestellter Mesoporphyrinlösungen. Zu den Versuchen diente ein Originalpräparat (frisch hergestelltes) krystallisiertes (Meso-)Porphyrinogen, das mir von Herrn Dr. Hans Fischer, München, gütigst zur Verfügung gestellt worden war.

²⁾ E. Schunck und L. Marchlewski, Zur Chemie des Chlorophylls. II. Abhandlung b. Darstellung des Phylloporphyrins. Ann. der Chemie, Bd. 284, 1895, S. 93; ferner IV. Abhandlung, Ann. der Chemie Bd. 290, 1896, S. 306.

I: $\lambda = 612$ bis $\lambda = 604$

II: $\lambda = 598$, $\lambda = 595$

III: $\lambda = 552$, $\lambda = 546$

IV: $\lambda = 541$, $\lambda = 536$.

Schunck und Marchlewski haben die Spektren von Lösungen des Phylloporphyrins und Hämatorporphyrins in Äther und Salzsäure sowie diejenigen der Zinkverbindungen beider Stoffe in Alkohol verglichen und als einzigen Unterschied eine geringe Verschiebung der Streifen des Hämatorporphyrins nach Rot festgestellt, die in einer Zeichnung anschaulich zum Ausdruck gebracht ist.¹⁾ Das benutzte Hämatorporphyrinchlorhydrat war nach Nenckis und Zaleskis Verfahren dargestellt worden.

A. Tschirch²⁾ hat die Absorptionserscheinungen des (von ihm Phyllopurpurinsäure genannten) Phylloporphyrins und des Hämatorporphyrins in alkoholischer Lösung verglichen und gefunden, daß sie nicht völlig übereinstimmen. Durch die photographische Untersuchung mit einem Quarzspektrographen stellte er fest, daß sehr verdünnte alkoholische Phylloporphyrinlösungen einen Absorptionsstreifen im Violett liefern.

R. Willstätter und H. Fritzsche³⁾ haben die Absorptionserscheinungen des freien Phylloporphyrins und seines Chlorhydrats in ätherischen, alkoholischen sowie in HCl-haltigen und KOH-haltigen alkoholischen Lösungen im sichtbaren Spektrum genauer bestimmt und durch Zeichnungen veranschaulicht. Sie prüften auch den Einfluß der Konzentration an Farbstoff auf den Ort der Streifen und bestimmten letztere durch Angabe ihrer seitlichen Begrenzungsstellen.

Ein dem Phylloporphyrin von Schunck und Marchlewski sehr nahestehendes stärker basisches Porphyrin, das von L. Marchlewski als β -Phylloporphyrin bezeichnet wurde, ist bezüglich seines absorptiven Verhaltens von L. March-

¹⁾ l. c., Bd. 290, S. 311.

²⁾ A. Tschirch, Der Quarzspektrograph und einige damit vorgenommene Untersuchungen von Pflanzenfarbstoffen, Ber. d. Deutschen Botan. Gesellschaft, Bd. 14, 1896, S. 91 und 92.

³⁾ A. Willstätter, Untersuchungen über Chlorophyll, VIII. Über den Abbau von Chlorophyll durch Alkalien, von R. Willstätter und H. Fritzsche, Ann. der Chemie, Bd. 371, 1909, S. 106 u. f.

lewski und J. Robel spektrographisch untersucht worden. Sie prüften Lösungen in Äther und in 10%iger Salzsäure und bestimmten den Ort der Streifen durch Angabe ihrer seitlichen Begrenzungen. Dieserhalb sei auf die Originalabhandlung verwiesen.¹⁾

Durch das freundliche Entgegenkommen des Herrn Prof. Dr. R. Willstätter erhielt ich die Gelegenheit, ein von ihm dargestelltes reines krystallisiertes Phylloporphyrin zu untersuchen. Das Absorptionsbild einer mäßig stark gefärbten Lösung in 25%iger wässriger Salzsäure²⁾ war dem des Mesoporphyrins außerordentlich ähnlich, wies aber einige feine Unterschiede auf: Im Gegensatz zu Mesoporphyrin war der I. Streifen etwas unsymmetrisch, das Maximum lag rotwärts von der Mitte auf $\mu\mu$ 593—593,5. Ein dem II. Mesoporphyrinstreifen entsprechender war nicht deutlich ausgebildet, statt dessen hatte der folgende kräftigere Streifen einen unmittelbar anliegenden Vorschatten, bei dem man unter bestimmten Bedingungen ein schwaches Maximum auf ungefähr 573 wahrnehmen konnte. Der kräftige II. Streifen hatte ein sehr schmales scharfes Minimum, sodaß er zweiteilig erschien; sein Minimum lag auf etwa 551, die beiden Maxima auf 554,5 und 547. (Die auf den Spektrogrammen ohne weiteres erkennbare Teilung ist in der Reproduktion nicht deutlich wahrnehmbar.) Die Lösung zeigte ferner einen schmalen und schwachen Streifen auf etwa 524 und einen breiten schwachen Streifen ohne deutliches Maximum auf etwa 509, von denen der erste auf dem Spektrum 67 (Tafel II) noch eben angedeutet erscheint.

Die spektrogrammetrische Bestimmung ergab für die beiden Hauptstreifen des sichtbaren Spektrums:

I. $\mu\mu$ 593,3 (dunkelste Stelle)

II. $\mu\mu$ 550 (Minimum = Trennungslinie der beiden Maxima).

Sehr verdünnte Lösungen lieferten bei geeigneter Schichtdicke einen sehr scharfen Violetstreifen auf 404,2.³⁾ Da der

¹⁾ L. Marchlewski, Studien in der Chlorophyllgruppe XII., Über β -Phylloporphyrin, I., Biochem. Zeitschrift, Bd. 39, S. 6, 1912.

²⁾ Vgl. Spektraltafel II, Spektrogramme 62—67.

³⁾ Vgl. Spektraltafel II, Spektrogramme 68—70.

Durchschnittswert für den Violettbereich des Mesoporphyrins unter denselben Bedingungen zu 404,7 bestimmt wurde, fällt die Differenz noch ungefähr in den Fehlerbereich der Methode. Der Ort des Violettbereichs von Phylloporphyrin und Mesoporphyrin wäre hiernach praktisch als identisch anzusehen.¹⁾ Ob sich bei der Untersuchung weiterer Präparate von Phylloporphyrin ein Durchschnittswert ergeben wird, der von dem des Mesoporphyrins nennenswert abweicht, muß einstweilen dahingestellt bleiben.

Zusammenfassung der wichtigeren Ergebnisse.

1. Die Absorptionsspektren frischer Lösungen von Hämatoporphyrin und Mesoporphyrin in wässriger Salzsäure vom spez. Gew. 1,124 (= 25% HCl) unterscheiden sich dadurch, daß die Gruppe der Absorptionsstreifen beim Hämatoporphyrin ca. 2,5 μ weiter nach Rot liegt.

Die spektrographische Bestimmung ergab für den Ort der vier Hauptstreifen

	I.	II.	III.	VI.
des Hämatoporphyrins μ	595,5	573,8	551,7	407,5
» Mesoporphyrins μ	592,8	571,5	549,7	404,7

Die okulare Bestimmung mit dem Gitterspektrometer ergab für die genau bestimmbaren Streifen

	I.	III.
des Hämatoporphyrins μ	595,3	552
» Mesoporphyrins μ	592,7	549,7;

für die etwas weniger genau bestimmbaren Streifen

	II.	IV.	V.
des Hämatoporphyrins μ	574,5	526	511
» Mesoporphyrins μ	572,5	524	509

Sowohl beim Hämatoporphyrin als auch beim Mesoporphyrin ändert sich der Ort der Streifen mit dem Gehalt an Salzsäure; mit abnehmendem Salzsäuregehalt verschiebt sich die Gruppe der Streifen nach Violett. Der Umfang der Verschiebung ergibt sich daraus, daß z. B. der Streifen VI des

¹⁾ Vgl. Spektraltafel II, Spektrogramme 56 und 68.

Hämatoporphyrins in 25%iger Salzsäure auf $\mu\mu$ 407,5,
 < 0,1%iger < < ca. < 401
 gefunden wurde.

Die Unterscheidung von Hämatoporphyrin und Mesoporphyrin in wässriger Salzsäure auf spektroskopischem Wege ist demnach nur möglich, wenn der HCl-Gehalt beider Lösungen wenigstens annähernd genau gleich ist.

Durch den spektrographischen Nachweis des Violett-Streifens (VI) lassen sich noch sehr geringe Mengen der Porphyrine auffinden; Lösungen, die in ca. 1—2 cm dicker Schicht kaum mehr gefärbt erscheinen, geben noch einen starken Violettstreifen.

Ein Präparat Phylloporphyrin (von R. Willstätter) gab in wässriger Salzsäure vom spez. Gew. 1,124 ein Absorptionsspektrum, das gegenüber dem des Mesoporphyrins einige feine Unterschiede bezüglich der Form und des Intensitätsverhältnisses der einzelnen Streifen aufwies; dagegen war der Ort der drei Hauptstreifen (I, II, V) von dem der entsprechenden Mesoporphyrinstreifen kaum verschieden.

2. Die eigentümlich-vielstreifigen Spektren alkoholischer Lösungen von Hämatoporphyrin- und Mesoporphyrinchlorhydrat sind einander täuschend ähnlich und werden schon durch eine Spur freier Salzsäure beträchtlich verändert. Nahezu farblose Lösungen von exsikkatortrockenem Hämatoporphyrinchlorhydrat in ca. 98%igem Alkohol geben einen deutlichen einfachen Violettstreifen. Enthält die Lösung eine Spur freier Salzsäure, sodaß sie auf Lackmus sauer reagiert, empfindliches Kongopapier dagegen nicht oder nur kaum merklich bläut, so liefert sie bei geeigneter Schichtdicke im Violett zwei eng benachbarte Streifen, deren Intensitätsverhältnis durch minimale Unterschiede im Salzsäuregehalt beeinflusst wird.

Lösungen von Hämatoporphyrin- und Mesoporphyrinchlorhydrat in ammoniakhaltigem Alkohol (98%iger Alkohol 99 ccm, Ammoniakflüssigkeit vom spez. Gew. 0,96, 1 ccm) geben täuschend ähnliche vielstreifige Spektren. Die Streifen der Hämatoporphyrinlösung liegen durchschnittlich ungefähr 1 bis 1,5 $\mu\mu$ weiter nach Rot.

3. Frische alkalische Lösungen von Hämatoporphyrinchlorhydrat mit beträchtlichem Überschuß an Alkali (Soda, Kaliumhydroxyd) geben 4 Absorptionsstreifen, deren Ort durch okulare Messung mit dem Gitterspektrometer zu etwa μ 619,5, 567, 542, 507 bestimmt wurde.

Die spektrogrammetrische Bestimmung ergab für:

	I.	II.	III.	IV.
0,5%o krystallisierte Soda enthaltende Lösungen	618,5	566,5	540,5	505,5
0,1%o Kaliumhydroxyd enthaltende Lösungen	618,5	566,8	540,5	504,5

Die frischen unveränderten, alkalischen Lösungen von Hämatoporphyrinchlorhydrat lassen den von Lewin, Miethe und Stenger angegebenen fünften Streifen (im Blau) stets vermissen. Dieser Streifen trat dagegen allmählich bei Kaliumhydroxyd enthaltenden Lösungen auf, die einige Zeit dem Lichte der Nernst-Lampe ausgesetzt waren, und liegt auf μ 461.

Frische alkalische Lösungen von Hämatoporphyrinchlorhydrat mit beträchtlichem Gehalt an freiem Alkali (Soda, Kaliumhydroxyd) lieferten im Violett keinen Absorptionsstreifen, sondern nur einseitige Absorption und unterscheiden sich hierdurch scharf von den HCl-haltigen Lösungen.

4. Kaliumhydroxydhaltige Lösungen von Mesoporphyrinchlorhydrat liefern einen einfachen oder zwei eng benachbarte Streifen im Rot (okular gemessen: ca. 629,5 bzw. 629,5 und 617, spektrogrammetrisch bestimmt: 627,5 bis 628,7 bzw. 627,5 bis 628,7 und 617 bis 617,6), einen zarten schmalen Streifen auf ca. 601, sowie drei weitere Streifen oder entsprechende Gruppen von Streifen im Anfang und der Mitte des Grün und auf der Grenze von Grün/Blau, deren Anordnung, Form und Intensitätsverhältnis je nach dem Gehalt der Lösung an Kaliumhydroxyd und ihrer Behandlung (Luftteinwirkung) wechseln. Lösungen mit stärkerem KOH-Gehalt (z. B. in $n/4$ -Kalilauge) geben im Rot nur einen einfachen Streifen auf etwa 629,5.

Sodahaltige Lösungen gaben im wesentlichen dasselbe Absorptionsbild wie schwach KOH-haltige Lösungen.

Frische alkalische Mesoporphyrinlösungen ließen den von Lewin, Miethe und Stenger angegebenen starken Absorptions-

streifen im Blau stets vermischen. Er trat nur bei offenbar zersetzten Lösungen auf.

Lösungen von Mesoporphyrinchlorhydrat in $n/10$ -Kalilauge lieferten im Violett keinen Absorptionsstreifen, sondern nur einseitige Absorption und unterscheiden sich hierdurch scharf von den Lösungen in Salzsäure.

Erklärung der Spektraltafeln.

Tafel I.

Spektrogramme

- 1—16 = Hämatoporphyrinchlorhydrat in wässriger Salzsäure vom spez. Gew. 1,124 (= 25% HCl).
- 17 = Nahezu farblose Lösung von Hämatoporphyrin in 0,1% iger Salzsäure.
- 18 = Nahezu farblose Lösung von Hämatoporphyrin in 25% iger Salzsäure.
- 19—21 = Schwache Lösungen von Hämatoporphyrinchlorhydrat in 0,1% iger Kalilauge.
- 22—24 = Schwache Lösungen von Hämatoporphyrinchlorhydrat in 2% iger Sodalösung.
- 25 = Lösung von Hämatoporphyrinchlorhydrat in 25% iger Salzsäure, die ebensoviel Farbstoff enthält wie die für Spektrogramm 24 benutzte alkalische Lösung (Schichtdicke auch dieselbe).
- 26—28 = Stärkere Lösungen von Hämatoporphyrinchlorhydrat in 0,1% iger Kalilauge.
- 29—31 = Stärkere Lösungen von Hämatoporphyrinchlorhydrat in 0,5% iger Sodalösung.
- | | |
|---|--|
| 32 = Hämatoporphyrinchlorhydrat in Sodalösung | } 10 Minuten durch Nernst-Lampe belichtet und 5 Stunden im Dunkel gestanden. |
| 33 = " in Ammoniakflüssigkeit | |
| 34 = " " 0,1% iger Kalilauge | |
| 35 = " " 0,5% iger " " | |

Tafel II.

Spektrogramme

- 36—42 = Hämatoporphyrinchlorhydrat in 98% igem Alkohol.
- | | |
|---|---------------------------------------|
| 43 = Hämatoporphyrinchlorhydrat in 25% iger Salzsäure. | } Hämatoporphyrin-gehalt sehr gering. |
| 44 = Hämatoporphyrinchlorhydrat in Mischung aus 19 Volumina Alkohol und 1 Volumen Salzsäure vom spez. Gew. 1,124. | |
| 45 = Hämatoporphyrinchlorhydrat in 98% igem Alkohol mit Zusatz von sehr wenig Ammoniak. | |

Spektrogramme

- | | | |
|--|---|--|
| <p>46 = Hämatoporphyrinchlorhydrat in 98%igem Alkohol mit Zusatz einer Spur Salzsäure, sodaß die Reaktion gegen Lackmus deutlich positiv, auf Kongo kaum wahrnehmbar positiv ist.</p> <p>47 = Hämatoporphyrinchlorhydrat in 98%igem Alkohol nach 1 stündigem Stehen über etwas Natriumbicarbonat.</p> <p>48 = Hämatoporphyrinchlorhydrat mit Zusatz einer Spur Salzsäure, sodaß die Reaktion gegen Lackmus deutlich positiv, gegen Kongo kaum wahrnehmbar positiv ist.</p> <p>49 = Hämatoporphyrinchlorhydrat in 98%igem Alkohol mit Zusatz einer Spur Salzsäure, sodaß die Reaktion gegen Lackmus positiv, gegen Kongo negativ ist.</p> <p>50 = Hämatoporphyrinchlorhydrat in 98%igem Alkohol</p> | } | <p>Hämatoporphyrin-gehalt sehr gering.</p> |
| <p>51—53 = Mesoporphyrinchlorhydrat in wässriger Salzsäure vom spez. Gew. 1,124 (= 25% HCl).</p> | | |
| <p>54 und 56 = Mesoporphyrinchlorhydrat in wässriger Salzsäure vom spez. Gew. 1,124, sehr schwache Lösungen.</p> | | |
| <p>55 und 57 = Hämatoporphyrinchlorhydrat in wässriger Salzsäure vom spez. Gew. 1,124, sehr schwache Lösungen.</p> | | |
| <p>58—61 = Mesoporphyrinchlorhydrat in $n/10$-Kalilauge, sehr schwache Lösungen.</p> | | |
| <p>62—67 = Phylloporphyrin (von Willstätter) in wässriger Salzsäure vom spez. Gew. 1,124, stärkere Lösungen.</p> | | |
| <p>68—70 = Phylloporphyrin (von Willstätter) in wässriger Salzsäure vom spez. Gew. 1,124, sehr schwache Lösungen.</p> | | |