

## Zur Kenntniss von den Farbstoffen der melanotischen Geschwülste.

Von

K. A. H. Mörner in Stockholm.

(Der Redaktion zugegangen am 13. August 1886.)

Hierzu Tafel I und II.

Der Farbstoff, von dem die melanotischen Geschwülste ihre braunschwarze Farbe erhalten, ist gewöhnlich unter dem Namen «Melanin» erwähnt, welcher Name angiebt, wie unvollständig die Kenntniss von diesem Farbstoff (oder diesen Farbstoffen) ist, denn mit Melanin bezeichnet man nämlich nicht nur einen bestimmten, sondern mehrere chemische Körper verschiedenen Ursprungs. Man legt diesen Namen Pigmenten aus dem Auge, dem Haar, der Haut und pathologischen Neubildungen, ebenso Zersetzungsproducten von Chromogenen im Urin etc. bei. Ehe ich zum Bericht über den von mir untersuchten Farbstoff übergehe, will ich erst die Ergebnisse der Untersuchungen anderer Forscher zusammenstellen, und da ein Zusammenhang zwischen den pathologisch vorkommenden und den normalen Pigmenten a priori wahrscheinlich ist, so müssen dabei auch diese letzteren Berücksichtigung finden.

Das schwarze Pigment im Auge. Die älteren Untersuchungen dieses Farbstoffes, welche Berzelius anführt, geben nur eine sehr unvollständige Kenntniss desselben und beschäftigten sich vorzugsweise mit seiner Indifferenz gegen Lösungsmitteln. Berzelius fand, dass derselbe geringe Eisenmengen enthält. Simon's Untersuchungen gehen wenig weiter; derselbe zeigte, dass dieser Farbstoff sich theilweise in Kalilauge unter Entwicklung von Ammoniak löst. Als

ein Schritt vorwärts gegen die Kenntniss von diesem Farbstoff kann Scherer's Untersuchung der elementaren Zusammensetzung desselben bezeichnet werden. Leider kann die von ihm angewendete Methode, das Pigment durch Aufschwemmen in Wasser zu isoliren, keine Sicherheit, ja nicht einmal die Wahrscheinlichkeit geben, dass das analysirte Präparat keine anderen Gewebselemente enthalten hat. Die von ihm gefundenen Werthe für die procentische Zusammensetzung waren im Mittel folgende: C = 58,28%, H = 5,92%, N = 13,77%, Asche 9,3%. Auf die Gegenwart von Eisen oder Schwefel scheint er nicht geprüft zu haben. Nach Schlossberger enthält das betreffende Pigment 0,25% Eisen. Die von Rosow ausgeführten Untersuchungen scheinen mit grosser Sorgfalt bewerkstelligt zu sein. Er unterscheidet in morphologischer Hinsicht zwischen länglichen Pigmentkörnern, welche das Retinalepithel bis an die Ora serrata ausfüllen, und runden, welche in den Epithelzellen davor und in der eigentlichen Chorioidea vorkommen. Für die chemische Untersuchung trennte er diese beiden Sorten. Das analysirte Präparat bestand aus runden Pigmentkörnern, welche durch Fäulniss und Behandlung mit Essigsäure isolirt waren. Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigten sich diese Körner frei von anderen Gewebetheilen. Die procentische Zusammensetzung war: C = 53,97%, H = 5,32%, N = 10,12%, Asche 0,6%. Die Asche bestand hauptsächlich aus Kieselsäure und zeigte Spuren von Eisen. Schwefel war im Präparat nicht enthalten. Neulich ist das Chorioidpigment von Sieber untersucht worden. Bei der Isolirung hat die Verfasserin das Pigment des Retinalepithels nicht von demjenigen geschieden, welches eigentlich der Chorioidea angehört. Gegen ihre Art und Weise das Pigment zu isoliren lässt sich anmerken, dass sie den Blutfarbstoff nicht entfernt hat, in Folge dessen die Möglichkeit nicht ausgeschlossen ist, dass in dem Präparat Zersetzungsproducte des Hematins (als Hematolin) enthalten gewesen sind. Hematolin oder andere Zersetzungsproducte dürften möglicherweise gebildet werden können, wenn der Farbstoff nach ihrer Methode in Salzsäure (10%)

zwei Stunden lang gekocht wird. Eine andere Anmerkung, welche sich ebenfalls machen lässt, gilt der genannten Behandlung mit Salzsäure. Sieber hat nämlich nicht bewiesen, dass sich der Farbstoff dabei nicht verändert. Ferner geben die von ihr für die procentische Zusammensetzung erhaltenen Werthe keinen Beweis dafür, dass sie mit reinem Material gearbeitet habe. Für Pigment aus Rinderaugen fand sie  $C = 60,34-59,90\%$ ,  $H = 5,02-4,61\%$ ,  $N = 10,81\%$ ; für solches aus Schweinsaugen  $C = 58,64\%$ ,  $H = 5,09\%$ . Der Gehalt an Asche variierte zwischen  $2,15\%$  und  $3,55\%$ . Der von Sieber analysirte Farbstoff war frei von Eisen und Schwefel. Aus dem Angeführten ist ersichtlich, dass die Kenntniss von dem Pigment im Auge sehr unvollständig ist; die von den verschiedenen Forschern gewonnenen Resultate stimmen mit einander nicht überein, und keiner von ihnen hat für die Reinheit des untersuchten Präparats oder dafür, dass dasselbe in unveränderter Form vorgelegen, volle Sicherheit geben können. Dass sich zwischen dem Pigment im Auge und demjenigen in melanotischen Geschwülsten ein Zusammenhang findet, ist für viele Fälle höchst wahrscheinlich, indem melanotische Geschwülste oft primär im Auge entstehen, doch kann man einen festen Grund für die Kenntniss des Farbstoffes der Geschwülste nicht in der Kenntniss von dem Pigment des Auges suchen, da dieses Pigment ja selbst so unvollständig bekannt ist.

Ein anderer Farbstoff, von dem die Kenntniss, auf Grund des gewöhnlichen Entstehens der melanotischen Geschwülste in der Haut, für die Beantwortung der Frage von der Natur des Melanosarkomfarbstoffes von grossem Interesse sein würde, ist der Farbstoff in der Haut (bei den Negern und in den Naevi), aber von diesem wissen wir noch viel weniger, wir kennen von ihm kaum mehr als die Farbe. Floyd nimmt an, dass der Farbstoff in der Haut der Neger eisenhaltig sei, doch ist der Grund, worauf er seine Ansicht stützt, sehr unsicher, da dieselbe sich nur darauf gründet, dass die Haut der Neger mehr Asche giebt als diejenige der Weissen, und dass diese Asche mehr Eisen enthält.

Aus dem Grunde, dass melanotische Geschwülste bei Pferden öfters bei solchen mit weissen oder grauen Haaren vorkommen, hat man die Vermuthung ausgesprochen, dass das Schwulstpigment dasselbe sei wie dasjenige in den Haaren der Pferde, oder dass es doch nahe mit ihm verwandt wäre, sowie dass der Farbstoff, welcher normal in den Haaren des Pferdes deponirt worden wäre, durch einen abnormen Process in pathologischen Neubildungen abgelagert worden sei. Selbst beim Menschen hat man Erscheinungen gesehen, welche hierauf hindeuten <sup>1)</sup>. Auch der Farbstoff in den Haaren des Menschen wurde von Sieber zum Gegenstand ihrer Untersuchungen gemacht. Schwarzes Haar wurde durch Kochen mit Kalilauge behandelt, wobei sich auch der Farbstoff löste, und die Lösung dann mit Essigsäure gefällt. Das Pigment wurde durch wiederholtes Auflösen in Ammoniak, durch langes Kochen mit Salzsäure (5%), durch Behandlung mit Schwefelkohlenstoff, Alkohol und Aether von Eiweisskörpern, Fett und Schwefel gereinigt. Es war leicht löslich in Alkalien, unlöslich in Wasser, Alkohol, Aether, Chloroform und Schwefelkohlenstoff, es war frei von Asche, «mithin frei von Eisen», und enthielt Schwefel. Die Elementaranalyse gab folgende Zahlen: C = 57,19%, H = 6,97%, S = 2,71%. Ein anderes Präparat, aus einer Mischung verschiedenfarbiger Haare dargestellt, enthielt C = 56,14%, H = 7,57%, N = 8,5%, S = 4,10%.

Der schwarze Farbstoff, welcher in den Lungen und Bronchialdrüsen vorkommt, scheint für die hier behandelte Frage ohne Interesse zu sein.

Der Farbstoff in melanotischen Geschwülsten wurde zuerst von Heintz untersucht. Dieser Farbstoff wurde aus einer carcinomatösen Geschwulst in der Bauchhöhle erhalten, wo sich nach der Exstirpation eines melanotischen Tumors in der Orbita eine grosse Menge metastatischer Tumore gebildet hatte. Er wurde isolirt und auf folgende Weise gereinigt: das Gewebe wurde unter Wasser zerknetet,

<sup>1)</sup> Virchow, Die krankhaften Geschwülste, 1864—65, Bd. II, S. 274.

der erhaltene Bodensatz durch Dekantiren mit Wasser gewaschen, hierauf wiederholt mit mässig starker Kalilauge gekocht, wobei sich nur sehr wenig Farbstoff löste, darauf mit Alkohol, Aether und Salzsäure so lange behandelt, bis nichts mehr gelöst wurde. Das Pigment, glich durch seine Schwerlöslichkeit in Alkalien demjenigen im Auge. Das Präparat enthielt 1,37 % Asche (Phosphate) und war frei von Eisen; inwiefern es Schwefel enthielt, scheint nicht untersucht worden zu sein. Die Elementaranalyse gab für seine procentische Zusammensetzung folgende Zahlen: C = 53,44%, H = 4,02%, N = 7,10%. Der gefundene Stickstoffgehalt ist niedrig, niedriger als ihn spätere Forscher gefunden haben. Eine Erklärung für dieses Verhältniss kann man in der angewandten Reinigungsmethode finden. Wie von Simon gezeigt worden, giebt das Chorioidpigment bei Behandlung mit Kalilauge Ammoniak ab, und es ist daher wahrscheinlich, dass das untersuchte Pigment, welches bezüglich der Löslichkeit mit dem Chorioidpigment übereinstimmte, auch gegen die Kalilauge ein gleiches Verhalten gezeigt hat und dass solcherart bei der Bereitung ein Verlust an Stickstoff eingetreten ist. Ferner will ich bemerken, dass der Farbstoff mit Salzsäure (die Stärke ist nicht angegeben) behandelt worden ist, was man in Betracht zu ziehen hat, wenn man wissen will, ob derselbe anfangs eisenhaltig gewesen ist, denn wie ich später zeigen werde, gab der von mir untersuchte eisenhaltige Farbstoff mit Leichtigkeit Eisen auch bei der Behandlung mit verdünnter Salzsäure ab. In dem ersten der von Dressler (1) untersuchten Fälle war es ebenfalls eine primäre Geschwulst im Bulbus, die secundäre Geschwülste vorzugsweise in der Leber, welche zur Darstellung des untersuchten Farbstoffes angewandt wurde, hervorgerufen hatte. Um den Farbstoff zu isoliren, liess er die feinzertheilte Geschwulstmasse ein Jahr lang faulen, schwemmte den Rest sodann mit Wasser auf und fällte den Farbstoff, welcher sich in der von Ammoniak stark alkalischen Flüssigkeit gelöst hatte, mit Säure; hierauf wurde der Farbstoff mit Essigsäure und mit Salzsäure, sodann mit Alkohol und mit Aether

gewaschen, in der Kälte und in der Wärme mit Ammoniak behandelt und dieser alsdann mit Wasser ausgewaschen. Die erhaltene Substanz war löslich in Aetzlauge und auch in kohlsauren Alkalien, scheint aber in Ammoniak schwer löslich gewesen zu sein. Die Untersuchung auf Schwefel gab ein negatives Resultat; Asche wurden 1,47 % erhalten <sup>1)</sup>. In derselben fand er eine nicht unbedeutende Menge Kieselsäure, ferner Eisen, dessen Menge ungefähr 0,2 % der Substanz betragen zu haben scheint, Phosphate u. s. w. Ob die angewandte Isolirungsmethode (mit einem Jahr langer Fäulniss) gut zu heissen ist, dürfte zweifelhaft sein, da Dressler in seinem Aufsatz sagt, dass ein Theil des Farbstoffes bei der ein Jahr langen Aufbewahrung in Kalilauge die Farbe gänzlich verloren hatte. Das analysirte Präparat war zwar der Einwirkung von Kalilauge nicht ausgesetzt gewesen, doch hatte die Masse sich stark ammoniakhaltig gezeigt, und es scheint mir daher vollkommen berechtigt zu sein, Zweifel zu hegen, dass der Farbstoff sich in unverändertem Zustand befunden hat; ferner muss es in der Masse eine Menge Mikroorganismen gegeben haben, für deren Entfernung nichts gethan worden ist. Bei einer späteren Untersuchung (2) hat Dressler eine andere Methode angewandt, welche, wie er selbst findet, kein befriedigendes Resultat gegeben hat. Das Geschwulstgewebe (auch in diesem Falle der Leber entnommen) wurde in Wärme mit starker Kalilauge behandelt und das, was sich gelöst hatte, mit Essigsäure ausgefällt, die getrocknete Substanz mit Magensaft digerirt und hernach mit kalter und dann mit kochender concentrirter Salzsäure behandelt. In seinen qualitativen Eigenschaften glich dieses Präparat dem vorher untersuchten, bei der Bestimmung des

1) In Dressler's Aufsatz steht, dass 0,857 gr. Substanz 0,126 gr. Asche gaben, was 14,7 % ausmachen würde; wahrscheinlich ist dies ein Druckfehler und soll heissen: 0,0126 gr. Asche, was 1,47 % giebt und mit seiner Berechnung der Elementaranalysenbestimmungen für aschenfreie Substanz übereinstimmt. Andererseits kann man wieder fragen, wie es möglich ist, in einer so geringen Menge Asche sechs Stoffe quantitativ zu bestimmen und die Procentzahlen mit zwei Decimalen auszuführen.

Stickstoffgehaltes aber zeigte es sich, dass dieser hier ein ganz anderer war, nämlich 7,66 %, also der Zahl beinahe gleich kam, welche Heintz, der ungefähr dieselbe Isolirungsmethode angewandt, erhalten hatte. Dass der Stickstoffgehalt dieses Mal so niedrig ausfiel, ist seiner Ansicht nach der angewandten Isolirungsmethode zuzuschreiben.

Neulich ist der Farbstoff eines melanotischen Sarkoms von Berdez & Nencki untersucht worden. Die primäre Geschwulst ging von einem Naevus auf der einen Schulter aus, der sich zu einem Tumor entwickelte, welcher extirpirt wurde. Kurz darauf traten Anzeichen einer Metastasenbildung hervor, und gleichzeitig wurde beobachtet, dass Haut und Urin eine dunklere Farbe erhielten. Innerhalb eines Jahres nach dem Hervortreten der primären Tumorbildung starb der Patient, und bei der Autopsie zeigte sich eine Entwicklung unzähliger Metastasen in allen Organen, ebenso wurde beobachtet, dass alle Gewebe, ausser den Knorpeln, Nerven und Muskeln, eine braunrothe Farbe hatten. Besonders zahlreich waren die Metastasen in der Leber, welche 5,9 kgr. wog und nebst der Milz dasjenige Organ war, das für die chemische Untersuchung in Arbeit genommen wurde. Der Farbstoff in diesem Melanosarkom erhielt den Namen Phymatorhusin, derivirt von *φυμα*, Geschwulst, und *ρουτος*, rothbraun. Das Pigment wurde von Berdez & Nencki auf folgende Weise dargestellt: die Milz und die Leber wurden fein zerhackt und dann mit kochendem Alkohol, darnach mit Aether ausgeschöpft. Alsdann wurde der Farbstoff mit Kalilauge von 1 % gelöst, mit Salzsäure gefällt und getrocknet (zuletzt bei 110°, um das Eiweiss in Alkali weniger löslich zu machen), wieder in Kalilauge gelöst und mit Salzsäure ausgefällt. Um etwa noch vorhandenes Eiweiss zu entfernen, wurde der getrocknete Farbstoff 1—2 Stunden mit Salzsäure von 10 % gekocht, worauf die Salzsäure mit Alkohol und Aether aus dem Präparat ausgewaschen und dieses dann bei 110° getrocknet wurde. Gegen diese Darstellungsmethode lässt sich eine wesentliche Anmerkung machen, und zwar gegen das Kochen mit Salzsäure von 10 %. Das Phymatorhusin ist,

wie ich weiter unten zeigen werde, gegen eine derartige Behandlung gewiss nicht resistent. Das Phymatorhusin war unlöslich in Wasser, Alkohol und Aether, leicht löslich in fixen und kohlen sauren Alkalien und in Ammoniak; aus diesen Lösungen wurde es mit Säure gefällt und im Ueberschuss des Fällungsmittels etwas gelöst. In kochender Salzsäure löste es sich etwas mehr, fiel aber bei der Abkühlung wieder aus; der solcherart ausgefällte Farbstoff löste sich in Wasser, wurde beim Trocknen bei  $110^{\circ}$  aber wieder unlöslich. In kalter concentrirter Schwefelsäure war er nur wenig löslich, mehr jedoch in der Wärme; bei der Verdünnung mit Wasser fiel er aus. Im Urin war er etwas löslich. Die Lösungen in Alkali zeigten im Spectrum kein Absorptionsband und waren bei genügender Verdünnung braunroth. Von der Salpetersäure wurde er leicht angegriffen, vom Chlor in alkalischer Lösung leicht entfärbt. Erhitzt auf einem Platinblech, entwickelte er einen eigenthümlichen sauren Geruch und einen von Pyrrol, aber keinen von verbranntem Horn. Bei der Erhitzung bildete sich Pyridin. Beim Schmelzen mit Kalihydrat wurde eine geringe Menge Ammoniak entwickelt; ferner wurden als Zersetzungsproducte Skatol, flüchtige fette Säuren, Nitrile, Cyanwasserstoff, Schwefelwasserstoff und eine schwefelhaltige flüchtige organische Säure erhalten; Fenol bildete sich nicht. Das Präparat enthielt ausser Kohlenstoff, Wasserstoff, Stickstoff (und Sauerstoff) eine bedeutende Menge Schwefel<sup>1)</sup>, aber kein Eisen, Phosphor oder Chlor. Bei der Elementaranalyse wurden folgende Mittelwerthe erhalten: C = 53,48 %, H = 4,03 %, N = 10,55 %, S = 10,67 %. Dass der von Berdez & Nencki untersuchte Farbstoff nicht mit dem von Heintz dargestellten identisch war, geht daraus hervor, dass diese beiden Farbstoffe eine verschiedene Löslichkeit zeigten, indem der erstere sich leicht

<sup>1)</sup> Wenn Berdez und Nencki sagen, dass der Schwefelgehalt in dem Farbstoff aus melanotischen Geschwülsten von früheren Forschern übersehen wurde, so ist dies insofern ein Irrthum, als Dressler von dem von ihm zuerst untersuchten Farbstoff ausdrücklich sagt, dass derselbe keinen Schwefel enthalten habe.

in Alkalien löste, der letztere aber in ihnen sich so gut wie unlöslich erwies; ebenso ist der in diesen Farbstoffen gefundene Stickstoffgehalt ein sehr verschiedener. Auch die Verschiedenheit zwischen den von Dressler untersuchten Farbstoffen ist eine grosse; so war das erste von Dressler (1) untersuchte Pigment frei von Schwefel und hatte einen höheren Stickstoffgehalt, während das zweite, mit welchem Dressler (2) arbeitete, einen niedrigeren Stickstoffgehalt hatte, ausserdem auch sehr schwer löslich in Ammoniak gewesen zu sein scheint.

Nepveu hat bei der mikroskopischen Untersuchung eines Melanosarkoms den Farbstoff in Soda löslich gefunden. Die Salpetersäure soll ihn in ein paar Tagen in schwarze Krystalle umwandeln.

Um Vergleiche anzustellen, haben Dressler (2) und Berdez & Nencki den Farbstoff in melanotischen Geschwülsten von Pferden untersucht. Dressler (2) bediente sich derselben Darstellungsmethode wie bei seiner zweiten Untersuchung des analogen Pigments vom Menschen. Der Farbstoff war in Kalilauge wenig löslich und gab eine phosphorsäurehaltige Asche, welche beinahe frei von Eisen und ganz frei von Kieselsäure war. Dasselbe war frei von Schwefel, C = 46,44 %, H = 4,22 %, N = 10,63 %. Berdez & Nencki haben dem betreffenden Farbstoff einen neuen Namen gegeben, nämlich «Hippomelanin». Die von ihnen untersuchten Präparate waren durch Kochen der zerhackten Geschwulstmasse mit Kalilauge (1 %), wobei die Zellsubstanz sich löste und die Pigmentkörner frei wurden, dargestellt <sup>1)</sup>. Beim Filtriren gingen die Pigmentkörner anfangs durch das Filter. Aus dem warmen Filtrat setzte sich ein Theil des Farbstoffes als Sediment ab, welches von dem übrigen abge sondert wurde. Das meiste des Farbstoffes war in dem alkalischen Filtrat theils gelöst, theils aufgeschwemmt; dasselbe wurde mit Salzsäure im Kochen gefällt. Beide, der

---

<sup>1)</sup> Die Beschreibung der Darstellungsmethode ist etwas schwer verständlich.

als Sediment und der durch Ausfällung erhaltene Farbstoff wurden mit Salzsäure (10 %) gekocht, um aus ihm das Eiweiss zu entfernen. Das Hippomelanin war unlöslich in kalter Kalilauge. Dadurch und durch eine grössere Resistenz gegen schmelzendes Kalihydrat unterschied es sich von dem untersuchten Phymatorhusin. Es war frei von Eisen, Chlor und Phosphor, enthielt aber eine recht bedeutende Menge Schwefel. Bei der Analyse gab das durch Ausfällung erhaltene Präparat (a) im Mittel C = 53,60%, H = 3,88%, N = 10,48%, S = 2,84%; das als Sediment erhaltene (b) C = 55,61%, H = 3,82%, N = 10,87%, S = 2,81%.

Der besseren Uebersicht wegen stelle ich in tabellarischer Form hier die Ergebnisse der ausgeführten Analysen zusammen:

Tabelle 1.

	C %	H %	N %	S %	Fe %
<b>Augenpigment:</b>					
Nach Scherer . . . . .	58,28	5,92	13,77	?	?
» Schlossberger . . . . .	—	—	—	—	0,25
» Rosow . . . . .	53,97	5,32	10,12	0	Spuren
» Sieber, Rinderaugen . . . . .	60,12	4,81	10,81	0	0
» » Schweinsaugen . . . . .	58,64	5,09	—	0	—
<b>Pigment der Haare:</b>					
Nach Sieber, schwarze Haare . . . . .	57,19	6,97	—	2,71	0
» » schwarze u. braune Haare . . . . .	56,14	7,57	8,50	4,10	0
<b>Geschwulstpigment vom Menschen:</b>					
Nach Heintz . . . . .	53,44	4,02	7,10	?	0
» Dressler (1) . . . . .	51,73	5,07	13,24	0	0,21
» » (2) . . . . .	—	—	7,66	?	?
» Berdez & Nencki (Phyma- torhusin). . . . .	53,48	4,03	10,55	10,67	0
<b>Vom Pferde:</b>					
Nach Dressler (2) . . . . .	46,44	4,22	10,63	0	Spuren
» Berdez & Nencki (Hippo- melanin) . . . . .	53,60	3,88	10,48	2,84	0
	55,61	3,82	10,87	2,81	0

Seit Eiselt (in Prag) darauf aufmerksam gemacht, dass der Urin von Personen, welche mit melanotischen Geschwülsten behaftet sind, gewisse Eigenthümlichkeiten aufweisen kann, ist derselbe ein Gegenstand der Aufmerksamkeit mehrerer Beobachter gewesen. In vier Fällen, welche Eiselt zu beobachten Gelegenheit hatte, fand er im Urin auffällige Eigenthümlichkeiten, die seine Aufmerksamkeit erst weckten, als er einen Urin von hochgelber Farbe (eig. Gew. 1,007—1,015) auf Gallenfarbstoff prüfen wollte; beim ersten Tropfen, welcher von der concentrirten Salpetersäure in die Urinprobe fiel, wurde diese augenblicklich schwarz. Auch bei der Einwirkung anderer Reagentien als concentrirter Salpetersäure, z. B. Kaliumdichromat mit Schwefelsäure, konnte man dieselbe Reaction erhalten. Selbst wenn der Urin einige Zeit an der Luft stehen durfte, färbte er sich dunkel wie Porter. Dieser erstuntersuchte Fall betraf einen Patienten mit carcinoma bulbi und Leberkrebs. Der zweite war ein Hautcarcinom (Sarkom) mit zahlreichen Metastasen nach inneren Organen; die angeführte Urinreaction zeigte sich hier weniger deutlich. Im dritten Falle handelte es sich um einen Patienten, welcher unter der Diagnose Lebercancer behandelt wurde; bei der Untersuchung seines Urins erhielt Eiselt die erwähnte Reaction und stellte Grund dessen die Diagnose auf melanotische Geschwulst, welche bei der Obduction auch bestätigt wurde. Der am Tage vor dem Tode gesammelte Urin war hellgelb und hielt sich, vor Licht und Luft geschützt, unverändert; bei der Berührung mit Salpeter- und Chromsäure färbte er sich sofort schwarz; eine später genommene Urinprobe wurde von selbst schwarz. In dem vierten Falle (welcher nicht zur Section gelangte) waren subcutane, bläulich durchscheinende Tumore vorhanden, ebenso Leber- und Milztumor. Der Urin war immer dunkelfarbig und färbte sich mit concentrirter Salpetersäure augenblicklich schwarz. Was das Verhalten der chromogenen Substanz zu Fällungsmitteln anbetrifft, so macht Eiselt (2, S. 41) einige Mittheilungen. Wenn man den Urin mit neutralem Bleiacetat fällt, diesen Niederschlag abfiltrirt und das Filtrat alsdann mit basischem Bleiacetat

fällt, so erhält man einen weissen Niederschlag, welcher bei der Berührung mit der Luft und bei der Einwirkung des Lichtes eine braune bis schwarze Farbe annimmt; wird der Niederschlag zertheilt, so erhält man eine beinahe farblose Lösung, welche sich im Licht ebenfalls braun bis schwarz färbt. Später ist (ebenfalls in Prag) das Verhalten des Urins in einem Fall von melanotischer Geschwulst im Bulbus (Metastasen scheinen nicht vorgekommen zu sein) von Pribram untersucht worden. Der Urin war gelbbraun, hatte ein eig. Gew. von 1,035 und färbte sich an der Luft dunkler, bis braunschwarz, ebenso bei einem Zusatz von rauchender Salpetersäure oder Kaliumdichromat nebst Schwefelsäure. Die Substanz, welche dabei die Farbe gab, folgte nicht in den Barytniederschlag mit, wurde aber beinahe vollständig von neutralem Bleiacetat gefällt, so dass das Filtrat mit rauchender Salpetersäure oder Chromsäure von der Reaction nur Spuren gab. Nach der Zersetzung des Bleiniederschlags mit Schwefelwasserstoff wurde ein farbloses Filtrat erhalten, das bei Verdampfung über Wasserbad einen braunschwarzen amorphen Rest gab, der in Wasser, kaltem Alkohol und Aether unlöslich, in kochendem Alkohol aber wenigstens zum Theil löslich war; die Asche erwies sich eisenhaltig; in dem untersuchten Urin fand sich keine grössere Menge indigobildender Substanz. Die Gründe, worauf Pribram seine Ansicht stützt, dass der betreffende Farbstoff mit dem von Dressler (1) untersuchten sehr nahe verwandt gewesen sei, scheinen mir nicht besonders stichhaltig zu sein; ebenso erachte ich es nicht als bewiesen, dass der betreffende Urin einen abnormen Farbstoff enthalten habe. Jedenfalls verhielt der Farbstoff sich zum Fällungsmittel nicht in der von Eiselt beschriebenen Weise.

Dass der Urin in einem Fall von melanotischen Geschwülsten Farbstoff enthalten kann, von dem sich annehmen lässt, dass er mit dem in den Geschwülsten enthaltenen identisch ist, oder abnormen Farbstoff überhaupt, ist von verschiedenen Seiten bestritten worden. So in einer Angabe aus Prag, wo diese Möglichkeit zuerst zum Gegenstand von

Untersuchungen gemacht worden ist, nämlich von Dressler (2 S. 68), welcher in der genannten Angabe sagt, dass dasselbe Verhalten zu oxydirenden Agentien auch bei Urin von marastischen Personen beobachtet worden sei, welche keine melanotischen Geschwülste gehabt haben; ferner sagt er, dass er vergebens versucht habe, aus dem braunen Urin von Personen mit melanotischem Krebs Melanin mit Essig- oder Salzsäure auszufällen. Hoppe-Seyler ist der Ansicht, dass die genannte Reaction mit Oxydationsmitteln nicht in der Gegenwart eines abnormen Farbstoffes im Urin ihren Grund habe, sowie dass das für den Urin von Patienten mit melanotischen Geschwülsten eigenthümliche der Reichthum an Chromogenen sei, die in geringer Menge auch in normalem Urin vorkommen. Er macht darauf aufmerksam, dass aller Urin sich bei der Erwärmung mit Salpetersäure dunkler färbt, wenn auch nicht in dem Maasse wie in Fällen von melanotischen Geschwülsten. Auf Grund eines Falles von melanotischem Carcinom im Bulbus, bei welchem Falle er den Urin untersuchte, nimmt er an, dass die Dunkelfärbung mit Oxydationsmitteln zum Theil auf der Bildung von Indigo beruhe (was auch Dressler [2 S. 68], beobachtet zu haben angiebt). Mit der dunklen Farbe, welche bei der Berührung mit der Luft entsteht, soll dieses dagegen nicht der Fall sein, sondern diese soll in der Bildung eines braunfarbigen, eisenfreien, stickstoffhaltigen Farbstoffes ihren Grund haben, der sich leicht in Wasser und in Alkohol löst, aus welchen Lösungen ihn Chlorbaryum und Ammoniak fällen; ein Absorptionsband gab dieser Farbstoff nicht; derselbe wurde nicht weiter untersucht. Auch Virchow nimmt an, dass der Urin in Fällen von melanotischen Geschwülsten keinen specifischen Farbstoff enthalte. Er betrachtet es als möglich, dass die Chromaturie nicht auf der Bildung von melanotischen Geschwülsten, sondern darauf beruhe, dass die Leber so oft der Platz ist, wo diese Geschwülste sich entwickeln, und dass durch Störungen in den Functionen der Leber in der Urinfarbe Abnormitäten entstehen, auch hält er es nicht für wahrscheinlich, dass derselbe Farbstoff in den Geschwülsten und im Urin vorkommt.

Um hierüber Klarheit zu erhalten, haben Ganghofner & Pribram einen Fall mit multiplen melanotischen Geschwülsten, welcher später zur Section kam, beinahe zwei Monate lang mit der grössten Genauigkeit beobachtet. Temperatur, Puls, Respiration und Körpergewicht, Menge und specifisches Gewicht des Urins, Auftreten der Reaction mit Oxydationsmitteln, Gehalt des Urins an indigobildender Substanz und Menge und Beschaffenheit der Fäces wurden beobachtet und aufgezeichnet. Der Urin gab nicht immer die besprochene Reaction. Das Auftreten derselben war von der Puls- und Respirationsfrequenz und der Anzahl und Beschaffenheit der Entleerungen des Patienten unabhängig. Sie zeigte sich nicht von Indigobildung abhängig; denn war auch die procentische Menge der indigobildenden Substanz gross (während die Urinmenge gering war), so hatte sie doch in 24 Stunden keine Veränderung erlitten, ebenso wurde die Indigoreaction am leichtesten erhalten, nachdem man mit Bleizucker den Chromogen beseitigt hatte. Mit der Temperatur wechselte das Auftreten und Verschwinden der Reaction insofern, als die Menge des gelassenen Urins geringer wurde, sobald die Temperatur stieg. Mit der Menge des in 24 Stunden erhaltenen Urins variirte die Reaction; bei kleiner Urinmenge (175—250 ccm.) mit hohem eigentlichem Gewicht (1,025—1,030) gab der Urin die Reaction, wohingegen dieselbe ausblieb, wenn der Urin sich in Menge (500—1410 ccm.) und eigentlichem Gewicht (1,014—1,025) dem normalen Urin näherte. Wurde der concentrirte Urin mit Wasser verdünnt, bis seine Farbe derjenigen eines blassen Urins glich, so war die Reaction noch immer deutlich zu beobachten. Ein Zusammenhang zwischen Urinreaction und gestörter Leberfunction ist in diesem Falle nicht anzunehmen, denn bei der Autopsie zeigte es sich, dass die Leber wenig angegriffen war. (nur ein Tumor von der Grösse einer Wallnuss fand sich). Bei mehreren anderen Krankheiten, wo die Substanz der Leber in grosser Ausdehnung zerstört war, haben die Verfasser keine bemerkenswerthe Reaction im Urin erhalten. Als Grund für die Annahme, dass die Reaction nicht auf einer relativ

vergrösserten Menge des normalen Urinstoffes, sondern auf der Gegenwart eines specifischen Farbstoffes beruhe, führen sie an, dass die Reaction mit Chromsäure deutlich auch dann hervortrat, wenn der Urin verdünnt wurde, bis seine Färbung nicht stärker war als diejenige normalen Urins; ferner, dass die genannte Reaction nur in Fällen von melanotischen Geschwülsten auftritt, sowie schliesslich, dass aus der Kalkfällung ein schwarzer, pulverartiger amorpher Farbstoff dargestellt werden konnte (auf welche Weise, ist nicht angegeben), der sich in Alkohol und Aether, sowie in kalter Salz- und Salpetersäure unlöslich zeigte, von warmer Salpetersäure aber angegriffen, jedoch nicht entfärbt wurde, sich auch in warmer Kalilauge und Chlor zum Theil löste und entfärbte, und von dem sie annahmen, dass er von dem Pigment in den Geschwülsten herrühre. Dass der Farbstoff aus den Geschwülsten unter irgend einer Form in das Blut übergehen kann und somit im Urin vorkommen können, schliessen sie daraus, dass theils in dem von ihnen beobachteten Fall, theils auch in einigen anderen citirten Fällen ziemlich grosse Tumore resorbirt wurden und spurlos verschwanden. Ausser in den oben angeführten Fällen ist die Urinreaction auch in anderen von Ganghofner und Pribram citirten Fällen beobachtet worden. Zeller macht den Vorschlag, die Reaction mit Bromwasser vorzunehmen, in welchem Falle sie empfindlicher ist, als wenn sie mit Chromsäure ausgeführt wird. Eine grössere Menge Bromwasser giebt einen schmutziggelben amorphen Niederschlag, welcher an der Luft schwarz wird.

Als Resultat der jetzt relatirten Untersuchungen dürfte sich ergeben: dass der Urin von Personen mit melanotischen Geschwülsten bei einem Zusatz von concentrirter Salpetersäure oder Kaliumdichromat mit Schwefelsäure oder freier Chromsäure, ebenso durch die Einwirkung des Lichtes bei der Berührung mit der Luft sich recht oft dunkel färbt; dass es nicht ganz entschieden ist, ob diese Reaction auf einer abnorm grossen Menge der im normalen Urin befindlichen Chromogene beruht oder ob der gebildete Farbstoff für Fälle von melanotischen Geschwülsten specifisch ist; dass es selbst-

verständlich noch viel weniger ermittelt ist; in welcher Beziehung diese Reaction zum Farbstoff in den Geschwülsten steht.

Bei Fällen von melanotischen Geschwülsten hat man ferner im Urin (und im Blute) Pigment in der Form von charakteristischen Körnern beobachtet. So hat Eiselt (l. S. 110) in einem Falle, wo sich Metastasen in den Nieren gebildet hatten, pigmenthaltige Geschwulsttheile im Urin bemerkt. Eberth hat Melanosarkomelemente in Glomeruli und auch in den Urinkanälen gesehen. Nepveu hat im Urin Aggregate von Pigmentkörnern, zuweilen in der Form von Cylindern, gefunden. (Der Urin reagirte mit Salpetersäure und mit Kaliumdichromat.) In den Nieren oder den Harnleitern waren keine Metastasen vorhanden, aber in dem Epithel der Urincanäle war eine schwache Sepiafarbe bemerkbar, welche sich bei starker Vergrößerung von einer schwärzlichen Punctirung bedingt zeigte. In dem Blute desselben Patienten fand er Aggregate von Pigmentkörnern, zuweilen Cylinder bildend, welche den Eindruck einer Herstammung von den Capillargefäßen machten. (Die rothen Blutkörper waren nicht verändert, die Anzahl der weissen war vermehrt.)

Ich gehe jetzt zu einem Berichte über den von mir beobachteten Fall über.

Der Patient war ein rothhaariger Mann von 36 Jahren, Ackerarbeiter. Im Frühjahr 1884 bemerkte derselbe, dass ein Geburtsmal auf einer seiner Schultern zu wachsen begonnen hatte und sich zu einer Geschwulst entwickelte; ein paar Monate später entdeckte er einige subcutane Tumore an den unteren Extremitäten; die Zahl dieser Tumore wuchs sodann unaufhörlich, so dass sie bei der Aufnahme des Patienten in das hiesige Krankenhaus im März 1885 eine ganz bedeutende war. Im Krankenhause befand sich der Patient (mit Ausnahme eines Monats im Sommer, wo er entlassen war) von Mitte März bis zum 30. October 1885, wo er nach mehreren epileptischen Anfällen starb. Der Urin war während der ganzen Zeit klar, ziemlich stark gefärbt (ungefähr wie Fieberharn) und hatte saure Reaction; seine Menge war anfangs 1000 bis 1200 cbcm., gegen das Ende aber, wo der Patient während einiger Zeit Diarrhöe gehabt hatte, war er geringer (600—700 cbcm.) und seine

Farbe war stärker. Das Eigengewicht variierte zwischen 1,020 und 1,028. Für das blosse Auge sichtbare Sedimente wurden nicht abgesetzt und eine mikroskopische Untersuchung wurde leider nicht vorgenommen. In dieser Zeit wurde der Urin wiederholt mit Eiselt's Reaction geprüft, stets aber mit negativem Ergebniss, selbst als er am dunkelsten war. Mit Chromsäure wurde die Farbe, sogar beim Kochen, nur unbedeutend dunkler. Mit Salpetersäure, die mit rauchender Salpetersäure versetzt war, nahm er zwar eine dunklere Farbe an, zumal bei der Erwärmung über Wasserbad, färbte sich aber, wenn er mit Salzsäure bis zu 5–10% HCl (wie Pflösz angiebt) versetzt und im Wasserbade erwärmt wurde, ebenso dunkel wie mit Salpetersäure. Wurde er mit Wasser verdünnt, bis er dieselbe Farbenstärke wie eine Probe von normalem, dunkelgefärbtem Urin hatte, diese beiden Proben dann mit ungefähr gleich viel Säure (HCl oder HNO<sub>3</sub>) versetzt und in einem Wasserbade erwärmt, so war in dem Urin des Melanosarkompatienten keine dunklere Färbung zu bemerken. Ebenso wenig beobachtete ich jemals, dass der Urin, wenn er an der Luft stehen blieb, sich dunkler gefärbt hätte, als auf Grund seiner Concentration zu erwarten war. Eine Andeutung von Eiselt's Reaction konnte ich also niemals bemerken. Der Urin zeigte sich frei von Eiweiss (ausser vielleicht am letzten Tage, wo der Patient epileptische Anfälle hatte), ebenso von Zucker. Auf Blut- und Gallenfarbstoff wurde er einige Mal mit negativem Resultat geprüft. Urobilin fand sich in ihm nur wenig oder doch nicht in nennenswerther Menge. Während der letzten sechs Wochen, welche der Patient lebte, wurde der Urin Tag für Tag gesammelt und mit Barytwasser gefällt, so lange nur immer ein Niederschlag entstand; ebenso wurde das alkalische Filtrat mit Bleizuckerlösung gefällt. Diese Niederschläge wurden gesammelt und untersucht, worüber weiter unten berichtet werden wird.

Im Blute wurden mit dem Mikroskop keine Abnormitäten beobachtet; es zeigten sich in ihm keine Pigmentkörner, und die Form und Farbe der weissen und der rothen Blutkörperchen war unverändert. Am 17. April 1885 wurde der Hämoglobingehalt spectrophotometrisch bestimmt und = 15,4% gefunden. Zählen der Blutkörperchen, ausgeführt am 20. März 1885, hatte auf 1 cbmm. 5,350,000 rothe und auf 500 rothe 1 weisses Blutkörperchen gegeben. Am 5. October wurde der Hämoglobingehalt abermals bestimmt und = 14,7% gefunden. Eine gleichzeitig ausgeführte Zählung der Blutkörperchen ergab 5,800,000 auf 1 cbmm.

Etwas, das ich glaube anführen zu müssen, obgleich ich es nicht wage, es als ein Zeichen davon hervorzuheben, dass das Oxyhämoglobin bei dem betreffenden Patienten von abnormer Beschaffenheit gewesen wäre, ist das Verhältniss zwischen A und A<sup>1</sup>, das eine etwas höhere Zahl gab, als ich sonst zu finden pflegte; diese Zahl war nämlich bei der Untersuchung dreier verschiedener Blutproben resp. 1,46, 1,45, 1,50,

während ich bei der Untersuchung anderen Blutes für das entsprechende Verhältniss niedrigere Werthe erhielt: so für mein eigenes Blut 1,40, 1,37; für das Blut von einem Patienten mit hochgradiger (perniciöser) Anämie + Colitis + Ulcera ilei 1,42, 1,41, 1,39, 1,37; für das Blut von einem Patienten mit acuter Anämie 1,40, 1,36; für das Blut von einer Person mit interstitiellem Nephrit und Anämie 1,39; für das Oxyhämoglobin aus Hundeblood, welches Oxyhämoglobin zur Bestimmung der spectrophotometrischen Constanten angewandt wurde, 1,38. Alle diese Zahlen untersteigen die für das Oxyhämoglobin des Melanosarkompatienten gefundenen nicht unbedeutend. Dass dies nicht auf der Gegenwart des Geschwulstpigmentes im Blute beruhen kann, ist unzweifelhaft, denn dieses Pigment würde auf die betreffende Zahl einen ganz entgegengesetzten Einfluss ausgeübt haben.

Der Patient starb am 30. October 1885. Obducirt wurde er am 2. November. Bei der Obduction wurden unzählige metastatische Melanosarkome nach verschiedenen Richtungen verbreitet gefunden. Die Organe, deren Erwähnung für die hier vorliegende Untersuchung von Interesse sein kann, sind die Leber und die Nieren. In der Leber hatte sich eine recht reiche Metastasenbildung entwickelt, doch nicht in dem Grade, dass der grössere Theil des Leberparenchyms beschädigt gewesen wäre. Die Nieren waren frei von Metastasen. Die Kapsel der einen Niere hing mit einer fast faustgrossen Tumormasse zusammen, aber das Parenchym selbst war in die Tumorbildung nicht hineingezogen. Die Urinwege waren frei von Metastasen. Am 3. und 4. November erhielt ich durch Professor Key's Entgegenkommen Gelegenheit, für meine Untersuchungen einen Theil sarkomatöse Lymphdrüsen in dem Bindegewebe der Unterhaut, zusammen 200—300 gr., zu sammeln.

Ehe ich zum Bericht über die Untersuchung des gesammelten Materials beziehentlich der aus dem Urin mittelst Barytwasser und Bleiacetat erhaltenen Niederschläge und der Geschwülste übergehe, will ich in den Hauptzügen erst den Gang der Untersuchung darlegen und zeigen, wie ich mir die spectrophotometrische Untersuchungsmethode verwendet habe.

Die Farbstofflösungen gaben im Spectrum kein Absorptionsband, sondern nur eine gegen den violetten Theil desselben gleichmässig zunehmende Absorption. Für einen Farbstoff, der ein so beschaffenes Absorptionsspectrum giebt, ist die spectrophotometrische Untersuchung in verschiedenen Spectralregionen von grossem Interesse. Man kann durch

dieselbe ermitteln, in welcher Proportion der Farbstoff Lichtstrahlen von verschiedener Wellenlänge absorbiert, und da die Farbe der Pigmentlösung aus den Lichtstrahlen sich zusammensetzt, welche die Lösung durchlässt, so hat man in der Spectrophotometrie ein Mittel, die Farbe objectiv, nämlich durch Zahlen oder mit einer Curve anzugeben. Lösungen von zwei verschiedenfarbigen Pigmenten können nicht alle verschiedenen Lichtstrahlen in denselben relativen Mengen durchlassen. Die Zahlen, welche für die Relation zwischen der absorbirten (resp. durchgelassenen) Menge Licht von verschiedener Wellenlänge und der aus ihnen resultirenden Curve einen Ausdruck geben, sind für verschiedene Farbstoffe verschieden, und um so verschiedener, je grösser der Unterschied in der Farbe derselben ist. Erhält man den Farbstoff rein, so kann man mittelst der Spectralphotometrie auch einen anderen Charakter desselben feststellen, nämlich seine Farbenstärke, welche umgekehrt dem Absorptionsverhältniss proportional ist, das man für eine jede Spectralregion erhält, wenn man die (in gr. auf 1 ccm. ausgedrückte) Concentration der Lösung mit dem für die verschiedenen Spectralregionen gefundenen Exstinctionscoëfficienten dividirt. Diese Untersuchung kann auch für die Entscheidung über die Reinheit des Farbstoffes einen guten Anhaltspunkt abgeben. Wenn zwei aus völlig verschiedenem Material bereitete Farbstoffpräparate dieselbe Farbe zeigen, d. h. dieselbe relative Lichtabsorption in verschiedenen Spectralregionen, und ferner dasselbe Absorptionsverhältniss in einer gewissen Spectralregion haben (in welchem Falle das Absorptionsverhältniss auch in anderen Regionen gleich ist), mit einem Worte, wenn zwei Präparate sich in den genannten beiden Hinsichten übereinstimmend zeigen, so kann man mit der grössten Wahrscheinlichkeit zwei wichtige Schlüsse ziehen, nämlich theils dass diese Präparate identisch, theils dass sie rein seien, was auf andere Weise nur sehr schwer in Beweis geleitet werden kann, wenn es sich, wie hier, um Farbstoffe handelt, die sich nicht krystallisiren lassen und auch keine bestimmten Verbindungen geben. Es ist nämlich kaum denkbar, dass zwei

verschiedene Farbstoffe, oder von einem Farbstoff zwei Präparate, mit verschiedenen Verunreinigungen (anderen Farbstoffen und ungefärbten Substanzen) untermischt in diesen Hinsichten übereinstimmen könnten. Man müsste dann bei der Elementaranalyse auch für beide Präparate dieselbe procentische Zusammensetzung finden, oder, wenn sich dabei eine nur geringe Verschiedenheit zeigt, zu der Annahme berechtigt sein, dass diese in einer unwesentlichen Veränderung des Farbstoffes oder in der Gegenwart einer unbedeutenden (aber auch nur unbedeutenden) Menge fremder Stoffe ihren Grund habe. Es ist dieser Gedanke, welcher meinen Untersuchungen der aus dem Urin und den Geschwülsten des mehrerwähnten Patienten erhaltenen Präparate zu Grunde gelegen hat.

Zur spectrophotometrischen Untersuchung, ebenso wie zur Bestimmung des Oxyhämoglobins, habe ich Schultze's Absorptionszelle und Hüfner's Spectrophotometer angewandt, und bin damit sehr zufrieden gewesen. Dennoch glaube ich, dass Vierordt's Apparat in einer Hinsicht besser gewesen sein würde. In dem Hüfner'schen Instrument geht nämlich durch die Polarisation ein grosser Theil des Lichtes verloren, und die Untersuchung ist in Folge dessen in dem stärker gebrochenen Theil des Spectrums, der bei Anwendung einer Petroleumflamme als Lichtquelle schon an und für sich schwach ist, sehr erschwert. Ich habe die Untersuchung aus diesem Grunde auch nicht weiter als bis ungefähr zur Mitte zwischen den Linien F und G ausdehnen können, und wie man aus den Curven ersieht, hat die Präcision, mit welcher die Untersuchung sich ausführen liess, in den diesem Theil des Spectrums entsprechenden Regionen abgenommen.

Die Untersuchung habe ich auf folgende Weise ausgeführt: Ich trocknete eine hinreichend grosse Quantität (ein paar cgr.) des Farbstoffes bei 100—105° bis zu constantem Gewicht und löste diese Menge in einem abgemessenen Volumen Natronlauge N/10, so dass ich eine Lösung von der Farbenstärke erhielt, welche für die Untersuchung im rothen

Theil des Spectrums, wo das Licht am wenigsten absorbiert wird, erforderlich ist. Hierauf untersuchte ich das Spectrum der filtrirten Lösung in den angrenzenden Regionen, und zwar indem ich vom Roth nach dem Blau ging. Kam ich dabei in eine Region, wo die Absorption so stark war, dass die Reihe nicht fortgesetzt werden konnte, so verdünnte ich die Lösung mit destillirtem Wasser (gewöhnlich mit einem gleichen Volumen) und setzte dann mit dieser verdünnten Lösung die Untersuchung fort. Beim Einstellen auf Gleichheit in den beiden Spectra war ich stets bestrebt, die Mitte der abgegrenzten Spectralregion zu treffen, weshalb ich auch alle Zahlenangaben über die Lage der Region auf ihre Mitte referire, obschon eine jede Region gewöhnlich unmittelbar an die vor oder nach ihr untersuchte gegrenzt hat. Für jede Region habe ich vier Einstellungen und Ablesungen gemacht, zwei nach jeder Seite, und aus diesen vier Gradzahlen dann die Mittelzahl als Drehungswinkel für die Mitte der untersuchten Region genommen und daraus den Exstinctionscoefficienten berechnet, wobei ich für die Region, wo eine verdünnte Lösung zur Untersuchung gekommen, den erhaltenen Exstinctionscoefficienten mit der die Verdünnung angegebenden Zahl multiplicirt und ihn auf diese Weise für die ursprüngliche Lösung berechnet habe. Man erhält solcherart eine Reihe von Zahlen, welche die Exstinctionscoefficienten für eine continuirliche Folge von Spectralregionen angeben. Diese Reihe von Exstinctionscoefficienten kann selbstverständlich nicht unmittelbar mit der entsprechenden Reihe für eine andere Farbstofflösung verglichen werden, sondern man muss zu diesem Zwecke einen für beide Reihen gemeinsamen Ausgangspunkt schaffen, oder, wenn man an die Curven denkt, welche die Reihen wiedergeben, sie für zwei entsprechende Punkte der Curven auf gleiche Höhe über der Abscisse reduciren und die übrigen Exstinctionscoefficienten in Proportion zu dieser Höhe berechnen. Wenn man für zwei solche Reihen von Exstinctionscoefficienten den Exstinctionscoefficienten für eine gewisse Spectralregion gleich 100 annimmt und die übrigen Zahlen proportional dieser

Einheit umrechnet, so erhält man zwei Reihen von relativen Exinctionscoëfficienten, aus denen man für eine jede der untersuchten Spectralregionen erschen kann, wie viel Licht die eine Farbstofflösung im Vergleich zur andern durchlässt (resp. absorhirt). Als Ausgangspunkt kann selbstverständlich jede beliebige Spectralregion dienen. Die Region, welche ich dazu erwählte, ist D 38 E, welche einer Wellenlänge von  $\frac{562}{1000000}$  mm. entspricht; ich habe mich für diese Region entschieden, theils weil sie zu den spectrophotometrisch leichter zu untersuchenden Regionen gehört (da es ja von grosser Bedeutung ist, dass der Ausgangspunkt für den Vergleich zwischen zwei verschiedenen Farbstofflösungen so sicher als möglich bestimmt wird), theils weil die Lichtabsorption in dieser Region stärker ist als in andern hierfür sich eignenden, mithin die Berechnung des Absorptionsverhältnisses für sie die möglichst genaue Zahl giebt, theils auch weil diese Region nahezu mit einer der Regionen zusammenfällt, welche ich im Spectrum des Oxyhämoglobins untersucht hatte und die Zahlen für dieselbe daher einen directen Vergleich zwischen der Farbenstärke der Melanosarkomfarbstoffe und derjenigen des Oxyhämoglobins ermöglichen.

Die Zahlen, welche den Exinctionscoëfficienten für verschiedene Theile des Spectrums angeben, bieten, wenn man sie graphisch darstellt, die beste Uebersicht. Ich füge deshalb Curven für die verschiedenen Versuchsreihen bei. In diesen Curven geben die Ordinatenwerthe den relativen Exinctionscoëfficienten und die Abscisse die Spectralregionen an, welche durch die in Milliontel Millimetern angegebene Wellenlänge ausgedrückt sind. Der Deutlichkeit wegen habe ich für die Curven der verschiedenen Präparate die Abscisse in verschiedene Höhen verlegt, was man aus den neben den Curven angegebenen Ordinatenwerthen erschen kann.

Eine andere, ebenfalls spectrophotometrische Methode, welche ich bei der Analyse der Farbstoffpräparate zur Be-

stimmung des Eisens benutzte, glaube ich hier ebenfalls im Voraus besprechen zu müssen. Da die Farbstoffpräparate nur eine unbedeutende Menge Eisen enthielten (ungefähr  $\frac{1}{5}$  %) und die Menge des erhaltenen Farbstoffes sehr begrenzt war (die grösste Menge, welche ich von einem Präparat hatte, war  $2\frac{3}{4}$  gr., von anderen Präparaten hatte ich nur  $\frac{1}{2}$  gr.), so würde eine Bestimmung des Eisens nach der gewöhnlichen gewichtsanalytischen oder titrimetrischen Methode sehr unsicher oder ganz unausführbar gewesen sein, selbst wenn ich zu diesem Zwecke all' mein Material verbraucht hätte (in dem Präparat, von dem ich am meisten hatte, fanden sich im Ganzen 5 mgr. Eisen). Ich war daher genöthigt, mir eine Methode zu schaffen, nach welcher das Eisen mit genügender Sicherheit auch dann bestimmt werden konnte, wenn seine Menge minimal war, und dabei ist mir das Spectrophotometer von grossem Nutzen gewesen.

Vierordt (2, S. 61) hat das Absorptionsspectrum des Eisenrhodanids einer spectrophotometrischen Untersuchung unterzogen, um dann mit Hülfe der dabei erhaltenen Data das im Speichel enthaltene Rhodan zu bestimmen. Die Lösung, welche untersucht werden sollte, wurde von ihm mittelst Salzsäure (die Stärke derselben ist nicht angegeben) sauer gemacht und dann mit Eisenammoniakalaun versetzt. Wenn er sagt (S. 65), dass das Eisen sich selbstverständlich durch Zusatz von Rhodankalium zu einer Eisenoxydsalzlösung und Untersuchung des Spectrums des dadurch entstandenen Eisenrhodanids quantitativ bestimmen lässt, so liegt es nahe anzunehmen, dass man nur die Lösung mit Salzsäure sauer zu machen und ihr sodann so viel Rhodankalium zuzusetzen habe, als das in ihr befindliche Eisensalz für die Bildung von Eisenrhodanid fordert. Ganz so einfach ist es aber nicht, denn will man constante Resultate erhalten, so hat man auch den Einfluss der freien Salzsäure auf die Bildung von Eisenrhodanid zu berücksichtigen. Wie bekannt, muss die Lösung, wenn die Farbe des Eisenrhodanids hervortreten soll, von einer Mineralsäure sauer sein, andererseits aber kann freie Salzsäure auf die Stärke der Farbe so

einwirken, dass dieselbe bei Anwesenheit einer grösseren Menge freier Säure schwächer ist als bei einem geringeren Säuregrad.

Ehe ich die Fehlerquellen angebe, welche, wie ich gefunden, die spectrophotometrische Bestimmung des Eisens als Eisenrhodanid unsicher machen können, und die Art und Weise, auf welche diese Fehler sich eliminiren lassen, will ich erst die Methode beschreiben, so wie ich sie ausgearbeitet habe und sie meines Erachtens gute Resultate giebt. Um die spectrophotometrische Constante für Eisen in der Form von Eisenrhodanid festzustellen, bestimmte ich die Menge des Eisens in einer Lösung von Eisenchlorid mittelst der Gewichtsanalyse. Von dieser Lösung, welche 0,32 % Eisen enthielt, wurden 25 ccm. mit zwei Tropfen HCl (25 %) versetzt, so dass die gelbbraune Farbe des etwas basischen Eisenchlorids sich in eine rein gelbe verwandelte, darauf das Ganze auf 500 ccm. verdünnt, wo dann der Eisengehalt 0,016 % Fe war. Von dieser Lösung wurden, um die Concentration derselben für die spectrophotometrische Untersuchung geeignet zu machen, Theile abgemessen und durch Zusätze von Wasser und so vieler Salzsäure verdünnt, dass die Menge von HCl, nachdem die abgemessene Menge Rhodankaliumlösung zugesetzt worden, 0,5 % betragen musste. Das (von Kaliumcarbonat freie) Rhodankalium wurde in einer Lösung von 20 % (nach dem Volumen gerechnet) angewendet und von ihm so viel zugesetzt, dass seine Menge mehr als hinreichend war, um sich mit der freien Salzsäure umsetzen zu können; von der genannten Rhodankaliumlösung pflegte ich deshalb so viel zuzusetzen, dass sie  $\frac{1}{8}$  der ganzen Mischung (sauer von HCl 0,5 %) ausmachte. Hierauf wurde die Lösung filtrirt und spectrophotometrisch untersucht. Die Bestimmungen führte ich in drei verschiedenen Regionen aus, um mich dann bei der Anwendung der Methode in weiteren Grenzen bewegen zu können. Die Lichtabsorption im Spectrum des Eisenrhodanids nimmt nämlich gegen den violetten Theil des Spectrums stark zu, weshalb eine Lösung, deren Concentration eine Untersuchung in dem einen Theil des Spectrums nicht

zulässt, für die Untersuchung in einer anderen Region passend sein kann. Die untersuchten Regionen waren:

C 92 D — D 12 E — Mitte = Wellenlänge 587.

D 49.4 E — D 67 E — Mitte = Wellenlänge 550.

E 45 F — E 65 F — Mitte = Wellenlänge 503.

Um theils über die Untersuchungen in den verschiedenen Regionen eine Controle zu geben, theils um zu zeigen, dass es immer dieselbe Rhodanverbindung ist, welche ich in den verschiedenen Fällen untersucht habe, führe ich hier auch die Relation zwischen dem Absorptionsverhältniss (resp. dem Extinctionscoefficienten) in den verschiedenen Regionen an. Die Concentration ist in gr. Fe auf 1 cbcm. angegeben, und die Zahlen für das Absorptionsverhältniss beziehen sich natürlich auf diese Beziehungsweise. Siehe Tabelle 2.

**Tabelle 2.**

No.	Concentration gr. Fe in 1 cbcm.	Extinctionscoefficient.			Absorptionsverhältniss.			A <sub>1</sub> /A <sub>2</sub>	A <sub>2</sub> /A <sub>3</sub>
		Wellenl. = 587 ε <sub>1</sub>	Wellenl. = 550 ε <sub>2</sub>	Wellenl. = 503 ε <sub>3</sub>	Wellenl. = 587 A <sub>1</sub>	Wellenl. = 550 A <sub>2</sub>	Wellenl. = 503 A <sub>3</sub>		
1	0,00001	0,357	0,710	1,174	0,0000280	0,0000141	0,0000085	1,99	1,65
2	0,00001	0,377	0,745	1,245	0,0000266	0,0000134	0,0000080	1,98	1,67
3	0,00002	0,761	1,556	—	0,0000263	0,0000129	—	2,04	—
4	0,00001	0,386	0,778	1,329	0,0000259	0,0000129	0,0000075	2,01	1,67
5	0,00001	0,387	0,823	1,408	0,0000258	0,0000121	0,0000071	2,12	1,71
Mittel =					0,000026	0,000013	0,0000077	2	1,7

Wie bekannt, zeigt sich das Eisenrhodanid sehr unbeständig, und lässt man die Lösung einige Zeit stehen, bleicht sie bald ab. In der Wärme geht diese Veränderung sehr schnell vor sich. Um nun zu ermitteln, ob eine solche Veränderung auch bei meinen Untersuchungen, welche bei ziemlich hoher Zimmertemperatur ausgeführt wurden, in nennenswerthem Grade stattgefunden hatte, kühlte ich die Lösung beim Versuch No. 5 bis auf 0° ab, bevor ich die ebenfalls abgekühlte Rhodankaliumlösung zusetzte; ebenso hatte ich

die Absorptionszelle abgekühlt. Die Untersuchung selbst wurde möglichst beschleunigt. Die dabei gefundenen Zahlen zeigen keine bedeutendere Differenz mit der Mittelzahl.

Die Untersuchung wurde stets möglichst bald nach dem Zusatz der Rhodankaliumlösung vorgenommen. Um zu sehen, von welchem Einfluss es ist, wenn man die Untersuchung erst später ausführt, liess ich einen Theil der Lösung No. 3 eine Zeit von 9 Stunden in einer Temperatur von ungefähr  $22^{\circ}$  C. stehen und bestimmte erst dann den Exstinctionscoefficienten  $\epsilon_{,,}$ , welcher von 1,556 auf 1,226, also um 21% gesunken war; bei demselben Versuche mit Lösung No. 4 sank  $\epsilon_{,,}$  von 0,778 auf 0,605, also um 22%. Die spectrophotometrische Untersuchung ist also möglichst bald nach dem Zusetzen der Rhodankaliumlösung auszuführen.

Die Menge der in der Lösung gegenwärtigen Salzsäure ist von einer noch grösseren Bedeutung. Bei gänzlichem Fehlen freier Mineralsäure tritt die Farbe nicht hervor. Bei Mangel an freier Säure kann sie schwächer als bei einem Ueberschuss derselben sein. Eine Lösung (Conc. = 0,000005 gr. Fe auf 1 cbcm.), welche nur 0,25% HCl enthielt, gab für die resp. Absorptionsverhältnisse folgende Zahlen:  $A_1 = 0,0000355$ ,  $A_{,,} = 0,0000166$ ,  $A_{,,,} = 0,0000097$ ; also absorbirte sie das Licht schwächer als eine Lösung mit 0,5% HCl. Von der grössten Bedeutung ist es, wenn das Rhodankalium nicht hinreicht, um sich mit aller Salzsäure umzusetzen. Eine Eisenchloridlösung (Conc. = 0,00004 gr. Fe auf 1 cbcm.) mit 1% HCl, die nur den vierten Theil so viel Rhodankaliumlösung enthielt, als der Menge freier HCl entsprach, gab  $A_1 = 0,000054$ ,  $A_{,,} = 0,000025$ . Eine Lösung mit 1% HCl, aber nur dem zehnten Theil der erforderlichen Menge Rhodankalium, gab  $A_1 = 0,000072$ ,  $A_{,,} = 0,000034$ ,  $A_{,,,} = 0,000017$ . Eine Lösung (Conc. = 0,00001 gr. Fe auf 1 cbcm.) mit 5% HCl, aber nur einem Fünfzigstel der Rhodankaliummenge, welche der Salzsäure entsprechend war, gab  $A_1 = 0,000092$ ,  $A_{,,} = 0,000047$ ,  $A_{,,,} = 0,000023$  und hatte also nicht den dritten Theil der Farbenstärke, welche das Eisenrhodanid bei den oben angeführten Versuchen gezeigt

hatte. Es ist daher von grosser Bedeutung, dass eine gekannte Menge Salzsäure angewandt und dass so viel Rhodankalium zugesetzt wird, als erforderlich ist, um alle freie Salzsäure zu binden. Ein Gehalt von 0,4—0,5 % HCl in der zur Untersuchung angewandten Lösung hat sich gross genug erwiesen. Bei der Anwendung der Methode habe ich zur Vermeidung der Bildung basischen Eisenchlorids die Probe (bei meinen Versuchen den nach der Verdampfung einer Eisenchloridlösung über Wasserbad zurückgebliebenen Rest) in einer so grossen Menge Salzsäure (25 %) gelöst und erst dann so weit verdünnt, dass die Lösung, nachdem sie durch Zusatz von Wasser und 20procentiger Rhodankaliumlösung das gewünschte Volumen erhalten hatte, 0,4—0,5 % HCl enthielt. Wenn ich mich, was ja ganz natürlich ist, zuweilen in Ungewissheit befand, welches Volumen der Lösung zu geben sei, um sie von einer für die spectrophotometrische Untersuchung geeigneten Concentration zu erhalten, so mass ich von der mit Wasser versetzten Lösung einen Theil ab und gab eine entsprechende Menge von der Rhodankaliumlösung zu, so dass ich dann, wenn die Lösung sich für die spectrophotometrische Untersuchung zu stark oder zu schwach erwies, dem andern Theil derselben eine passende Concentration geben konnte.

Wenn man die Vorsicht gebraucht, dass man nur mit Lösungen arbeitet, deren Gehalt an HCl (ungefähr 0,5 %) man kennt, dass man einen Ueberschuss von Rhodankalium zusetzt, die Lösung gleich nach dem Zusetzen des Rhodankaliums (und der Filtrirung) untersucht, so giebt die Methode gute Resultate und erfüllt die Forderung, welche ich an sie gestellt habe, nämlich: sie ermöglicht die Bestimmung minimaler Eisenmengen. Ich habe mittelst dieser Methode die Eisenmengen ohne Schwierigkeit bestimmen können, selbst wenn die Menge des Eisens, mit dem ich zu arbeiten hatte, 0,1 mgr. nicht überstieg oder noch gar nicht erreichte.

Als Probe von der Anwendbarkeit der Methode mag folgende Beleganalyse dienen. Eine Eisenchloridlösung von bestimmter Stärke wurde zu zwei Proben mit mir unbe-

kanntem Eisengehalt verdünnt. Die Zahlen, welche ich dann bei der spectrophotometrischen Bestimmung des Eisens erhielt, stellten sich zu den wirklichen Zahlen wie folgt: der Eisengehalt der einen Lösung war 0,0376 %, und die spectrophotometrische Bestimmung gab 0,0378 %; die andere Lösung enthielt 0,032 % Eisen, und die spectrophotometrische Untersuchung gab 0,0328 %.

Ich gehe nun zu dem detaillirten Bericht über die Untersuchungen des von dem mehrerwähnten Melanosarkompatienten erhaltenen Materiales, der Geschwülste und der aus dem Urin mit Barytwasser und mit neutralem Bleiacetat erhaltenen Niederschläge über.

1. Der Barytniederschlag aus dem Urin ist zwar derjenige Niederschlag, welchen ich zuletzt in Arbeit nahm, aber da ich auf Grund der mit dem übrigen Material gewonnenen Erfahrung den in ihm enthaltenen Farbstoff auf die einfachste Weise zu isoliren vermochte, ich aus ihm auch die grösste Menge Farbstoff erhielt, so berichte ich zuerst über die Untersuchung dieses Materiales. Wie ich bereits erwähnt habe, wurde der Urin sechs Wochen hindurch Tag für Tag gesammelt und mit Barytwasser gefällt, so lange dieses einen Niederschlag gab. Der Niederschlag wurde auf ein Filtrum gebracht, in einem grossen Cylinder mit Wasser aufgeschwemmt und durch Dekantiren ein bis zwei Mal täglich gewaschen. Der auf diese Weise gesammelte, hell braun-gelb gefärbte Barytniederschlag wurde auf ein Tuch genommen, mit Wasser gewaschen und ausgepresst. Hierauf wurde er mit concentrirter Sodalösung bei Anwendung gelinder Wärme zersetzt, wobei der grösste Theil des Farbstoffes sich löste und abfiltrirt wurde<sup>1)</sup>. Die dunkelfarbige, beinahe braun-

<sup>1)</sup> Der von der Sodalösung befreite Barytniederschlag war rosafarbig. Mit Spiritus und Schwefelsäure war die Farbe herauszuziehen, und es wurde dann eine gelbrothe Lösung erhalten, welche selbst in einem dicken Lager kein Absorptionsband gab; nach Uebersättigung mit Soda entstand eine braungelbe Lösung, aus der nach der Verdampfung

schwarze Lösung wurde mit einem Ueberschuss von Schwefelsäure versetzt, wo dann das Meiste der Farbe gefällt wurde. (Das Filtrat war zwar gefärbt, aber da diese Farbe durch Bleiacetat nicht ausgefällt werden konnte, nachdem die Lösung alkalisch gemacht worden, so wurde sie nicht gesammelt.) Der Niederschlag wurde in verdünnter Natronlauge gelöst, mit Essigsäure im Ueberschuss versetzt, wo das Meiste der Farbe ausfiel ( $\alpha$ ), ein Theil derselben aber in das Filtrat überging ( $\beta$ ) (theils aufgeschwemmt, theils gelöst), wieder in NaOH gelöst und mit Essigsäure im Ueberschuss gefällt; bei der Filtrirung ging auch jetzt ein Theil des Niederschlages durch das Filtrum, und als das Filtrat schliesslich klar abfloss, zeigte es sich hellgelb gefärbt (das Filtrat wurde mit dem vorigen vereinigt). Um die möglicherweise in dem Niederschlage gegenwärtige Harnsäure zu beseitigen, wurde der Niederschlag in Natronlauge gelöst (in so grosser Menge, dass der Farbstoff nicht von Barytwasser ausgefällt wurde) und mit Barytwasser versetzt; nach 24 Stunden wurde der abgesetzte Niederschlag (kohlensaurer Baryt und etwas Farbstoff, womit die Murexidprobe keine Reaction gab) abfiltrirt und die Lösung mit concentrirter Essigsäure in grossem Ueberschuss gefällt, der Niederschlag mit Wasser gewaschen, bis dasselbe neutral reagirte, erst in Weingeist, dann in Aether aufgeschwemmt und schliesslich über Wasserbad getrocknet. Das Filtrat ( $\beta$ ), welches durch den aufgeschwemmten Farbstoff getrübt war, wurde mit Barytwasser versetzt, wo sich der grösste Theil des Farbstoffes als Niederschlag ausschied; dieser Niederschlag wurde über Wasserbad mit Essigsäure (50—75%) behandelt und dadurch zum Theil gelöst; das, was sich nicht in Essigsäure löste, wurde in Natronlauge gelöst, mit Barytwasser versetzt (um die vielleicht gegenwärtige Harnsäure zu beseitigen), mit Essigsäure gefällt, in schwacher Salzsäure (0,5%) aufgeschwemmt, mit Wasser, mit Weingeist und Aether ausgewaschen, getrocknet und dann mit dem Präparat

des Weingeistes der Farbstoff ausschied, der mit Wasser ausgewaschen und verbrannt wurde, und dessen Asche, auf Eisen untersucht, ein negatives Resultat gab.

aus der Fällung ( $\alpha$ ) vereinigt. Das, was sich in der Essigsäure (50—75%) löste, wurde durch Verdünnung mit Wasser und einem Zusatz von Barytwasser (doch nicht so gross, dass die Säure dadurch neutralisirt werden konnte) gefällt, mit Wasser, mit Weingeist und Aether gewaschen und über Wasserbad getrocknet.

Ich hatte also zwei Präparate dargestellt, die sich durch verschiedene Löslichkeit in starker Essigsäure von einander unterschieden. Von dem einen, dem in Essigsäure unlöslichen oder schwer löslichen Stoff wurden im Ganzen 2,78 gr. erhalten. Von dem andern, der sich in der Essigsäure löste, bekam ich 18 cgr. Der angegebene Unterschied scheint mir jedoch mehr graduell als absolut gewesen zu sein, denn als das erstere Präparat aus seiner Lösung in Alkali durch einen Zusatz von Essigsäure im Ueberschuss gefällt wurde, hielt sich das Filtrat lange schwach gelb gefärbt, was zum Theil von aufgeschwemmtem Farbstoff (derselbe flockte sich nämlich bei der Fällung mit Essigsäure nicht gut), zum Theil aber auch von aufgelöstem Farbstoff herrührte.

1. Der in Essigsäure (50—75%) unlösliche Farbstoff, erhalten aus dem Barytniederschlag, bildete in trockner Form ein braunschwarzes, amorphes Pulver, welches bei der Erhitzung bis sogar 120° keine Tendenz zeigte zu schmelzen oder zusammenzubacken. Derselbe war unlöslich in Wasser, Weingeist, Aether, Amylalkohol, Chloroform und verdünnten Säuren; schwefelsäurehaltiger Weingeist löste von ihm beim Kochen etwas, aber nur wenig. Von concentrirter Schwefelsäure wurde er in der Kälte theilweise mit brauner Farbe gelöst und bei Zusatz von Wasser ausgefällt. In concentrirter Essigsäure löste er sich nicht, selbst nicht bei anhaltendem Kochen (auch beim Kochen mit Zinn und Eisessig löste er sich nicht). In Alkalien löste er sich sehr leicht. In verdünnter Natronlauge, in Ammoniak, Sodalösung und auch in einer schwachen Lösung von Dinatriumphosphat löste er sich sehr leicht. Aus seiner Lösung in verdünnter Natronlauge wurde

der Farbstoff durch Zusatz von Barytwasser, Chlorbaryum oder Magnesiumsulfat gefällt; in stärkerer Natronlauge (1—2%) gelöst, wurde er durch Barytwasser bedeutend träger gefällt, und um einen Niederschlag zu erhalten, musste man eine grosse Menge der Reagens zusetzen; aus der Lösung in Natronlauge wurde er sehr leicht und vollständig durch Bleiacetat gefällt. In verdünntem Ammoniak gelöst, wurde er auch leicht von Barytwasser, Magnesiumsulfat oder Bleiacetat gefällt. Aus der Lösung in Dinatriumphosphat wurde bei Zusatz von Chlorbaryum alle Farbe gefällt; die Lösung in Dinatriumphosphat konnte mit Salzsäure bis zu stark saurer Reaction und nahezu gänzlichem Verschwinden der alkalischen Reaction versetzt werden, ohne dass ein Niederschlag entstand; die Reaction war voll so stark sauer wie die eines stark sauren Harns; Zusatz von mehr Salzsäure rief einen Niederschlag hervor. Von Salpetersäure (25%) wurde der Farbstoff in der Wärme leicht angegriffen und mit gelber Farbe gelöst, welche Farbe bei Zusatz von Ammoniak stärker wurde.

Der Farbstoff enthielt eine bedeutende Menge Asche, 0,2570 gr. Substanz (bei 110—115° getrocknet) gaben 0,0241 gr. Asche, also 9,38%. Die Asche war rothbraun, und sie löste sich nur theilweise in Salzsäure, wobei Kalk, Baryt und Eisen in die Lösung gingen. Phosphorsäure fand sich nicht vor: das Ungelöste zeigte sich aus Baryumsulfat bestehend; inwiefern sich in der Asche Kieselsäure fand, wurde nicht untersucht, aber auch wenn sich solche dort gefunden hätte, so würde ihre Menge doch nur eine sehr geringe gewesen sein.

Die Lösung in Alkali war dunkel rothbraun; bei Verdünnung wurde sie gelbbraun und schliesslich gelb. Für das Spectroscop zeigte sie kein Absorptionsband, sondern eine allgemeine Lichtabsorption, welche gegen das violette Ende des Spectrums hin an Stärke zunahm.

Um zu veranschaulichen, wie die spectrophotometrischen Untersuchungen ausgeführt wurden, sind in der Reihe, über welche ich zuerst berichte, auch die auf dem Spectrophoto-

meter abgelesenen Gradzahlen und die Grenzen der untersuchten Regionen angegeben.

Von der bei 100—105° getrockneten Substanz wurden 0,0197 gr., welche 0,0178 gr. aschenfreier Substanz entsprechen, abgewogen, und in 25 cbcm. NaOH (N/10) gelöst, was leicht und vollständig geschah. Die filtrirte Lösung wurde spectrophotometrisch untersucht. Siehe Tabelle 3.

Tabelle 3.

Region.	Wellenlänge der Mitte.	Abgelesene Grade		Graden-Mittel.	Exstinctions-coëfficient $\epsilon$		Relative $\epsilon$
		links.	rechts.		$\epsilon$	$\epsilon \times 2$	
A 46 B — B 14 C	694	{ 57,7 56,9 }	{ 58,7 58,3 }	57,9	0,55		31
B 14 C — B 84 C	670	{ 61,3 61,5 }	{ 61,6 62,1 }	61,6	0,65		37
B 84 C — C 19 D	650	{ 65,4 65,2 }	{ 65,9 66,1 }	65,6	0,77		44
C 19 D — C 43 D	632	{ 68,2 68,3 }	{ 68,9 68,9 }	68,6	0,88		50
C 43 D — C 68 D	616	{ 71,6 71,6 }	{ 72,0 72,1 }	71,8	1,01		58
C 68 D — C 92 D	601	{ 74,7 74,5 }	{ 75,1 74,7 }	74,7	1,16		66
					$\epsilon$ 1)	$\epsilon \times 2$	
C 92 D — D 12 E	587	{ 63,0 62,6 }	{ 63,6 63,5 }	63,2	0,69	1,38	79
D 12 E — D 30 E	574	{ 65,5 65,1 }	{ 66,1 66,4 }	65,8	0,77	1,55	88
D 30 E — D 47 E	562	{ 68,2 68,0 }	{ 68,8 69,3 }	68,6	0,88	1,75	100
D 47 E — D 65 E	551	{ 71,0 70,9 }	{ 71,1 71,3 }	71,2	0,98	1,96	112
D 65 E — D 82 E	541	{ 73,3 73,4 }	{ 73,8 73,8 }	73,6	1,10	2,20	125
D 82 E — E	532	{ 75,2 75,3 }	{ 75,7 75,6 }	75,5	1,20	2,40	137

1) Die Lösung wurde mit einem gleichen Volumen Wasser verdünnt.

Tabelle 3. (Fortsetzung.)

Region.	Wellenlänge der Mitte.	Abgelesene Grade		Graden-Mittel.	Extinctionscoëfficient		Relative $\epsilon$
		links.	rechts.		$\epsilon$	$\epsilon \times 4$	
E - E 20 F	522	{ 62,6 62,5 }	{ 63,2 63,1 }	62,8	0,68	2,72	155
E 20 F - E 40 F	513	{ 64,4 64,6 }	{ 64,7 64,7 }	64,6	0,73	2,94	168
E 40 F - E 60 F	505	{ 65,9 66,0 }	{ 66,5 66,5 }	66,2	0,79	3,15	182
E 60 F - E 80 F	497	{ 68,1 67,5 }	{ 67,8 67,0 }	67,6	0,84	3,35	191
					$\epsilon^2$ )	$\epsilon \times 8$	
E 80 F - F 6 G	488	{ 53,9 53,2 }	{ 53,6 54,1 }	53,7	0,46	3,64	208
F 6 G - F 24 G	476	{ 55,4 55,1 }	{ 55,7 55,4 }	55,4	0,49	3,93	224
F 24 G - F 54 G	461	{ 59,0 58,5 }	{ 58,8 58,3 }	58,7	0,57	4,55	260
F 54 G - F 84 G	445	{ 60,0 61,1 }	{ 60,7 61,0 }	60,7	0,62	4,97	284

Die Reihe der relativen Extinctionscoëfficienten ist graphisch durch die Curve No. 1, Tafel 1, ausgedrückt.

Für die Region = Wellenlänge 562 war also das Absorptionsverhältniss ( $= \frac{\text{Conc.}}{E}$ ) = 0,000406, für die aschenfreie Substanz berechnet. Dieselbe Constante kann mit Hülfe der Zahlen in der Tabelle oder der Curve natürlicherweise mit Leichtigkeit auch für jede andere Region berechnet werden.

Um die Untersuchung zu controliren, theile ich noch eine solche Reihe spectrophotometrischer Messungen mit. 0,0119 gr. Substanz (bei 100—105° getrocknet), einer aschen-

1) Die Lösung wurde nochmals mit einem gleichen Volumen Wasser verdünnt.

2) Die Lösung wurde nochmals mit einem gleichen Volumen Wasser verdünnt.

freien Substanz von 0,0108 gr. entsprechend, wurden abgewogen und in 20 cbcm. NaOH (N/10) gelöst, filtrirt und untersucht. Siehe Tabelle 4.

Tabelle 4.

Wellenlänge.	Graden-Mittel.	Extinctions-coëfficient $\epsilon$		Relative $\epsilon$	Wellenlänge.	Graden-Mittel.	Extinctions-coëfficient $\epsilon$		Relative $\epsilon$
		$\epsilon$	$\epsilon \times 2$				$\epsilon$	$\epsilon \times 2$	
694	54,1	0,46		31	541	69,8	0,92	1,85	125
670	57,5	0,54		36	532	71,7	1,01	2,01	136
650	61,8	0,65		44	522	73,6	1,10	2,20	149
632	64,8	0,74		50					
616	67,8	0,84		57			$\epsilon^2$	$\epsilon \times 6$	
601	70,8	0,97		65	513	51,2	0,41	2,44	165
587	73,8	1,11		75	505	52,7	0,43	2,61	177
		$\epsilon^1$	$\epsilon \times 2$		497	54,2	0,47	2,79	189
574	61,9	0,65	1,31	89	488	56,5	0,52	3,10	210
562	64,7	0,74	1,48	100	476	58,9	0,57	3,44	233
551	67,2	0,82	1,65	112	461	61,5	0,64	3,86	261
					445	64,7	0,74	4,43	300

Die Curve No. 2, Tafel 1, giebt eine graphische Darstellung der für den relativen Extinctionscoëfficienten erhaltenen Werthe. Die Curven laufen treu neben einander und fallen, wie es auch sein muss, theilweise zusammen. Bei der Untersuchung der stärker gebrochenen Theile des Spectrums machen die Observationsfehler sich am meisten geltend. Die grösste Differenz findet sich in der am stärksten gebrochenen Region (Wellenlänge 445). Es ist nicht unmöglich, dass diese Verschiedenheit auf einer Veränderung des Farbstoffes beruht, denn zwischen den beiden Untersuchungen liegt eine Zeit von ein paar Monaten, und der Farbstoff ist bei der Aufbewahrung allem Anschein nach nicht unveränderlich, doch halte ich es mehr wahrscheinlich, dass die Ursache derselben

1) Die Lösung wurde mit einem gleichen Volumen Wasser verdünnt.

2) Die Lösung wurde nochmals mit zwei Volumen Wasser verdünnt.

in einem Observationsfehler zu suchen ist. Um den relativen Exstinctionscoefficienten zu 284, wie in der ersten Serie, anstatt zu 300 zu erhalten, hätte die abgelesene Gradzahl nicht 64,7, sondern 63,5 sein müssen. In den weniger brechbaren Spectralregionen begeht man nicht leicht einen solchen Fehler, in diesem Theil des Spectrums aber ist es meines Erachtens nicht unmöglich, dass dieses geschehen kann, selbst wenn die verschiedenen Ablesungen keine bedeutenden Differenzen zeigen; wenigstens ist es der Fall mit meinem Auge, dass es mir schwer fällt, mit voller Sicherheit zu entscheiden, ob ich das Instrument auf volle Gleichheit für die Mitte der Region beider Spectra einstelle oder ob ich daselbst einen gewissen Grad von Ungleichheit als Gleichheit auffasse und bei den verschiedenen Ablesungen dann auf diesen einstelle.

Das Absorptionsverhältniss für die Region = der Wellenlänge 562 ist in diesem Fall = 0,000366 für aschenfreie Substanz. Im Mittel der beiden Untersuchungen ist A (die Region = der Wellenlänge 562) = 0,000386.

Das Pigment absorbirt also das Licht sehr stark, in dieser Region viel stärker als das Oxyhämoglobin, von welchem eine 5 mal so starke Lösung erforderlich ist, um dieselbe Lichtabsorption zu erzeugen.

Diese Zahl kann als nur für das Instrument geltend betrachtet werden, mit welchem sie bestimmt worden ist, indem die spectrophotometrische Constante A eines Farbstoffes für Instrumente verschiedener Construction, wie Otto (2) hervorhebt, sehr verschieden ist und, wie es den Anschein hat, sogar für Instrumente derselben Construction variiren kann. Damit diese Zahl auch für Andere von Nutzen sein möchte, will ich hier die Zahlen beifügen, welche ich für das Absorptionsverhältniss eines Stoffes gefunden habe, der leicht von erforderlicher Reinheit und bekannter Stärke zu erhalten ist, nämlich für das Kaliumpermanganat. Für Kaliumpermanganat (Oxalsäure N/500 entsprechend) fand ich im Mittel in der Region, Wellenlänge = 562,  $\epsilon$ , = 0,504 und in der

Region, Wellenlänge = 541,  $\epsilon_{,,}$  = 0,827, also das Absorptionsverhältniss für das Kaliumpermanganat resp. A, (Wellenlänge = 562) = 0,00025 und A,, (Wellenlänge = 541) = 0,000152.

Wie ich bereits erwähnt habe, fand ich in der Asche eine bedeutende Menge Baryumsulfat. Schon daraus schloss ich, dass die Substanz eine ziemlich bedeutende Menge Schwefel enthalten müsse, was mir noch wahrscheinlicher wurde, als ich den Aufsatz von Berdez & Nencki erhielt, welche in einem Melanosarkomfarbstoff über 10 % Schwefel gefunden hatten. Die Schwefelbestimmungen führte ich nach Hammarsten's Methode durch Oxydirung der Substanz mit Salpetersäure, Abdampfung, Zusatz von Sodalösung, Eintrocknung und Verbrennung etc. aus. Gleichzeitig bestimmte ich auch das Eisen. Die Schmelze wurde in Wasser gelöst und filtrirt, das Filtrum getrocknet und verbrannt, das Eisenoxyd in Salzsäure + etwas Salpetersäure gelöst, die Lösung auf Wasserbad zur Trockne eingedampft und alsdann das Eisen spectrophotometrisch in der oben beschriebenen Weise bestimmt.

0,3614 gr. Substanz (bei 110° getrocknet), 0,3275 gr. aschenfreier Substanz entsprechend, gaben 0,2149 gr. BaSO<sup>4</sup> = 0,0295 gr. S = 9,01 % S.

Für die Bestimmung des Eisens wurde der Verdampfungsrückstand in 2 cbcm. HCl (25 %) gelöst und mit 86 cbcm. aq. verdünnt; 22 cbcm. von dieser Lösung wurden mit 3 cbcm. KCNS (20 %) versetzt.  $\epsilon_{,,}$  wurde erhalten = 0,507 oder 0,000659 % Fe entsprechend;  $\epsilon_{,,,}$  = 0,821 oder 0,000633 % Fe entsprechend; die Menge Fe wurde hieraus zu 0,000646 gr. berechnet, also = 0,20 % erhalten.

Das Filtrat von dem Baryumsulfatniederschlag wurde abgedampft und dann auf Phosphorsäure mit negativem Resultat geprüft.

Um bei der Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmung zuverlässige Resultate zu erhalten, war es zufolge des hohen Schwefelgehaltes nothwendig, besondere Massregeln zu treffen. Die Verbrennung wurde mit Bleichromat in Bajonettrohren

bewerkstelligt; vor dem Bleichromat mit der eingemischten Substanz hatte ich ein Lager körnigen Kupferoxyds (zum Zwecke der Verbrennung flüchtiger Producte), vor diesem ein 15 cm. langes Lager Bleichromat, das bei schwacher Erhitzung (nicht Glühung) erhalten wurde, und sodann ein Lager Silberdraht. Ungeachtet die Verbrennung langsam und vorsichtig geschah, kann ich nicht annehmen, dass ich mein Ziel, die Oxydationsproducte des Schwefels zurückzuhalten, erreicht habe, denn das Wasser, das sich in der Kugel der Chlorcalciumröhre sammelte, hatte saure Reaction, wenn auch nicht besonders stark, und gab mit Chlorbaryum eine schwache Trübung. Die geringe Menge meines Materiales gestattete es mir inzwischen nicht, wiederholte Versuche anzustellen. Auch reichte das Material zu einer Aschenanalyse nicht hin, was ebenfalls die Genauigkeit der Procentzahlen beeinträchtigt. Dass jedoch die Bestimmung frei von bedeutenderen Fehlern ist, kann man aus der Uebereinstimmung dieser Zahlen mit den von mir bei der Analyse des Pigments aus den Geschwülsten erhaltenen ersehen.

Bei der Verbrennung von 0,2558 gr. Substanz (bei 110° getrocknet), welche 0,2317 gr. aschenfreier Substanz entsprechen, wurden 0,1243 gr. H<sup>2</sup>O und 0,4739 gr. CO<sup>2</sup>, resp. 0,0138 gr. oder 5,95 % Wasserstoff und 0,1292 gr. oder 55,76 % Kohlenstoff entsprechend, erhalten.

Der Stickstoff wurde in Gasform nach Dumas' Methode bestimmt. Das Gas wurde in Zulkowsky's Apparat über Kalilauge von der von Kreuzler angegebenen Stärke gesammelt, abgelesen und mit Benutzung von Kreuzler's Tabelle über die Tension der Kalilauge berechnet.

Von 0,3005 gr. Substanz (110°), 0,2723 gr. aschenfreier Substanz entsprechend, wurden 28,2 cbcm. Stickstoffgas, bei + 20° C. und 764 mm. Bst. abgelesen, erhalten. Reducirt auf 0° und 760 mm. Bst. = 26,0 cbcm. Stickstoff also = 0,03342 gr. oder 12,27 %.

Das untersuchte Präparat zeigte also gleich dem von Berdez & Nencki aus Melanosarkomgeschwülsten darge-

stellten und analysirten Farbstoff, dem «Phymatorhusin», einen hohen Schwefelgehalt, doch findet sich zwischen ihrem und meinem Präparat eine recht beträchtliche Differenz, indem das meinige eine nicht unbedeutende Menge Eisen enthielt. Ich betrachtete es daher als sehr wichtig, zu untersuchen, ob diese Verschiedenheit nicht vielleicht in der angewandten Darstellungsweise ihren Grund haben könnte. Berdez & Nencki haben den Farbstoff mit kochender Salzsäure von 10% eine Zeit von 1—2 Stunden behandelt, und es liegt daher die Annahme nahe, dass ihr Präparat anfangs Eisen enthalten hat, das durch die Behandlung mit Salzsäure beseitigt worden ist. Ich hatte eine um so grössere Ursache, diese Untersuchung vorzunehmen, als der Farbstoff aus den Melanosarkomgeschwülsten, den ich mit verdünnter Salzsäure digerirt hatte, einen geringeren Eisengehalt zeigte, als der aus dem Urin erhaltene, obschon er in Bezug auf die übrigen Eigenschaften gut mit ihm übereinstimmte. Um nun für diese Frage eine Entscheidung zu gewinnen, wurde der Rest des Materials zu dieser Untersuchung verwendet. Der Farbstoff, welcher zwei Monate lang in trockner Form aufbewahrt gewesen war, wurde in Soda gelöst; bei Zusatz von Essigsäure, sogar im Ueberschuss, war keine Fällung zu bemerken; der Farbstoff hatte sich also während seiner Aufbewahrung etwas verändert, denn vorher wurde er von der Essigsäure mit Leichtigkeit gefällt. Aus essigsaurer Lösung war er jedoch beinahe vollständig durch einen Zusatz von essigsauerm Natron, ebenso von Kochsalz und auch von Barytwasser zu fällen. Dass er bei einem Zusatz von Essigsäure nicht ausfiel, scheint aber nicht darin seinen Grund zu haben, dass er in Essigsäure löslich geworden war, denn der ausgefällte Farbstoff war in Essigsäure, sei es starker oder schwacher, nicht zu lösen. Eher scheint er den Charakter einer so starken Säure angenommen gehabt zu haben, dass er aus seiner Verbindung mit Alkali durch einen Zusatz von Essigsäure nicht frei gemacht werden konnte, denn von der Salzsäure wurde er leicht gefällt. Auf Grund der geringen Menge Material, welches mir zur Verfügung stand, konnte

ich dieses Verhältniss inzwischen nicht weiter untersuchen. Der Farbstoff wurde dadurch ausgeschieden, dass die Lösung mit Essigsäure schwach sauer gemacht und dann zum Zwecke der Fällung Natriumacetat zugesetzt wurde; ein kleiner Theil des ausgefällten und ausgewaschenen Farbstoffes wurde mit starkem positivem Resultat auf Eisen geprüft und das Uebrige auf Wasserbad eine Stunde lang mit Salzsäure von 10 % digerirt. [Dabei wurde ein kleiner Theil des Farbstoffes gelöst und schied sich bei Abkühlung zum Theil ab; das Uebrige konnte mit NaCl nahezu vollständig gefällt werden. Die Menge des gelösten Farbstoffes war jedoch allzu klein, um eine genauere Untersuchung zu gestatten; in Bezug auf Farbe und Eisengehalt schien er demjenigen Farbstoff ähnlich zu sein, der sich in HCl nicht löste.] Das, was sich in HCl nicht löste, wurde auf ein Filtrum genommen, die Salzsäure mit Wasser ausgewaschen, darauf das Präparat mit Weingeist und Aether gewaschen und dann getrocknet. Das Aussehen des Präparates war dann ein anderes als vorher; es war lockerer und von hellerer Farbe, so dass es, anstatt wie vorher braunschwarz, braungelb war. Die erhaltene Quantität war zu gering, um eine sichere Aschenbestimmung zu gestatten; die Einäscherung von einer Probe von 4 cgr. zeigte jedoch, dass die Menge der Asche 1 % nicht überstieg und sie mithin aus der Rechnung fortgelassen werden konnte, ohne dass deshalb ein nennenswerther Fehler zu befürchten gewesen wäre. Das Präparat wurde zur Bestimmung von Eisen und Schwefel nach bereits beschriebenen Methoden benutzt.

Aus 0,2643 gr. Substanz (getrocknet bei 110°) wurden 0,1958 gr. BaSO<sup>4</sup>, 0,0269 gr. oder 10,18 % Schwefel entsprechend, und 0,000074 gr. oder 0,028 % Eisen erhalten. Bei der Behandlung mit Salzsäure von 10 % war der Eisengehalt also auf ungefähr  $\frac{1}{10}$  seiner ursprünglichen Menge herabgegangen und so klein, dass man ihn, wenn man seine ursprüngliche Grösse nicht gekannt, leicht hätte übersehen oder als eine Verunreinigung auffassen können. Ich glaube deshalb behaupten zu dürfen, dass es unentschieden ist, ob

der von Berdez & Nencki dargestellte Farbstoff anfangs Eisen enthalten hat oder nicht, und ich betrachte es als wahrscheinlich, dass er eisenhaltig gewesen ist. Der Schwefelgehalt meines Farbstoffes hatte sich nicht vermindert, sondern im Gegentheil vermehrt, so dass er nahe mit der Zahl übereinstimmte, welche Berdez & Nencki gefunden hatten.

2. Der in Essigsäure (50—75 %) lösliche Farbstoff aus der Barytfällung. (Die Darstellung desselben siehe oben.) Die Menge des erhaltenen Präparates war 18 cgr. Eine vollständige Untersuchung desselben war also nicht möglich, weshalb ich glaubte, hauptsächlich nur seine Eigenschaften als Farbstoff durch Photometrie untersuchen zu müssen. Inzwischen war es für die Berechnung des Absorptionsverhältnisses nothwendig, dass der Aschengehalt bestimmt wurde. Zu diesem Zweck wurden 0,1259 gr. Substanz (getrocknet bei 110°) abgewogen und, wie bei der Bestimmung des Kohlenstoffs und Wasserstoffs, in einem Platinschiffchen mittelst eines Stromes Sauerstoffgas verbrannt. Die Kohlensäure und das Wasser wurden zwar gesammelt und gewogen, aber da die Menge der Substanz für eine gute Bestimmung zu klein war und ich auch den Schwefelgehalt derselben nicht berücksichtigte, so sind die erhaltenen Werthe hier nicht der Mittheilung werth; so viel dürfte jedoch zu erwähnen sein, dass ich den Kohlenstoffgehalt um ein paar Procent höher als für den in Essigsäure unlöslichen Farbstoff erhalten hatte, den ich zur Bestimmung seines Aschengehalts auf gleiche Weise verbrannte. Die Menge der Asche war 0,0087 gr. = 6,91 %.

In der Asche wurde das Eisen spectrophotometrisch als Eisenrhodanid bestimmt. Die Asche wurde mit HCl (25 %) übergossen, über Wasserbad zur Trockne abgedampft, in 5 cbcm. HCl (2 %) + 12 aq. gelöst und mit 3 cbcm. Rhodankaliumlösung (20 %) versetzt. Bei der spectrophotometrischen Untersuchung wurde  $\epsilon = 0,441$ , 0,00115 % Fe in der Lösung entsprechend, und  $\epsilon_{,,} = 0,817$ , 0,00106 % Fe in der Lösung entsprechend, also im Mittel = 0,0011 % Fe in der Lösung

oder 0,00022 gr. Fe = 0,19% der aschenfreien Substanz erhalten.

Für die spectrophotometrische Untersuchung wurde die Substanz bei 100–105° getrocknet und von ihr 0,0404 gr. = 0,0376 gr. aschenfreier Substanz abgewogen, in 50 ccm. NaOH (N/10) gelöst und dann filtrirt. Das Resultat der spectrophotometrischen Untersuchung findet sich in Tabelle 5 und der Curve No. 1 Tafel II.

Tabelle 5.

Wellenlänge.	Graden-Mittel.	Extinctions-coëfficient $\epsilon$	Relative $\epsilon$	Wellenlänge.	Graden-Mittel.	Extinctions-coëfficient $\epsilon$		Relative $\epsilon$
						$\epsilon$	$\epsilon \times 2$	
694	35,1	0,17	26	532	71,0	0,97		147
670	38,4	0,21	32	522	73,1	1,07		162
650	43,5	0,28	42	513	75,2	1,19		179
632	46,2	0,32	48					
616	48,6	0,36	54				$\epsilon$ 1)	
601	52,3	0,43	64	505	62,3	0,66	$\epsilon \times 2$	197
587	55,4	0,49	74	497	64,5	0,73		221
574	58,9	0,57	86	488	66,2	0,79		238
562	62,2	0,66	100	476	69,5	0,91		275
551	65,5	0,76	115	461	71,5	1,00		301
541	68,4	0,87	131	445	74,3	1,14		343

Für aschenfreie Substanz wird daraus das Absorptionsverhältniss, in der Spectralregion, Wellenlänge = 567, zu  $A = 0,00114$  berechnet.

Dieser Werth für das Absorptionsverhältniss ist ein höherer, als ich bei der Untersuchung des entsprechenden Präparates aus den Geschwülsten desselben Patienten erhalten hatte, weshalb ich annehme, dass das Präparat nicht rein, sondern (von der Asche abgesehen) durch andere ungefärbte oder schwächer gefärbte Stoffe verunreinigt gewesen ist.

1) Die Lösung wurde mit einem gleichen Volumen Wasser verdünnt.

Vergleicht man Curve 1 auf Tafel II mit den Curven 1 und 2 auf Tafel I, welche dem in Essigsäure unlöslichen Farbstoff aus der Barytfällung angehören, so findet man, dass zwischen ihr und jenen ein recht grosser Unterschied in der Form herrscht. Curve 1 auf Tafel II hat nämlich einen steileren Verlauf, d. h. die Lichtabsorption nimmt gegen den violetten Theil des Spectrums in schnellerem Maasse zu. Der Unterschied ist gross genug, um zu der Behauptung zu berechtigen, dass diese beiden Farbstoffe nicht identisch seien, wenn sich auch, wie ich annehme, eine nahe Verwandtschaft zwischen ihnen finden dürfte.

2. Der Niederschlag durch Bleiacetat. Bekanntlich fällt aus normalem Urin der grösste Theil der Farbstoffe desselben bei einem Zusatz von Bleiacetat aus. Der Niederschlag war daher reich an Farbe, aber um so schwieriger war es, specifischen Melanosarkomfarbstoff aus ihm zu isoliren, selbst wenn solcher in ihm vorhanden war. Bei der unvollständigen Kenntniss, welche wir von den normalen Urinfarbstoffen und ihren Zersetzungsproducten haben, war es auf Grund der angewandten Methode unmöglich zu sagen, ob ein aus dieser Fällung erhaltener Farbstoff auch Farbstoffe (resp. Zersetzungsproducte von solchen), welche in normalem Urin vorkommen, enthielt oder nicht. Die Untersuchung dieses Niederschlages ist daher für die hier behandelte Frage von der Identität zwischen den Farbstoffen aus den Geschwülsten und denjenigen aus dem Urin nur insofern von Interesse, als die dargestellten Präparate Uebereinstimmung mit den Farbstoffen aus den Geschwülsten (oder aus dem Barytniederschlag) zeigen. Die Anwesenheit der normalen Farbstoffe des Harns (oder der Zersetzungsproducte derselben) erschwerte die Darstellung der Präparate sehr, so dass die Ausbeute an Farbstoff recht unbedeutend ausfiel. Die von mir erhaltenen Farbstoffe scheinen durch die Gegenwart anderer Farbstoffe (oder Bestandtheile des Harns) in ihrem Verhältniss zum Lösungsmittel beeinflusst worden zu sein; so waren die zuletzt erhaltenen Präparate so gut wie unlöslich in schwefelsäurehaltigem Weingeist, obschon die

Mischungen, aus denen sie erhalten worden, sich in ihm recht gut lösten. Da ich Grund dessen nicht die ganze Masse eines jeden Präparats auf einmal, sondern in kleinen Portionen bei erneuerter Bearbeitung des Materiales erhielt, so ist es mir unmöglich, einen in das Detail gehenden Bericht über die Darstellung nur einigermaßen übersichtlich zu gestalten, weshalb ich mich damit begnüge, über dieselbe nur in ihren Hauptzügen zu berichten, welche Begrenzung ich glaube ohne Schaden vornehmen zu können, da ich, wie schon gesagt worden, der Untersuchung dieser Präparate nur untergeordnete Bedeutung beilege.

Nachdem der Urin mit Barytwasser gefällt worden, wurde das Filtrat mit Bleizuckerlösung gefällt. Der Niederschlag wurde während sechs Wochen täglich gesammelt, mit Wasser durch fleissiges Decantiren ausgewaschen und dann schliesslich ausgepresst. Hierauf wurde er mit Soda-lösung zersetzt, das Filtrat mit Salzsäure sauer gemacht und mit Magnesiumsulfat gesättigt, wo dann der grösste Theil des Farbstoffes sich absetzte. Dieser Niederschlag wurde auf ein Filtrum genommen, mit Wasser ausgewaschen, in Wärme mit Weingeist, der 2 Vol. Proc. conc. Schwefelsäure enthielt, behandelt, bis sich nichts mehr löste. Das, was sich in dem sauren Weingeist nicht löste, wurde in Natronlauge gelöst und durch einen Zusatz von Magnesiumsulfat (nicht mehr, als dass die Reaction noch stark alkalisch war) gefällt, wo das Meiste der Farbe ausfiel; diese Fällung wurde in Kälte mit verdünnter Salzsäure behandelt, wobei jedoch der grössere Theil der Farbe ungelöst verblieb; dieser Rückstand löste sich in Essigsäure (75 %) nahezu vollständig und die Lösung wurde durch Verdünnung mit Wasser gefällt und die Fällung ausgewaschen; alsdann wurde dieselbe von Neuem in Natronlauge gelöst, mit Essigsäure gefällt, in starker Essigsäure gelöst und die Lösung mit Wasser verdünnt. Um das Ausscheiden des Farbstoffes zu erleichtern, wurde Barytwasser zugesetzt, doch bei Weitem nicht so viel, als zur Sättigung der Essigsäure erforderlich war (die Barytverbindung des Farbstoffes scheint nämlich in verdünnter Essigsäure in viel

geringerem Grade löslich zu sein als der Farbstoff selbst); der Niederschlag wurde mit Wasser, mit Weingeist und mit Aether ausgewaschen und dann getrocknet; es wurden 16 cgr. (c) erhalten. Die Lösung in schwefelsäurehaltigem Weingeist wurde mit Wasser verdünnt, mit Natronlauge alkalisch gemacht, mit Magnesiumsulfat gefällt und diese Fällung dann auf hauptsächlich die soeben beschriebene Weise behandelt, doch habe ich dabei, wie schon bemerkt, den Farbstoff nur in kleinen Portionen erhalten, und ich musste die Präparationsmethode (auch die Fällung mit Bleizucker) repetiren, ehe ich Präparate erhielt, welche zu den angegebenen Lösungs- und Fällungsmitteln ein bestimmtes Verhalten zeigten und solcherart möglicherweise als aus nur einer Substanz bestehend betrachtet werden konnten. Die zuletzt erhaltenen Präparate zeigten sich in schwefelsäurehaltigem Weingeist nur wenig löslich. Ich erhielt ein Präparat (b), löslich in starker Essigsäure von 50—75 % = 58 cgr. (in Eisessig löste es sich weniger leicht), und ein Präparat (a), unlöslich in Essigsäure von 50—75 % = 50 cgr.

1. Präparat (a), unlöslich in Essigsäure (50—75 %). Dasselbe bildete ein braunschwarzes Pulver, in seinem Aussehen dem entsprechenden Präparat aus der Barytfällung ähnlich. Es war unlöslich in Wasser, Weingeist, Aether; schwefelsäurehaltiger Weingeist löste ein klein wenig. In Natronlauge löste es sich sehr leicht; die Lösung war braunroth und zeigte weder ein Absorptionsband im Spectrum, selbst nicht bei einem Zusatz von Ammoniak und Chlorzink, noch eine Fluorescenz (wurde etwas Urobilin zugemischt, so war es leicht, dasselbe mit den genannten Reactionen nachzuweisen). In Salpetersäure wurde es beim Kochen mit einer hellen gelbbraunen Farbe gelöst, welche Farbe beim Zusetzen von Ammoniak stärker gelb wurde. Bei der Ausführung der Murexidprobe wurde zwar ein negatives Resultat erhalten, aber auch bei Zumischung einer kleinen Quantität Harnsäure war das Resultat negativ; Harnsäure dürfte auf alle Fälle nicht anwesend gewesen sein, als

der Farbstoff aus der Lösung in Natronlauge mit Magnesiumsulfat gefällt wurde.

Für die Bestimmung des Aschengehaltes wurden 0,2741 gr. Substanz (getrocknet bei 110°) im Platinschiff in Sauerstoffgas verbrannt. Die Menge Asche war = 0,0204 gr. = 7,42%. Die Asche, welche eine hellrothe Farbe hatte, wurde zur Bestimmung des Eisens angewendet. Zu diesem Zweck wurde dieselbe mit Salzsäure (25%) behandelt, welche zur Trockne über Wasserbad eingedampft, nachher mit 1,5 cbcm. HCl (25%) ausgezogen und mit Wasser zu 66 cbcm. verdünnt wurde; von dieser Lösung wurden 22 cbcm. abgemessen und mit 3 cbcm. Rhodankaliumlösung (20%) versetzt, filtrirt und spectrophotometrisch untersucht, wobei  $\epsilon_s = 0,309 = 0,000802\%$  Fe und  $\epsilon_{,,} = 0,641 = 0,000834\%$  Fe, also im Mittel = 0,000818% Eisen auf 75 cbcm. = 0,000613 gr. Eisen oder = 0,242% (der aschenfreien Substanz) erhalten wurden.

Eine Menge von 0,1441 gr. (getrocknet bei 110°), 0,1334 gr. aschenfreier Substanz entsprechend, wurde zur Bestimmung des Schwefels nach Hammarsten's Methode, ebenso zur Bestimmung des Eisens und zur Probe auf Phosphor und Blei angewandt. Das, was bei Ausziehung der Soda-Salpeterschmelze mit Wasser ungelöst verblieb, wurde zur Bestimmung des Eisens und zur Prüfung auf Blei angewandt und zu diesem Zweck mit Salzsäure (25%) auf Wasserbad behandelt, zur Trockne eingedampft und dann mit 1 cbcm. HCl (25%) + 43 cbcm. aq. behandelt; hierauf wurden 22 cbcm. abgemessen und mit 3 cbcm. Rhodankaliumlösung (20%) versetzt; es wurde  $\epsilon_{,,} = 0,528 = 0,000686\%$  Fe und  $\epsilon_{,,,} = 0,899 = 0,000692\%$  Fe erhalten; das Mittel war = 0,000689% Eisen in 50 cbcm. Lösung = 0,000344 gr. Eisen = 0,258% Fe (der aschenfreien Substanz). Bei der Prüfung auf Blei mit Schwefelwasserstoffwasser zeigte sich nur eine sehr schwache braune Färbung. Aus der Wasserlösung wurden (nach wiederholtem Abdampfen mit Salzsäure und darauffolgender Fällung mit Chlorbaryum) 0,0806 gr. BaSO<sup>4</sup>, 0,0111 gr. Schwefel = 8,3% Schwefel entsprechend, erhalten.

Das Filtrat der Baryumsulfatfällung wurde abgedampft und mit Molybdänlösung auf Phosphorsäure geprüft, von der nur Spuren nachweisbar waren.

Zur spectrophotometrischen Untersuchung wurde die Substanz bei 100—105° getrocknet, darauf 0,0184 gr. abgewogen, die 0,0175 gr. aschenfreier Substanz entsprachen, und in 50 ccm. NaOH (N/10) gelöst. Das Ergebniss der Untersuchung ist in Tabelle 6 und der Curve No. 3 auf Tafel I enthalten.

Tabelle 6.

Wellenlänge.	Graden-Mittel.	Extinctions-coëfficient		Relative	Wellenlänge.	Graden-Mittel.	Extinctions-coëfficient		Relative
		$\epsilon$	$\epsilon$				$\epsilon$	$\epsilon$	
694	51,2	0,41		34			$\epsilon$	$\epsilon \times 2$	
670	52,9	0,44		36	522	69,8	0,92	1,85	152
650	56,5	0,52		43	513	71,3	0,99	1,98	163
632	60,7	0,62		51	505	72,9	1,06	2,13	176
616	64,1	0,72		60	497	74,0	1,12	2,24	185
601	67,0	0,82		68					
587	70,3	0,94		78			$\epsilon^2$ )	$\epsilon \times 4$	
574	73,3	1,08		90	490	60,3	0,61	2,44	202
562	75,6	1,21		100	482	62,7	0,68	2,71	224
551	77,8	1,35		112					
541	79,7	1,50		124			$\epsilon^3$ )	$\epsilon \times 8$	
		$\epsilon^1$ )	$\epsilon \times 2$		475	46,4	0,32	2,57	213
					468	48,5	0,36	2,86	237
532	68,0	0,85	1,71	141	455	49,2	0,37	2,96	245

Nach der letzten Verdünnung wurde E, für die ursprüngliche Lösung niedriger als vorher berechnet, und die ent-

1) Die Lösung wurde mit einem gleichen Volumen Wasser verdünnt.

2) Die Lösung wurde nochmals mit einem gleichen Volumen Wasser verdünnt.

3) Die Lösung wurde nochmals mit einem gleichen Volumen Wasser verdünnt.

sprechende Curve zeigt bei der Region = Wellenlänge 475 ein Knie nach unten. Hierfür ist der Grund nicht in einem Absorptionsband in der nächst vorhergehenden Region zu suchen, denn ein solches giebt es nicht, sondern in Fehlern der Bestimmung. Theils ist nämlich die Untersuchung in diesem Theil des Spectrums schwer auszuführen, theils wird der Fehler, welcher entstanden sein kann, mit 8 multiplicirt, und derselbe macht sich daher mehr geltend. Wahrscheinlich würde die Curve auch in diesem Theil des Spectrums ihre Hauptrichtung beibehalten haben.

Das Absorptionsverhältniss für die Region, Wellenlänge = 562 ist zu 0,00029 berechnet.

2. Präparat (b), löslich in Essigsäure (50—75 %). Das Präparat war in seinem Aussehen und in seinem Verhalten zu Reagentien (ausser zur Essigsäure) mit dem vorigen übereinstimmend. Auch in diesem Präparat war Urobilin mit der Ammoniak-Chlorzinkreaction nicht nachzuweisen, während eingemischtes Urobilin sich mit Leichtigkeit zu erkennen gab.

Beim Verbrennen von 0,1688 gr. Substanz (bei 110° getrocknet) wurden 0,0068 gr. Asche, also 4,08 % erhalten. Die Asche war braunroth und wurde zur Bestimmung des Eisens angewandt; dieselbe wurde mit Salzsäure (25 %) behandelt, welche auf Wasserbad zur Trockne abgedampft wurde ( $\text{BaSO}_4$  verblieb ungelöst); das Eisenchlorid wurde in 2 ccm. Salzsäure (2 %) aufgenommen, mit 6 ccm. Wasser verdünnt, mit 2 ccm. Rhodankaliumlösung (20 %) versetzt und dann filtrirt. Bei der spectrophotometrischen Bestimmung wurde  $\epsilon = 1,215 = 0,00316\%$  Eisen = 0,000316 gr. Fe = 0,197 % aschenfreier Substanz erhalten.

Der Kohlen- und der Wasserstoff wurden durch Verbrennung mit Bleichromat mit vorliegendem körnigem Kupferoxyd, sowie einem 20 cm. mächtigen Lager feinzerriebenen

Bleichromats, das bei schwacher Erhitzung erhalten wurde, und vorliegendem Silberdraht bestimmt. Von der Substanz (getrocknet bei  $110^{\circ}$ ) wurden 0,1246 gr., 0,1195 gr. aschenfreier Substanz entsprechend, abgewogen. Daraus wurden 0,2545 gr. Kohlensäure = 0,0694 gr. Kohlenstoff oder 58,07 % der aschenfreien Substanz erhalten; ferner 0,0866 gr. Wasser = 0,0096 gr. Wasserstoff oder 8,03 % Wasserstoff. Wie man sieht, war die Menge der Substanz und die aus ihr erhaltene Menge Wasser ziemlich klein, so dass selbst eine unbedeutende Feuchtigkeit des Bleichromats und des Kupferoxyds sehr auf den Procentgehalt des Wasserstoffes einwirken konnte. Zwar verwandte ich alle Sorgfalt darauf, diese Feuchtigkeit durch Glühung des Bleichromats und des Kupferoxydes, durch Erwärmung und Trocknung der Röhre, durch Erwärmung der Röhre mit ihrem Inhalt und Evacuierung derselben mit der Luftpumpe zu beseitigen, dennoch betrachte ich es nicht für unmöglich, dass das Procent des Wasserstoffes durch nicht beseitigte Feuchtigkeit etwas erhöht worden ist.

Der Stickstoff wurde durch Verbrennung mit Kupferoxyd und Aufnahme und Ablesung des Stickstoffvolumens in Zulkowsky's Apparat über Kalilauge von der von Kreuzler angegebenen Stärke bestimmt. Von der Substanz (getrocknet bei  $110^{\circ}$ ) wurden 0,2245 gr., einer aschenfreien Substanz von 0,2153 gr. entsprechend, angewandt. Erhalten wurden 20,8 ccm. Stickstoff bei  $+ 23^{\circ}$  und 767 mm. Bst.; reducirt auf  $0^{\circ}$  und 760 mm. Druck war das Stickstoffvolumen also = 19,0 ccm.; Stickstoff = 0,02386 gr. = 11,08 % der aschenfreien Substanz.

Zur spectrophotometrischen Untersuchung wurde die Substanz bei  $100^{\circ}$  getrocknet und davon 0,0165 gr., = 0,0158 gr. aschenfreier Substanz, abgewogen, in 50 ccm. NaOH (N/10) vollständig gelöst und filtrirt. Das Resultat der Untersuchung ist in Tabelle 7 und der Curve No. 2; Tafel II angegeben.

Tabelle 7.

Wellenlänge.	Graden-Mittel.	Extinctions-coëfficient $\epsilon$	Relative $\epsilon$	Wellenlänge.	Graden-Mittel.	Extinctions-coëfficient		Relative $\epsilon$
						$\epsilon$	$\epsilon \times 2$	
694	35,2	0,18	31	532	67,6	0,84		148
670	37,1	0,20	35	522	69,7	0,92		162
650	39,9	0,23	41	513	71,6	1,00		177
632	43,2	0,27	48	505	73,1	1,07		190
616	46,2	0,32	56					
601	50,4	0,39	69			$\epsilon$ 1)	$\epsilon \times 2$	
587	53,6	0,45	80	497	62,6	0,67	1,35	238
574	55,9	0,50	89	490	63,5	0,70	1,40	248
562	58,6	0,57	100	475	66,6	0,80	1,60	283
551	61,6	0,65	114	468	67,7	0,84	1,68	297
541	64,3	0,73	128	455	69,0	0,89	1,78	315

Die Unregelmässigkeit, welche die entsprechende Curve (No. 2 auf Tafel II) in ihrer Biegung zwischen den Regionen Wellenlänge = 520 und = 497 zeigt, findet in der grossen Concentration der Farbstofflösung, welche für die Untersuchung in diesem Theil des Spectrums hinderlich war, also in einem Beobachtungsfehler ihre Erklärung.

Das Absorptionsverhältniss für die Region Wellenlänge = 562 ist zu 0,00056 berechnet.

Das Präparat (c), ebenfalls in Essigsäure von 50—75% löslich, wurde zur Bestimmung des Schwefels und Eisens, nach bereits angegebenen Methoden, verwandt. Da das Material für eine besondere Aschenbestimmung nicht zureichte, so wurde der Rückstand, welcher sich bei Auslaugung der Soda-Salpeterschmelze nicht löste, gewogen und als Asche in die Berechnung eingeführt. Das Präparat wurde bei 110° getrocknet und 0,1520 gr. abgewogen, wovon die Asche 0,0105 gr. = 6,9% war; aschentreie Substanz = 0,1415 gr. Bei der Bestimmung des Schwefels wurden 0,0489 gr. Baryumsulfat, 0,00672 gr. Schwefel entsprechend oder = 4,75% der

1) Die Lösung wurde mit einem gleichen Volumen Wasser verdünnt.

aschenfreien Substanz erhalten. Die gewogene Asche wurde mit Salzsäure (25 %) und etwas Salpetersäure, welche Säuren dann über Wasserbad abgedampft wurden, übergossen, in 0,5 cbcm. HCl (25 %) + 21,5 cbcm. aq. gelöst und mit 3 cbcm. Rhodankaliumlösung (20 %) versetzt;  $\epsilon$ , wurde bestimmt = 0,449 = 0,00117 % Eisen und  $\epsilon_{,,}$  = 0,924 = 0,00120 % Eisen oder im Mittel 0,00118 % Fe in 25 cbcm. Lösung; Fe also = 0,000295 gr. = 0,208 % aschenfreier Substanz.

Auf Phosphorsäure wurde das Filtrat von dem Baryumsulfatniederschlag mit negativem Resultat geprüft.

3. Farbstoff aus den Geschwülsten. Bei der Verarbeitung der Geschwülste hatte ich selbstverständlich vor Allem an die Beseitigung des Hämoglobins und des Eiweiss zu denken. Da das Melanosarkompigment in den Zellen als Körner vorkam, so sah ich es als am vortheilhaftesten an, das Pigment von dem Hämoglobin, das durch die begonnene Fäulniss wahrscheinlich nicht zertheilt war, auf mechanischem Wege abzusondern. Ich wollte nämlich, um das Hämoglobin nicht zu zertheilen, weil dann das Hämatin wahrscheinlich schwerer zu beseitigen gewesen wäre, kein eingreifenderes Reagens, wie Alkalilauge oder irgend eine Säure, anwenden. Die Geschwulstmasse wurde deshalb so fein als möglich zerschnitten, in ein Leinentuch gebunden und durch abwechselndes Kneten mit Wasser und Klopfen der Farbstoff aus den festeren Gewebstheilen entfernt. Ich erhielt auf diese Weise eine Lösung von ungefähr 10 Liter, welche die unlöslichen Stoffe wie das Melanosarkompigment, Fett u. s. w. suspendirt enthielt. Das Ungelöste durch Filtrirung abzusondern war unmöglich, denn theils ging es anfangs durch das Filter, theils hörte die Filtration bald auf. Auch gelang es mir nicht, die Flüssigkeit durch Ausfällung von Calciumphosphat filtrirbar zu machen, weshalb ich Alaun, Natriumphosphat und Soda zu schwach alkalischer Reaction zusetzte, wodurch ich dann einen Niederschlag erhielt, der sich gut absetzte, während die Flüssigkeit über demselben klar wurde

und leicht abfiltrirt werden konnte. Das Filtrat war rothbraun, doch nicht besonders stark gefärbt und zeigte für das Spectroscop klare Oxyhämoglobinbänder; nach der Stärke der Absorptionsbänder und der Farbenstärke der Lösung zu urtheilen, war dieselbe hauptsächlich von Oxyhämoglobin und geringeren Mengen von anderen Farbstoffen gefärbt. Das Filtrat wurde weggegossen. Der Niederschlag wurde vom Filtrum ab gespült, in Wasser aufgeschwemmt und, nachdem er sich abgesetzt, wieder auf das Filtrum genommen und ausgewaschen. Der Niederschlag wurde in Wasser aufgeschwemmt und Salzsäure zu stark saurer Reaction zugesetzt, wo sich dann ein Theil löste (b), der grössere Theil aber ungelöst verblieb (a).

Die Lösung (b) gab kein Absorptionsband im Spectrum. Sie wurde mit Schwefelsäure versetzt und mit Magnesiumsulfat gesättigt, wo das Meiste des Farbstoffes ausfiel. Der Farbstoff wurde auf ein Filtrum gebracht, mit Wasser ausgewaschen und in Natronlauge gelöst. (Mit dieser Lösung wurden die Lösungen von dem, was bei der Behandlung von (a) mit verdünnter Salzsäure oder Essigsäure in Lösung gegangen war, vereinigt.) Die Lösung wurde mit Essigsäure im Ueberschuss gefällt, der Niederschlag auf ein Filtrum gebracht und mit Wasser ausgewaschen. Bei Behandlung mit etwas verdünntem Eisessig über Wasserbad löste er sich vollständig; diese Lösung wurde mit Wasser bis zu 40 Volumen verdünnt, gab dann aber keine Fällung; bei Zusatz von Barytwasser (bei Weitem nicht in solcher Menge, dass die Säure gesättigt war) fiel der Farbstoff aus; der Niederschlag wurde auf ein Filtrum gebracht, ausgewaschen, in Soda gelöst, mit Essigsäure gefällt, in Essigsäure (50–75%) durch Erwärmung wieder gelöst, durch Verdünnung mit 10 Volumen Wasser ausgefällt, gewaschen, bis alle saure Reaction verschwunden war, in Weingeist aufgeschwemmt und damit ausgewaschen, nachher in Aether aufgeschwemmt und damit gewaschen und dann bei Wasserbadwärme getrocknet. Von dem Präparat (b) erhielt ich 34 cgr. Ueber die Untersuchung des Präparates siehe weiter unten.

Das, was bei der Behandlung mit Salzsäure ungelöst verblieb (a), wurde in verdünnter Natronlauge (1 %) gelöst und mit Magnesiumsulfat versetzt, wobei das Allermeiste des Farbstoffes mit dem Magnesiumhydroxid ausfiel; der Niederschlag wurde ausgewaschen, mit verdünnter Salzsäure behandelt (welche sich nur wenig färbte), mit Wasser ausgewaschen, über Wasserbad mit Essigsäure (50 %) digerirt (wobei sich eine geringe Menge des Farbstoffes löste), mit Wasser ausgewaschen, in Weingeist aufgeschwemmt und damit ausgewaschen, in Aether suspendirt und damit ausgewaschen, so lange der Aether beim Abdampfen einen Rückstand gab, und dann getrocknet. Um zu prüfen, ob sich noch ein Eiweissgehalt vorfand, wurde eine Probe mit Eisessig digerirt, wobei eine unbedeutende Menge des Farbstoffes gelöst wurde; das Filtrat wurde mit Wasser verdünnt und von den Flocken des Farbstoffes, der sich abgesetzt hatte, abfiltrirt und nach Einengen über Wasserbad mit Adamkiewicz's Reaction mit positivem Resultat geprüft. Der Farbstoff wurde deshalb wieder in Natronlauge gelöst, mit einem Ueberschuss von Essigsäure gefällt und damit über Wasserbad digerirt, wobei sich nur Spuren von ihm lösten; die Lösung enthielt Eiweiss. Hierauf wurde der Farbstoff in Salzsäure (0,4 %) aufgeschwemmt und in derselben einen Tag in der Kälte stehen gelassen, alsdann auf ein Filter gesammelt, mit Wasser, Weingeist und Aether gewaschen und sodann getrocknet. Seine Menge hatte sich bei dieser Reinigung von  $2\frac{1}{4}$  gr. bis auf 1,8 gr. vermindert, auch war seine Farbe dunkler braunschwarz geworden.

1. Präparat (a), unlöslich in Essigsäure (50—75%). Das trockene Präparat bildete ein braunschwarzes Pulver, das in Wasser, Weingeist und Aether unlöslich, in warmem, schwefelsäurehaltigem Alkohol so gut wie unlöslich war. In Soda oder in Natronlauge löste es sich leicht mit röthbrauner Farbe, welche bei Verdünnung braungelb wurde; die Lösung gab kein Absorptionsband im Spectrum.

Zur spectrophotometrischen Untersuchung wurde ein Theil der Substanz bei 110—120°, also bei einer höheren Tem-

peratur als ich sonst angewandt, getrocknet und = 0,0194 gr. gewogen.

Die gewogene Substanz wurde in 50 ccm. NaOH (N/10) gelöst, filtrirt und spectrophotometrisch untersucht. Die erhaltenen Werthe sind in Tabelle 8 und durch die Curve No. 4, Tafel I, wiedergegeben.

Tabelle 8.

Wellenlänge.	Graden-Mittel.	Extinctions-coëfficient $\epsilon$	Relative $\epsilon$	Wellenlänge.	Graden-Mittel.	Extinctions-coëfficient $\epsilon$		Relative $\epsilon$
						$\epsilon^1)$	$\epsilon \times 2$	
694	38,7	0,21	25	532	60,1	0,60	1,21	143
670	43,2	0,28	33	522	62,8	0,68	1,36	161
650	46,7	0,33	39	513	64,2	0,72	1,44	171
632	50,2	0,39	46	505	65,9	0,78	1,56	184
616	53,9	0,46	54	497	67,7	0,84	1,68	199
601	57,6	0,54	64					
587	61,5	0,64	76			$\epsilon^2)$ $\epsilon \times 4$		
574	65,0	0,75	88	490	54,2	0,47	1,86	220
562	67,8	0,84	100	482	55,5	0,49	1,97	234
551	70,6	0,96	113	475	56,5	0,52	2,06	244
541	72,6	1,05	124	468	56,3	0,51	2,05	242

Das Absorptionsverhältniss für dieses Präparat kann ich nur approximativ angeben, denn bei erneuter Reinigung erwies es sich durch eine nicht unbedeutende Menge ungefärbter Substanz (Eiweiss) verunreinigt, so dass der in ihm enthaltene Farbstoff nur nach der bei der Reinigung erhaltenen Ausbeute berechnet werden konnte. Von 1,78 gr. Substanz, welche verarbeitet wurden, erhielt ich 1,52 gr. gereinigtes Präparat (mit 2% Asche), doch ist ein kleiner Verlust zu vermerken, dadurch entstanden, dass sich etwas Farbstoff in der Salzsäure löste; die Menge dieses Farbstoffes

<sup>1)</sup> Die Lösung wurde mit einem gleichen Volumen Wasser verdünnt.

<sup>2)</sup> Die Lösung wurde nochmals mit einem gleichen Volumen Wasser verdünnt.

kann zu 3 cgr. angenommen werden, so dass ich, ohne einen nennenswerthen Fehler befürchten zu müssen, annehmen kann, dass 1,75 gr. des Präparats 1,5 gr. Farbstoff enthalten haben. 0,0194 gr. des Präparats entsprachen also 0,0167 gr. Farbstoff, woraus das Absorptionsverhältniss für die Region Wellenlänge = 562 zu 0,000396 berechnet wurde. Ich hielt es für nothwendig, diese Berechnung auszuführen, um entscheiden zu können, ob der Farbstoff bei dem folgenden Reinigungsprocess hinsichtlich der Farbenstärke eine Veränderung erlitt.

Da ich es nicht als sicher ansah, dass das Präparat frei von Eiweiss war, so unterwarf ich es vor einer weiteren Untersuchung erst einem nochmaligen Reinigungsprocess. Es wurde in verdünnter Natronlauge gelöst, mit Essigsäure gefällt, auf ein Filtrum genommen, in Salzsäure von 0,4 % aufgeschwemmt und mit derselben einen Tag lang auf Wasserbad digerirt. Dabei löste sich nur ein unbedeutender Theil des Farbstoffes, so dass das Filtrat hellgelb gefärbt war. [Bei der Neutralisation des Filtrats wurde eine geringe, braun gefärbte, flockige Fällung erhalten, und nachdem diese abfiltrirt worden, gab die schwach gelbe Lösung eine deutliche Xanthoproteinreaction; mit Ammoniak wurde keine Fällung erhalten, auch nicht bei Zusatz von Ammoniumoxalat; ein Theil wurde auf Wasserbad abgedampft und gab dabei einen braunfarbigen Rückstand.] Der Farbstoff wurde mit Wasser gewaschen, mit Weingeist und Aether behandelt und dann getrocknet. Gab 1,53 gr. Da die Eiweissmenge, welche durch die vorgenommene Reinigung beseitigt wurde, verhältnissmässig unbedeutend war, wurde der Farbstoff jetzt als von eingemischtem Eiweiss frei angesehen, was auch die folgende Untersuchung annehmen lässt.

Die Substanz für die spectrophotometrische Untersuchung wurde bei 100—110° getrocknet und = 0,0178 gr. abgewogen, was 0,0174 gr. der aschenfreien Substanz entspricht (siehe unten), in 25 ccm. NaOH (N/10) gelöst und untersucht. Siehe Tabelle 9 und Curve 5, Tafel I.

Tabelle 9.

Wellenlänge.	Graden-Mittel.	Extinctions-coëfficient		Relative $\epsilon$	Wellenlänge.	Graden-Mittel.	Extinctions-coëfficient		Relative $\epsilon$
		$\epsilon$					$\epsilon$		
694	58,3	0,56		30			$\epsilon$	$\epsilon \times 2$	
670	61,5	0,64		35	532	76,5	1,26	2,53	137
650	65,7	0,77		42	522	78,1	1,37	2,74	149
532	69,2	0,90		49					
616	72,6	1,05		57			$\epsilon^2)$	$\epsilon \times 4$	
601	75,7	1,22		66	513	65,0	0,75	3,00	162
		$\epsilon^1)$	$\epsilon \times 2$		505	66,8	0,81	3,24	175
					497	68,4	0,87	3,47	188
587	64,3	0,73	1,45	79	488	70,0	0,93	3,72	201
574	67,0	0,82	1,63	88	476	72,2	1,03	4,12	223
562	69,8	0,92	1,85	100	467	74,3	1,14	4,54	246
551	72,2	1,03	2,06	111	447	76,8	1,29	5,14	279
541	74,4	1,14	2,28	123					

Das Absorptionsverhältniss in der Region = Wellenlänge 562 ist für aschenfreie Substanz = 0,000377. Bei der Behandlung mit Salzsäure war also die Farbenstärke nicht verändert worden. Vergleicht man die beiden Curven 4 und 5 auf Tafel I, so findet man, dass sie nicht volle Congruenz zeigen, wenn sie auch ganz nahe neben einander hinlaufen. Die Abweichung der Curve No. 4 in dem stärker gebrochenen Theil des Spectrums hat nicht so viel zu sagen, denn aus der Form der Curve kann man schliessen, dass diese Abweichung zum Theil auf einem Fehler bei der Untersuchung beruht. Dahingegen will ich die Divergenz der Curven in dem weniger gebrochenen Theil des Spectrums mehr berücksichtigen, denn dort zeigen beide eine gleichmässige Biegung und der Abstand zwischen ihnen ist grösser, als es sich durch

1) Die Lösung wurde mit einem gleichen Volumen Wasser verdünnt.

2) Die Lösung wurde nochmals mit einem gleichen Volumen Wasser verdünnt.

die Unvollkommenheit der Untersuchungsmethode erklären liesse. Ich bin deshalb zu der Annahme geneigt, dass der Farbstoff bei der Behandlung mit verdünnter Salzsäure hinsichtlich der Farbennuance eine kleine Veränderung erlitten hat. Vor dieser Operation hatte die Curve nämlich einen steileren Verlauf als nach derselben, stieg aber nicht so hoch wie die Curven für den in starker Essigsäure löslichen Farbstoff.

Für die Bestimmung des Aschengehaltes und des Eisens wurden 0,2076 gr. Substanz (bei 110° getrocknet) verbrannt. Asche wurden 0,0042 gr. = 2,02 % erhalten. Dieselbe wurde zum Theil in Salzsäure gelöst, aber auch in diesem Fall verblieb ein Rest ungelöst; die Lösung wurde über Wasserbad zur Trockne eingedampft, der Rückstand mit 2 cbcm. HCl (2 %) ausgezogen, mit 6 cbcm. aq. verdünnt und mit 2 cbcm. Rhodankaliumlösung (20 %) versetzt, filtrirt und das Eisen spectrophotometrisch bestimmt; dabei wurde  $\epsilon_1 = 0,497 = 0,00129 \% \text{ Fe}$ ,  $\epsilon_{11} = 0,999 = 0,0013 \% \text{ Fe}$  erhalten; die ganze Menge Eisen war also = 0,00013 gr. oder = 0,063 % der aschenfreien Substanz.

In einem anderen Theil des Präparats wurde der Schwefel nach Hammarsten's Methode und in derselben Probe auch das Eisen bestimmt. Es wurden von der Substanz (bei 110° getrocknet) 0,2044 gr., 0,2003 gr. aschenfreier Substanz entsprechend, abgewogen. Daraus wurden 0,1163 gr. Baryumsulfat erhalten, was 0,01597 gr. Schwefel oder 7,97 % der aschenfreien Substanz entspricht. Das, was sich beim Ausziehen der Soda-Salpeterschmelze mit Wasser nicht löste, wurde mit Salzsäure behandelt, welche über Wasserbad abgedampft wurde, sodann mit 0,5 cbcm. HCl (25 %) ausgezogen und mit 20,5 cbcm. aq. und 4 cbcm. Rhodankaliumlösung (20 %) versetzt;  $\epsilon_{11}$  wurde erhalten = 0,492 = 0,000639 % Fe und  $\epsilon_{111} = 0,876 = 0,000673 \% \text{ Fe}$ , also das Mittel = 0,000656 % Eisen; die Eisenmenge war also = 0,000164 gr. oder 0,081 % der aschenfreien Sub-

stanz. Das Filtrat von dem Baryumsulfatniederschlag wurde abgedampft und auf Phosphorsäure mit negativem Ergebniss geprüft.

Der Kohlen- und der Wasserstoff wurden wie oben beschrieben bestimmt.

1. Substanz, bei  $110^{\circ}$  getrocknet, wurden 0,2679 gr. = 0,2625 gr. aschenfreier Substanz, abgewogen. Daraus wurden erhalten 0,5324 gr. Kohlensäure = 0,145 gr. Kohle oder 55,32%; ferner wurden erhalten 0,1334 gr. Wasser = 0,0148 gr. Wasserstoff oder 5,65% der aschenfreien Substanz. Das in der Kugel der Chlorcalciumröhre condensirte Wasser reagirte sauer und gab mit  $\text{BaCl}^2$  bald eine schwache Trübung, welche sich bei Zusatz von Ammoniak nicht vermehrte.

2. Substanz, getrocknet bei  $110^{\circ}$ , wurden 0,1991 gr. = 0,195 gr. aschenfreier Substanz, abgewogen. Daraus wurden erhalten 0,4016 gr. Kohlensäure = 0,1095 gr. Kohle oder 56,13%; ferner wurden erhalten 0,1112 gr. Wasser = 0,01235 gr. Wasserstoff oder 6,33% der aschenfreien Substanz. Das in der Kugel der Chlorcalciumröhre condensirte Wasser hatte gar keine saure Reaction.

Das Mittel von 1. und 2. war = 55,72% Kohlen- und 6,00% Wasserstoff.

Der Stickstoffgehalt wurde nach der oben erwähnten Methode bestimmt. Von 0,3619 gr. Substanz (bei  $110^{\circ}$  getrocknet), welche 0,3546 gr. aschenfreier Substanz entsprechen, wurden 38,05 cbem. Stickstoffgas bei  $23^{\circ}$  C. und 764 mm. Bst. erhalten. Reducirt auf  $0^{\circ}$  und 760 mm. Tension wird das Volumen = 34,7 cbem. Stickstoff, also = 0,0436 gr. oder 12,30% der aschenfreien Substanz.

Berdez & Nencki haben in dem von ihnen untersuchten Farbstoff einen geringeren Stickstoffgehalt gefunden. Es schien mir deshalb von Interesse zu sein, zu untersuchen, ob dieses vielleicht in Verschiedenheiten der Darstellungsweise

seinen Grund haben könnte, vor Allem aber glaubte ich prüfen zu müssen, ob das Kochen mit Salzsäure von 10 %, wie sie von ihnen angewandt wurde, einen Einfluss haben kann. Eine Portion des trockenen Farbstoffes wurde 10 Stunden über Wasserbad mit Salzsäure von 10 % digerirt. Der pulverförmige Farbstoff quoll nicht; das Aussehen desselben veränderte sich nicht und die Säure erhielt eine nur geringe Färbung. Die Einwirkung schien also eine nur geringfügige gewesen zu sein. Hierauf wurde der Farbstoff gewaschen, bis das Waschwasser nicht mehr sauer reagierte, sodann einer Waschung mit Alkohol und auch mit Aether unterzogen, bei 110° getrocknet und dann gewogen. Die Substanz war = 0,0776 gr. Zur Bestimmung der Asche war dieselbe unzureichend; vermuthlich war der Aschengehalt jetzt geringer als vor dem Kochen; nehmen wir an, dass er unverändert gewesen, so war die Menge der aschenfreien Substanz = 0,0761 gr. Erhalten wurden 7,8 cbcm. Stickstoffgas bei 20° und 778,2 mm. Bst. Reducirt auf 0° und 760 mm. ist das Volumen = 7,3 cbcm. Der Stickstoff ist also = 0,00918 gr. oder 12,06 %. Demnach war der Gehalt an Stickstoff etwas geringer als vor der Behandlung mit Salzsäure, und dieses kann nicht gern auf Fehler in der Analyse beruhen, denn wäre in der Bestimmung ein Fehler vorhanden gewesen, so dürfte derselbe, da die angewandte Methode leicht zu hohe Werthe giebt und eine Fehlerquelle selbstverständlich einen um so grösseren Einfluss ausübt, je geringer die Menge der angewendeten Substanz ist, eher die Procentzahl für den Stickstoffgehalt vergrössert haben. Ich glaube daher annehmen zu können, dass der Stickstoffgehalt des Präparats bei der Behandlung desselben mit Salzsäure sich in merkbarem Grade vermindert hatte, obschon das Präparat sich in seinem Aussehen unverändert zeigte. Entscheidend ist die Untersuchung doch nicht wegen der unzureichenden Menge Materials.

Präparat (b), löslich in Essigsäure (50—75 %). Für die Bestimmung des Aschengehaltes und des Eisens wurden 0,2126 gr. Substanz, getrocknet bei 110°, ver-

brannt; dieselbe gab 0,0050 gr. Asche = 2,59 %. Bei Behandlung mit Salzsäure (25 %) verblieb ein weisses Pulver (Baryumsulfat) ungelöst, die Lösung wurde zur Trockne über Wasserbad eingedampft, mit 4 cbcm. HCl (2 %) ausgezogen, mit 12 cbcm. aq. verdünnt, mit 4 cbcm. Rhodankaliumlösung (20 %) versetzt und filtrirt. Bei der spectrophotometrischen Untersuchung wurde  $\epsilon_1 = 0,845 = 0,0022\%$  Eisen erhalten;  $\epsilon_{11} = 1,746 = 0,00227\%$  Eisen, das Mittel mithin = 0,00223 % Eisen in 20 cbcm.; also die Menge des Eisens = 0,000446 gr. oder = 0,2071 gr. aschenfreier Substanz = 0,215 % Fe.

Für die Bestimmung des Schwefelgehaltes war mir nur eine geringe Menge des Präparates übrig geblieben. Bei 110° getrocknet, betrug dieser Theil 0,0341 gr., 0,0332 gr. aschenfreier Substanz entsprechend. Die Schwefelbestimmung wurde nach Hammarsten's Methode ausgeführt. Erhalten wurden 0,0143 gr. Baryumsulfat, 0,00196 gr. Schwefel oder 5,9 % der aschenfreien Substanz entsprechend. Der Eisengehalt wurde auf die gewöhnliche Weise bestimmt: der Rückstand, nachdem die Soda-Salpeterschmelze in Wasser gelöst worden, wurde in Salzsäure gelöst und über Wasserbad zur Trockne eingedampft; der Eindampfungsrückstand wurde in 2 cbcm. HCl (2 %) gelöst, mit 5 cbcm. aq. verdünnt und mit 1 cbcm. Rhodankaliumlösung (20 %) versetzt; das ganze Volumen also 8 cbcm.  $\epsilon_1 = 0,339 = 0,000881\%$  Fe,  $\epsilon_{11} = 0,66 = 0,000878\%$  Fe oder im Mittel = 0,00088 %; die Eisenmenge also = 0,0000704 gr. oder 0,212 % der aschenfreien Substanz.

Für die spectrophotometrische Untersuchung des Farbstoffes wurden zwei Versuchsserien ausgeführt.

1. Von der Substanz, bei 100—105° getrocknet, wurden 0,0177 gr., 0,0172 gr. aschenfreier Substanz entsprechend, abgewogen, in 50 cbcm. NaOH (N/10) gelöst und filtrirt. Die gefundenen Zahlen sind in Tabelle 10 und durch die Curve No. 3, Tafel II, angegeben.

Tabelle 10.

Wellenlänge.	Graden-Mittel.	Extinctions-coëfficient $\epsilon$	Relative $\epsilon$	Wellenlänge.	Graden-Mittel.	Extinctions-coëfficient $\epsilon$		Relative $\epsilon$
						$\epsilon$	$\epsilon \times 2$	
694	27,3	0,10	27	533	57,4	0,54		142
670	31,1	0,14	36	522	59,5	0,59		156
650	34,9	0,17	45	513	61,4	0,64		169
632	36,7	0,19	51	505	62,9	0,68		180
616	39,4	0,22	59	497	64,2	0,72		191
601	41,3	0,25	66					
587	44,1	0,29	76			$\epsilon^1)$	$\epsilon \times 2$	
574	47,4	0,34	90	490	51,4	0,41	0,82	246
562	49,7	0,38	100	482	52,6	0,43	0,87	229
551	52,2	0,42	112	468	55,4	0,49	0,98	260
541	55,2	0,49	129	455	58,0	0,55	1,10	292

Das Absorptionsverhältniss für die Region Wellenlänge = 562 ist zu 0,000911 berechnet.

2. Von der Substanz, getrocknet bei 100—105°, wurden 0,0331 gr., 0,0332 gr. aschenfreier Substanz entsprechend, abgewogen, in 25 chem. NaOH (N/10) gelöst, filtrirt und spectrophotometrisch untersucht. Das Resultat ist in Tabelle 11 und der Curve No. 4, Tafel II, enthalten.

Tabelle 11.

Wellenlänge.	Graden-Mittel.	Extinctions-coëfficient $\epsilon$	Relative $\epsilon$	Wellenlänge.	Graden-Mittel.	Extinctions-coëfficient $\epsilon$		Relative $\epsilon$
						$\epsilon$	$\epsilon \times 2$	
694	49,4	0,37	28			$\epsilon^2)$	$\epsilon \times 2$	
670	52,1	0,42	32	532	70,0	0,93	1,86	140
650	56,2	0,51	38	522	72,5	1,04	2,09	157
632	60,9	0,63	47	513	74,1	1,12	2,25	169
616	64,9	0,75	57	505	75,6	1,21	2,42	182
601	68,5	0,87	66	495	77,1	1,30	2,60	196
587	72,0	1,02	77					
574	74,6	1,15	87			$\epsilon^3)$	$\epsilon \times 4$	
562	77,5	1,33	100	484	66,4	0,79	3,18	239
551	79,7	1,49	112	473	68,3	0,86	3,46	260
541	81,7	1,68	126	460	70,2	0,94	3,76	283

1) Die Lösung wurde mit einem gleichen Volumen Wasser verdünnt.

2) Die Lösung wurde mit einem gleichen Volumen Wasser verdünnt.

3) Die Lösung wurde nochmals mit einem gleich. Vol. Wasser verdünnt.

Das Absorptionsverhältniss für die Region Wellenlänge = 562 ist für aschenfreie Substanz zu 0,000969 berechnet.

Im Mittel von 1. und 2. ist diese Constante = 0,000941.

Um von den erhaltenen Ergebnissen eine Uebersicht zu geben, will ich dieselben hier zusammenstellen.

Eine Uebersicht über die bei der Analyse der Farbe des Pigments gewonnenen Ergebnisse ist am leichtesten von den Curven zu erhalten, durch welche die gefundenen relativen Exstinctionscoëfficienten wiedergegeben sind und die man auf Tafel I und II findet. Tafel I entspricht den in Essigsäure (50—75 %) unlöslichen Präparaten, und Tafel II, Curve 1—4, den in Essigsäure löslichen. Die Curven, welche demselben Präparat entsprechen, sind mit derselben Art von Linien gezogen und referiren sich zu derselben Abscisse, wohingegen diejenigen, welche verschiedenen Präparaten entsprechen, mit verschiedenartigen Linien und, der besseren Uebersicht wegen, über einer in verschiedener Höhe gelegenen Abscisse gezogen sind, wie die nebenstehenden Ordinatenwerthe angeben.

Die Curven auf Tafel I laufen einander dermassen parallel, dass man von den entsprechenden Pigmenten sagen kann, dass sie dieselbe oder beinahe dieselbe Farbe gehabt haben. Dasselbe ist der Fall mit den Curven auf Tafel II. Dahingegen herrscht ein offenbarer Unterschied zwischen den Curven auf Tafel I und denjenigen auf Tafel II, indem letztere einen steileren Verlauf haben, mit anderen Worten, indem die Farbstoffe dieser Curven verhältnissmässig mehr von den stärker gebrochenen Lichtstrahlen absorbiren. Der Unterschied ist so gross und vor Allem so durchgehend, dass die in Essigsäure löslichen und die in ihr unlöslichen Präparate unzweifelhaft eine etwas verschiedene Farbe gehabt haben und also nicht denselben Farbstoff enthalten können, während andererseits die in Essigsäure unlöslichen Präparate aus verschiedenen Materialien (wie aus dem Harne, dem Barytnieder-

schlag und dem Bleiacetatniederschlag und den Geschwülsten) in der Hauptsache dieselbe Farbe gehabt haben und also identische Pigmente enthalten können; dasselbe ist auch der Fall mit den in Essigsäure löslichen Präparaten aus verschiedenen Materialien.

Da ein Theil der untersuchten Präparate aus dem Urin erhalten war, so hatte es sein Interesse, die Farbe normalen Urins spectrophotometrisch zu untersuchen, um zu sehen, ob jene Präparate eine Gemeinschaft mit derselben haben könnten, ebenso um die Anwendbarkeit der Methode für die Unterscheidung der Farbstoffe zu prüfen. Da normaler Urin eine allzu schwache Farbe hat, um in einem Lager von 1 cm. eine vollständige Untersuchung zu gestatten, so wurde derselbe bei 40° zu etwa  $\frac{1}{10}$  seines Volumens concentrirt (wobei ich ein paar Stückchen Kampher hineinlegte, um eine Zersetzung zu verhindern). Dieser auf solche Weise concentrirte Urin hatte saure Reaction. Die Farbe war rothbraun; die Schattirung derselben in's Röthliche war vielleicht etwas stärker als bei den Lösungen des Melanosarkomfarbstoffes. Der Urinfarbstoff scheint sich nicht viel, wenn überhaupt, verändert zu haben, denn bei Verdünnung nahm er wieder seine gelbe Farbe an, die sich, nach dem, was mit bloßem Auge zu entscheiden war, hinsichtlich der Stärke und des Tones unverändert zeigte. Der concentrirte Urin wurde spectrophotometrisch untersucht. Die dabei erhaltenen relativen Exinctionscoefficienten sind durch die Curve No. V auf Tafel II wiedergegeben. Wie man sieht, hat diese Curve einen ganz andern Verlauf als die übrigen; an eine Identität zwischen den Präparaten aus dem Melanosarkomurin und normalem Harnfarbstoff ist also nicht zu denken; ebenso sieht man, dass Farbstofflösungen, welche dem bloßen Auge sehr ähnlich erscheinen, bei der spectrophotometrischen Untersuchung sich ganz verschieden verhalten können.

Das Ziel, welches ich mir bei meinen Untersuchungen zunächst gestellt hatte, war, darüber in's Klare zu kommen, ob man den Farbstoff (oder die Farbstoffe) der Melanosarkomgeschwülste auch in dem Urin des Patienten finden konnte.

Die spectrophotometrische Untersuchung zeigte, dass die aus dem Urin erhaltenen Farbstoffpräparate, sowohl die in Essigsäure unlöslichen, welche die Hauptmasse bildeten, als auch die in ihr löslichen, dieselbe Farbe wie die entsprechenden Präparate aus den Geschwülsten hatten, also mit ihnen identisch sein können. Zur Entscheidung darüber, ob sie mit ihnen auch identisch sind, hat man mehrere Anhaltspunkte nöthig. Die Löslichkeitsverhältnisse der Präparate, so weit sie untersucht worden sind, sprechen für eine solche Identität. Wichtigere Data geben die quantitativen Bestimmungen, weshalb ich ihre Resultate, mit Angabe der Mittelwerthe in Fällen, wo zwei Bestimmungen gemacht wurden, hier zusammenstelle.

Tabelle 12.

	C %	H %	N %	S %	Fe %	Ab- sorptions- Verhältniss Region Wellenlänge 562.
<b>In <math>\bar{A}</math> nicht lösliche Präparate.</b>						
1. Aus den Geschwülsten.	55,72	6,00	12,30	7,97	0,072	0,00038
b) do. nach dem Kochen mit HCl (10%). . . . .	—	—	12,06	—	—	—
2. Aus dem Barytnieder- schlage . . . . .	55,76	5,95	12,27	9,01	0,20	0,00039
b) do. nach dem Kochen mit HCl (10%). . . . .	—	—	—	10,18	0,028	—
3. Aus dem Bleinieder- schlage. . . . .	—	—	—	8,30	0,25	0,00029
<b>In <math>\bar{A}</math> lösliche Prä- parate.</b>						
4. Aus den Geschwülsten.	—	—	—	5,90	0,21	0,00094
5. Aus dem Barytnieder- schlage . . . . .	—	—	—	—	0,19	0,00114
6. Aus dem Bleinieder- schlage . . . . .	58,07	8,03(?)	11,08	4,75	0,20	0,00056

Die Frage zu beantworten, welche ich mir gestellt hatte, dürfte nicht schwer sein. Dass die Präparate (1) und (2),

welche die Hauptmasse bildeten, ein und demselben Farbstoff angehören, kann wohl keinem Zweifel unterliegen. Dieselben haben, wie die Curven zeigen, die gleiche Farbe, die gleiche Farbenstärke (Absorptionsverhältniss) und den gleichen Gehalt an Kohlenstoff, Wasserstoff und Stickstoff. Die einzigen Verschiedenheiten derselben sind ihre Ungleichheiten in Bezug auf den Gehalt an Schwefel und Eisen. Was die Verschiedenheit im Eisengehalt anbelangt, so dürfte dieselbe leicht durch die etwas abweichende Präparationsweise zu erklären sein, indem der eisenreichere Farbstoff (2) den grösseren Theil seines Eisens mit Leichtigkeit bei Behandlung mit Salzsäure abgab, andererseits der an Eisen ärmere Farbstoff bei seiner Darstellung mit Salzsäure, wenn auch nicht von derselben Stärke, behandelt wurde. Da die beiden Präparate im Uebrigen eine so gute Uebereinstimmung zeigten, so kann man auf Grund der an und für sich nicht besonders bedeutenden Verschiedenheit im Schwefelgehalt derselben, ungeachtet die Frage von der Ursache dieser Verschiedenheit noch offen gelassen werden muss, nicht sagen, dass sie verschiedene Substanzen darstellen, sondern höchstens, dass wir in ihnen etwas veränderte Präparate derselben Substanz zu sehen haben. Aus ihrer Uebereinstimmung glaube ich ferner den Schluss ziehen zu können, dass beide nahezu völlig reine Präparate des Farbstoffes sind, und die Procentzahlen ziemlich gut denjenigen entsprechen, welche dem reinen Farbstoff zukommen. Aus so verschiedenartigen Mischungen wie den resp. Geschwülsten und dem Urin dargestellt, würden sie diese Uebereinstimmung nicht zeigen können, wenn sie nicht beide frei von fremden Stoffen wären (von der Asche natürlich abgesehen).

Auch das Präparat (3), Tabelle 12, aus dem Bleiniederschlag hat, wie ich annehme, wesentlich aus derselben Substanz bestanden, was ich aus der Aehnlichkeit der spectrophotometrischen Curve mit denjenigen der vorigen Präparate und der Gleichheit im Schwefel- und Eisengehalt schliesse. Die etwas niedrigere spectrophotometrische Constante lässt mich jedoch vermuthen, dass es durch etwas anderen Farb-

stoff mit grösserer Farbenstärke (wie vielleicht einen der Farbstoffe, die man aus dem Urin als Zersetzungsproducte erhält) verunreinigt gewesen ist.

Bemerkenswerth für den betreffenden Farbstoff ist der hohe Schwefelgehalt, und es würde von grossem Interesse sein zu ermitteln, in welcher Form der Schwefel sich hier findet. Zufolge der geringen Menge von Material, das mir zur Verfügung gestanden, habe ich in dieser Richtung nur einige unbedeutende Versuche machen können.

Auf Grund des ziemlich bedeutenden Eisengehaltes dieses Farbstoffes bin ich geneigt, denselben als ein Derivat des Hämoglobins aufzufassen, doch ist der Schwefelgehalt des Hämoglobins niedriger, nämlich 0,63 % (sofern das Hämoglobin des Patienten nicht einen abnorm hohen Schwefelgehalt gehabt hat) und die Herleitung des Farbstoffes vom Hämoglobin dürfte daher ziemlich complicirt sein, selbst wenn sich ein Zusammenhang mit ihm finden sollte. Auf Grund des hypothetischen Zusammenhanges mit dem Hämoglobin betrachte ich es als wahrscheinlich, dass der Schwefel sich im Farbstoff nicht in der Form von oxydirtem Schwefel als eine, Wasserstoff des Hämoglobins substituierende, SO- oder SO<sup>2</sup>-Gruppe, in welchem Falle der Gehalt an Kohle ein viel niedriger sein müsste, sondern in einer anderen Form findet. Inzwischen scheint der Schwefel im Farbstoff nicht in derselben Form vorhanden zu sein, wie der nicht oxydirte Schwefel im Eiweiss, denn ich habe nicht beobachtet, dass sich bei der Erwärmung des Farbstoffes mit sogar starker Kalilauge über Wasserbad Schwefelalkali gebildet hätte; als die Lösung mit Salzsäure sauer gemacht wurde, trat keine Entwicklung von Schwefelwasserstoff ein, und bei einem Zusatz von Bleiacetat zum Filtrat von dem ausgefällten Farbstoff entstand nur eine weisse Fällung von Chlorblei. Bei Schmelzen mit Kalihydrat bildete sich, wie auch Berdez & Nencki bei der Untersuchung ihres Farbstoffes gefunden, etwas Schwefelalkali, doch schien mir dasselbe in Bezug auf seine Menge nicht allem im Präparat enthaltenen Schwefel entsprechen zu können, weshalb ich annehme, dass noch

eine andere schwefelhaltige Substanz gebildet wurde. Berdez & Nencki haben beobachtet, dass sich bei der Behandlung ihres Phymatorhusins auf oben angegebene Weise eine flüchtige, schwefelhaltige organische Säure bildete. Ich sah es nicht für unmöglich an, dass der Farbstoff Rhodan enthalten könnte, und ich versuchte, ihn darauf experimental zu prüfen. Zu diesem Zwecke wurde wasserfreies Natriumacetat etwas über seinen Schmelzpunkt erhitzt und von dem feingepulverten Farbstoff so lange eingetragen, bis die Masse ihre flüssige Consistenz verlor, was unter Abscheidung von Kohle geschah. Die Schmelze wurde sodann mit Wasser ausgezogen, die Lösung mit einer hinreichenden Menge Salzsäure versetzt und mit Eisenchlorid auf Rhodan geprüft. Diese Probe wiederholte ich ein paar mal mit negativem Resultat, und da ich durch Controlproben mit Rhodankalium und dem im Handel vorkommenden Senföl mich überzeugt hatte, dass die Probe, wenn auch nicht empfindlich, doch anwendbar war, um Rhodan nachzuweisen, so nehme ich an, dass der Schwefel nicht oder doch nur zum geringen Theil im Farbstoff in der Form von Rhodan vorhanden gewesen ist.

Die in Essigsäure löslichen Präparate wurden in geringen Mengen erhalten. Schon aus diesem Grunde ist ihre Untersuchung weniger interessant, und da dieselbe auf Grund der kleinen Mengen nicht vollständig durchzuführen war und ich daher für die Reinheit dieser Präparate nicht dieselbe Sicherheit zu geben vermag als in Betreff der in Essigsäure unlöslichen, so verringert sich das Interesse für sie nur um so mehr. Auch hier ist die erste Frage die, ob ich im Urin denselben Farbstoff gefunden habe wie in den Geschwülsten. Von zweien der Präparate glaube ich sagen zu können, dass dieses der Fall gewesen ist, nämlich von den Präparaten, welche ich aus den Geschwülsten (4), Tabelle 12, und dem Barytniederschlag (5), Tabelle 12, erhalten habe. Ihre spectrophotometrischen Curven zeigen eine gute Uebereinstimmung; sie haben also denselben Farbenton und der Unterschied in der spectrophotometrischen Constante ist nicht grösser, als dass er recht gut durch Verunreinigung des Präparates (5)

mit ungefärbter Substanz erklärt werden kann, für welche Erklärung auch die Verschiedenheit im Eisengehalt spricht.

In welchem Verhältniss steht dieser Farbstoff nun zu den Farbstoffen, welche in Essigsäure unlöslich sind? Auf diese Frage kann ich keine befriedigende Antwort geben. Dass er mit ihnen nicht identisch ist, lässt sich aus den spectrophotometrischen Curven erschen, welche zeigen, dass seine Farbe von der ihrigen etwas abweicht. Dass das Absorptionsverhältniss für den löslichen Farbstoff mehr als doppelt so hoch ist als für den unlöslichen, kann nicht darauf beruhen, dass der lösliche Farbstoff eine Mischung des letztern mit mehr als dem gleichen Gewicht ungefärbter Substanz bildet, denn dann müsste der Eisengehalt der Präparate verschieden sein. Ich betrachte es daher als wahrscheinlich, dass die in Essigsäure löslichen Präparate einen eigenartigen Farbstoff enthalten haben, von dem man auf Grund der Aehnlichkeit zwischen den Präparaten aus den Geschwülsten und demjenigen aus dem Urin dürfte annehmen können, dass er in einigermassen reiner Form vorgelegen habe. Auf Grund der Gemeinschaft im Vorkommen und der Gleichheit im Eisengehalt dürfte dieser Farbstoff als mit dem in Essigsäure unlöslichen nahe verwandt zu betrachten sein. Welcher Zusammenhang sich zwischen diesen Farbstoffen aber findet, ob der eine aus dem andern gebildet wird und in diesem Falle welcher, ob sie vielleicht beide, ein jeder für sich, aus einer gemeinsamen Muttersubstanz entstehen, darüber habe ich mir keine bestimmte Ansicht bilden können.

Von dem dritten dieser Präparate (6), Tabelle 12, welches aus dem Bleiacetatniederschlag erhalten wurde, vermuthe ich dahingegen, dass es zum grossen Theil aus anderen Farbstoffen (Zersetzungsproducten aus dem Urin) bestanden hat. Seine Farbe scheint zwar, wie Curve 2 auf Tafel II zeigt, dieselbe wie in den andern Präparaten gewesen zu sein, sein Absorptionsverhältniss aber ist ein ganz anderes, indem die Farbenstärke desselben eine viel grössere ist. Man sollte meinen, dass dieses Präparat aus einer Mischung des in Essigsäure löslichen Farbstoffes mit dem in Essigsäure unlös-

lichen bestehe, was auch mit dem gefundenen Eisengehalt übereinstimmen würde. Eine solche Annahme würde aber voraussetzen, dass die ersteren Präparate beinahe schwefelfrei seien [was jedoch durch die Analyse (4), Tabelle 12, bestimmt widerlegt wird] und dass sie einen hohen Kohlenstoffgehalt (ungefähr 60 %) haben. Verbrennungen dieser Präparate, (4) und (5), Tabelle 12, in Sauerstoffgas, deren Ergebnisse zu unsicher sind, um sie anzuführen, thun jedoch dar, dass dieselben keinen so hohen Kohlenstoffgehalt hatten, sondern dass derselbe eher niedriger war als in dem Präparat aus dem Bleiniederschlag. Auf den Gedanken an eine Verunreinigung durch Farbstoffe, welche sich aus dem Harn als Zersetzungsproducte erhalten lassen (Uromelanin), wurde ich theils dadurch gebracht, dass der Bleiacetatniederschlag, den man aus normalem Urin erhält, den grösseren Theil seiner Farbe mit sich nimmt und reich an chromogener Substanz ist, theils dadurch, dass ich aus dem Bleiniederschlag, den ich aus Urin von sowohl gesunden wie kranken Personen erhalten, Farbstoffe bekommen habe, die schwefelhaltig und bisweilen auch eisenhaltig waren (bei einer solchen Bestimmung fand ich 5 % S). Dieses Präparat, (6), Tabelle 12, betrachte ich deshalb für die hier vorliegende Frage als von geringem Interesse und mehr als einen Anknüpfungspunkt für künftige Untersuchungen in Betreff der Farbstoffe, welche man als Zersetzungsproducte von Chromogenen des Harns erhält.

---

Bei einem Rückblick auf die in der Litteratur beschriebenen Fälle richtet sich die Aufmerksamkeit unwillkürlich auf den Fall, den Berdez & Nencki beobachtet und beschrieben haben. Nicht nur das Auftreten und die Entwicklung der Geschwülste zeigte in ihrem und meinem Fall eine auffällige Uebereinstimmung, sondern auch der Farbstoff in den Geschwülsten war in beiden Fällen sehr gleich, dies sowohl hinsichtlich des äusseren Aussehens wie auch der Löslichkeitsverhältnisse. Der Schwefelgehalt war in beiden Fällen sehr hoch, obwohl in ihrem Präparat höher als in

dem meinigen. Im Uebrigen weist die elementare Zusammensetzung nicht unbedeutende Verschiedenheiten auf. In meinem Präparat fand sich eine recht bedeutende Menge Eisen, das in ihrem Phymatorhusin gänzlich fehlte, welches Verhältniss jedoch, wie ich weiter oben gewiesen, durch die von ihnen angewandte Darstellungsmethode erklärt werden kann, denn ist ihr Phymatorhusin auch anfangs eisenhaltig gewesen, so muss es sicherlich all' sein Eisen, oder doch das Meiste davon, beim Kochen mit Salzsäure von 10 % verloren haben. Der vorhandene Unterschied im Stickstoffgehalt scheint mir nach Experimenten, welche ich ausgeführt, vielleicht in derselben Weise zu erklären zu sein; durch Kochen mit Salzsäure von 10 % wurde nämlich der Stickstoffgehalt wenn auch wenig, so doch merkbar vermindert und solchergestalt dem von Berdez & Nencki gefundenen genähert. Beim Kochen mit Salzsäure veränderte sich in meinem Präparat auch der Schwefelgehalt, so dass er demjenigen in Berdez & Nencki's Präparat gefundenen beinahe gleich kam. Die Verschiedenheiten in diesen drei Hinsichten, nämlich in Bezug auf den Eisengehalt, den Stickstoffgehalt und den Schwefelgehalt, können also möglicherweise darauf beruhen, dass Berdez & Nencki ihr Präparat mit Salzsäure gekocht haben und der Farbstoff dabei so grosse Veränderungen erlitten hat, dass die abweichenden Ergebnisse der Untersuchungen dadurch bedingt werden konnten. Ob dieses auch in Bezug auf die Verschiedenheit im Kohlen- und Wasserstoffgehalt gilt, darüber habe ich nicht in's Klare kommen können, indem das Material für Untersuchungen in dieser Richtung nicht ausreichte. Da aber die Gleichheiten zwischen dem von mir dargestellten, in starker Essigsäure unlöslichen Farbstoff und Berdez & Nencki's Phymatorhusin überwiegend und die Ungleichheiten darauf beruhend zu sein scheinen, dass Berdez & Nencki das Präparat einer allzu eingreifenden Behandlung unterworfen haben, so dass der Farbstoff in verändertem Zustand erhalten wurde, so nehme ich als höchst wahrscheinlich an, dass unsere Farbstoffe identisch sind, und betrachte es daher als berechtigt, dass ich für

den von mir untersuchten Farbstoff den Namen Phymatorhusin aufnehme, wenn derselbe auch ursprünglich für den veränderten Farbstoff angewandt worden ist.

Andere untersuchte Präparate aus melanotischen Geschwülsten zeigen sich von dem Phymatorhusin wesentlich verschieden. Das von Heintz untersuchte Präparat war schwer löslich in Alkalien, hatte niedrigere Kohlenstoff- und Wasserstoffgehalt und bedeutend niedrigeren Stickstoffgehalt, auch war es eisenfrei, alles Charaktere, aus denen ich schliesse, dass dieser Farbstoff von ganz anderer Art war als der von mir untersuchte. Das erste der Präparate, welche Dressler (1) untersucht hat, war schwefelfrei und hatte bedeutend niedrigeren Kohlenstoffgehalt; auch scheint es ausserdem in Ammoniak ziemlich schwer löslich zu sein. Das zweite von Dressler (2) untersuchte Präparat hatte einen bedeutend niedrigeren Stickstoffgehalt.

Ebenso wenig scheint das Phymatorhusin mit einem der anderen Pigmente, über welche im Anfange dieser Abhandlung berichtet worden ist, eine Gemeinschaft zu haben. Das Pigment aus der Chorioidea ist unlöslich oder doch wenigstens schwer löslich in Alkalien; ferner ist es frei von Schwefel, und nach der Mehrzahl der Angaben auch frei von Eisen. Das Pigment aus Haaren ist nach Sieber eisenfrei, und der Stickstoffgehalt wie auch der Schwefelgehalt sind in ihm viel niedriger als im Phymatorhusin. Der Farbstoff aus melanotischen Geschwülsten von Pferden wurde von Dressler frei von Schwefel, beinahe frei von Eisen und wenig löslich in Kalilauge gefunden. Berdez & Nencki fanden in diesem Farbstoff, dem «Hippomelanin», Schwefel, aber in viel geringerer Menge als im Phymatorhusin; ferner fanden sie den Farbstoff unlöslich in kalter Kalilauge und eisenfrei. Mit diesen Farbstoffen, nämlich einem Theil der Farbstoffe aus melanotischen Geschwülsten von Menschen, Farbstoff aus melanotischen Geschwülsten von Pferden, dem Chorioidpigment und Farbstoff aus Haaren scheint das Phymatorhusin also in keiner oder doch nur in sehr entfernter Verwandtschaft zu stehen.

Ich glaube zwei Fragen, die schon früher aufgeworfen, aber noch nicht entscheidend beantwortet sind, hier berühren zu müssen, nicht um sie zu beantworten, sondern nur, um sie für fortgesetzte Untersuchungen mir offen zu halten. Diese Fragen beschäftigen sich mit dem Ursprung des Phymatorhusins, sowie damit, ob es ein ganz pathologischer Farbstoff ist oder ob es von dem gesunden Organismus, wenschon nur in geringerer Menge, producirt wird.

Die erste dieser Fragen wird von Berdez & Nencki (S. 357) dahin beantwortet, dass zwischen den Melanosarkomfarbstoffen und dem Blutfarbstoff kein chemischer Zusammenhang existire, indem das Hämatin wohl Eisen, aber keinen Schwefel enthalte. Das von mir untersuchte Phymatorhusin enthielt Eisen in recht bedeutender Menge, nämlich ungefähr halb so viel als das Hämoglobin, und es ist höchst wahrscheinlich, dass auch der von Berdez & Nencki untersuchte Farbstoff ursprünglich eisenhaltig gewesen ist. Damit verliert das eine Glied in ihrer Beweisführung alle Bedeutung, und dies ist auch mit dem anderen der Fall, denn man kann wohl sagen, dass es nicht berechtigt ist, mit dem Worte Blutfarbstoff das Hämatin zu bezeichnen, welches ein Zeretzungsproduct des normalen Farbstoffes, des Hämoglobins ist; das Hämoglobin aber enthält Schwefel, wenschon in geringerem Grade als die Eiweisskörper. Die Eiweisskörper, in denen Berdez & Nencki (S. 360) die Muttersubstanz des Phymatorhusins sehen, sind nicht einmal annäherungsweise so schwefelhaltig wie dieser Farbstoff. Es ist daher kaum leichter, den Schwefel des Phymatorhusins von demjenigen eines Eiweisskörpers herzuleiten, als sich den Ursprung desselben im Schwefel des Hämoglobins zu denken. Berdez & Nencki's Beweisführung sehe ich mithin nicht für bindend an, und ich für meinen Theil glaube auf Grund des im Phymatorhusin enthaltenen Eisens, dass dieser Farbstoff durch eine Umsetzung des Hämoglobins entsteht oder eine mit derjenigen des Hämoglobins verwandte Entstehungsweise hat. Vossius, welcher in mehreren Fällen von melanotischen Geschwülsten im Auge auf microscopischem Wege

Eisen in den pigmentirten Zellen nachzuweisen vermochte, schliesst, dass das Pigment in den melanotischen Tumoren, wenigstens bisweilen, vom Hämoglobin abstammt.

Auf Grund histologischer Untersuchungen ist diese Ansicht schon von mehreren Autoren, wie Rindfleisch, Langhans, Gussenbauer, Nepveu u. s. w. ausgesprochen, von andern, wie Virchow, Baumgarten, Fuchs u. s. w. aber in Zweifel gezogen worden. Wenn Pigment in einer so grossen Menge, wie hier der Fall war, vom Blutfarbstoff gebildet wird, so könnte man erwarten, die Menge des Blutfarbstoffes im Blute vermindert zu sehen, dies war hier aber nicht der Fall. Die beiden Male, wo der Hämoglobingehalt des Blutes bestimmt wurde, war er nicht abnorm niedrig (resp. 15,4 und 14,7%), und die Zahl der rothen Blutkörperchen war weder zu diesen Zeitpunkten, noch bei anderen Gelegenheiten, wo sie bestimmt wurde, geringer, sondern eher grösser als normal. Die Abnormität, welche ich in dem relativen Vermögen des Hämoglobins, das Licht in den untersuchten Spectralregionen zu absorbiren, gefunden habe, will ich hier nur erwähnen, ohne daraus den Schluss zu ziehen, dass das Hämoglobin in diesem Falle von abnormer Beschaffenheit gewesen ist.

Eine Frage, welche mit der von dem Ursprung des Farbstoffes, in nahem Zusammenhang steht, ist die, wie der Farbstoff in den Urin übergehen kann. Wenn man annähme, dass der Farbstoff an einer anderen Stelle als in den Geschwülsten gebildet und dann in ihnen deponirt würde, eine Möglichkeit, die von Virchow hervorgehoben worden ist, so wäre es leicht erklärlich, dass ein Theil des Farbstoffes (oder seines Chromogens) in den Urin übergehen könnte. Da inzwischen directe Beobachtungen von Langhans, Nepveu und Vossius zeigen, dass im Untergang begriffene rothe Blutkörperchen in den Geschwülsten vorkommen können, dass Zersetzung des Blutfarbstoffes, sowie Bildung des Geschwulstpigments wenigstens zum Theil [vielleicht ganz und gar] in der Geschwulst stattfinden kann, so hat man allen Grund zur Frage, ob das Pigment aus den Geschwülsten in

die Circulation übergehen und später mit dem Urin eliminirt werden kann. Der von mir untersuchte Farbstoff war so leicht löslich in Alkalicarbonaten und Dialkaliphosphaten, dass es gar nicht unwahrscheinlich ist, dass er auch in solcher Lösung im Blute vorkommen kann. Auch sein Uebergang in den Urin enthält nicht Ungereimtes, indem die Lösung in Phosphat mit Salzsäure sauer [amphoter sauer] gemacht werden konnte, ohne dass der Farbstoff ausgefällt wurde. Für eine solche Annahme sprechen auch einige klinische Beobachtungen, nämlich die Angaben bei Pribram & Ganghofner, dass sowohl sie als Dolbeau gesehen haben, wie melanotische Tumore, auch solche von der Grösse einer Wallnuss, mit dem Pigment und Allem resorbirt worden sind, welche Resorption leicht und schnell vor sich gegangen zu sein scheint.

Die andere Frage, welche ich andeutete, war die, inwiefern Pigmente, die bei Patienten mit melanotischen Geschwülsten vorkommen, auch unter normalen Verhältnissen durch entsprechende Stoffe vertreten sind. Besonders in Bezug auf das von Eiselt nachgewiesene Chromogen im Urin haben Hoppe-Seyler und auch Virchow die Möglichkeit in Betracht gezogen, dass die Veränderungen im Urin mehr quantitativ als qualitativ sein können. Da der Urin des von mir beobachteten Patienten nie Eiselt's Reaction gab, so habe ich keine Veranlassung, auf die genannte Frage einzugehen. Inzwischen giebt sie mir Anlass, daran zu denken, ob das von mir untersuchte Pigment, das Phymatorhusin, auch im normalen Organismus oder bei anderen pathologischen Processen als der Bildung von melanotischem Sarkom vorkommen kann. Die Entscheidung dieser Frage setzt eine wenigstens einigermaßen vollständige Kenntniss der Farbstoffe voraus, welche sich normal im Organismus oder den Secreten desselben finden; aber gerade von den Farbstoffen, welche zu kennen für die Frage am wichtigsten wäre, nämlich die normalen Harnfarbstoffe und die Farbstoffe, welche als Zersetzungsproducte von Chromogenen des Harns zu erhalten sind, weiss man noch wenig

und es würde allzu weit über die Grenzen dieser Arbeit hinaus gehen, wollte ich versuchen, ihre Chemie hier klarzulegen. Inzwischen habe ich geglaubt untersuchen zu müssen, ob ich mit der Darstellungsweise, welche ich für das Phymatorhusin angewandt habe, einen ähnlichen Farbstoff aus normalem Urin und aus Urin von Kranken erhalten könnte. Bei einigen solchen Versuchen, wo ich Urin von gesunden Personen und von Fieberpatienten, sowie einen dunkelfarbigem Urin von einer Person mit Cancer ventriculi mit Barytwasser gefällt habe, hat der Niederschlag nur ganz unbedeutende Mengen Farbe enthalten, welche sich ausserdem nicht so verhalten hat, wie das Phymatorhusin. Da ich bei der Bearbeitung des Harns von Melanosarkompatienten das Phymatorhusin hauptsächlich in der Barytfällung wiedergefunden habe, so zeigte sich dieser Urin wenigstens in dieser Hinsicht abnorm. Mit Bleiacetat werden aus dem Urin Farbstoffe und Chromogene in reichlicher Menge gefällt. Es ist daher mit grosser Schwierigkeit verbunden, zu untersuchen, ob sich aus diesem Niederschlag Phymatorhusin darstellen lässt. Aus dem Bleiacetatniederschlag aus dem Urin gesunder und mit verschiedenartigen Krankheiten behafteter Personen ist es mir zwar nicht gelungen, einen Farbstoff zu isoliren, welcher in Allem mit dem Phymatorhusin übereinzustimmen scheint, doch habe ich daraus Präparate erhalten, die reich an Schwefel und zuweilen auch eisenhaltig waren. Ich muss deshalb die Frage, ob man aus diesem Niederschlag Farbstoffe darstellen kann, welche mit dem Phymatorhusin verwandt sind, unentschieden lassen.

### Erklärung der Tafeln.

#### Tafel I.

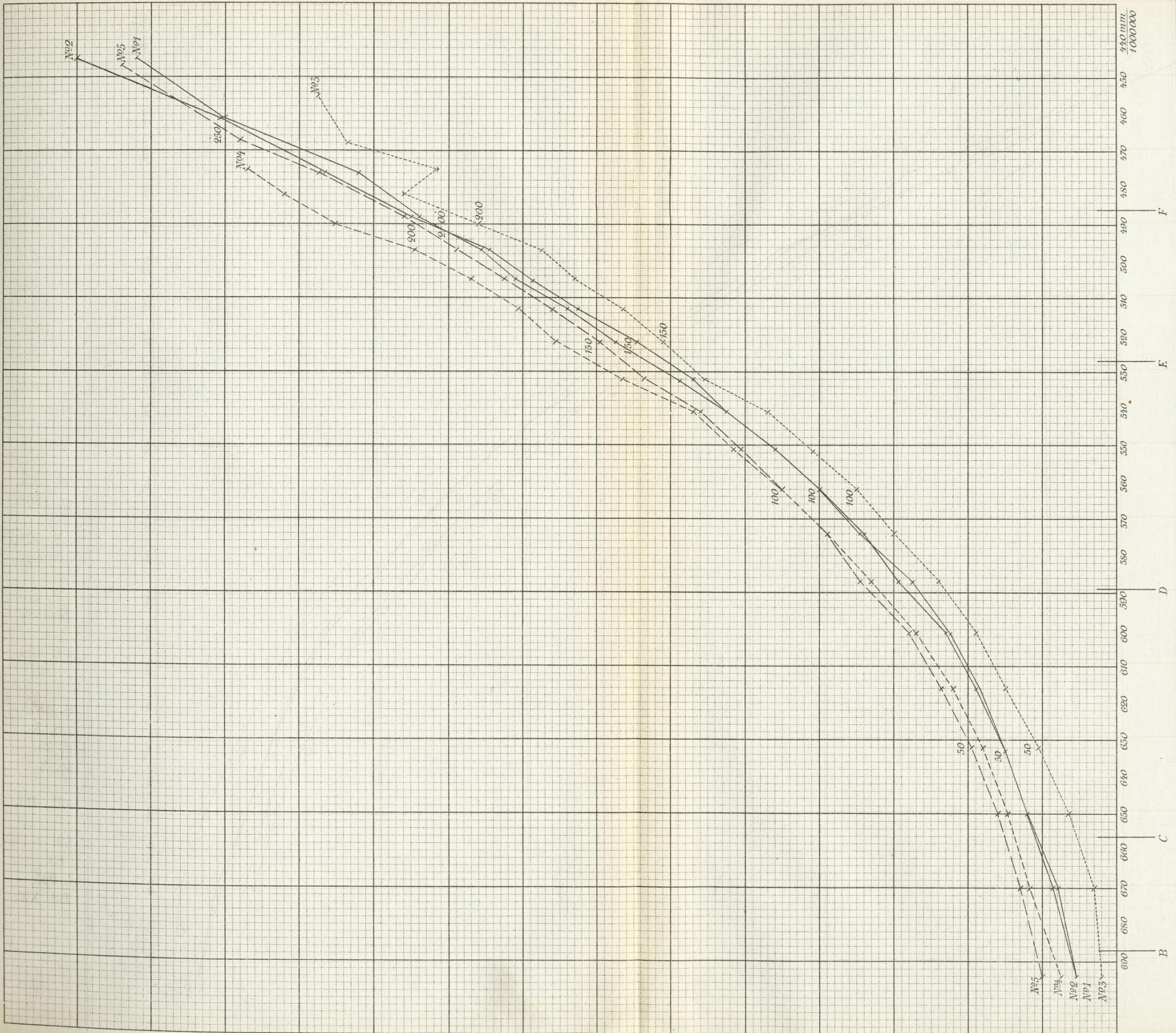
- Curve No. 1 und 2. Farbstoff aus dem Barytniederschlage aus dem Urin; unlöslich in starker Essigsäure.
- Curve No. 3. Farbstoff aus dem Bleiacetatniederschlage aus dem Urin; unlöslich in starker Essigsäure.
- Curve No. 4 und 5. Farbstoff aus den Geschwülsten; unlöslich in starker Essigsäure.

## Tafel II.

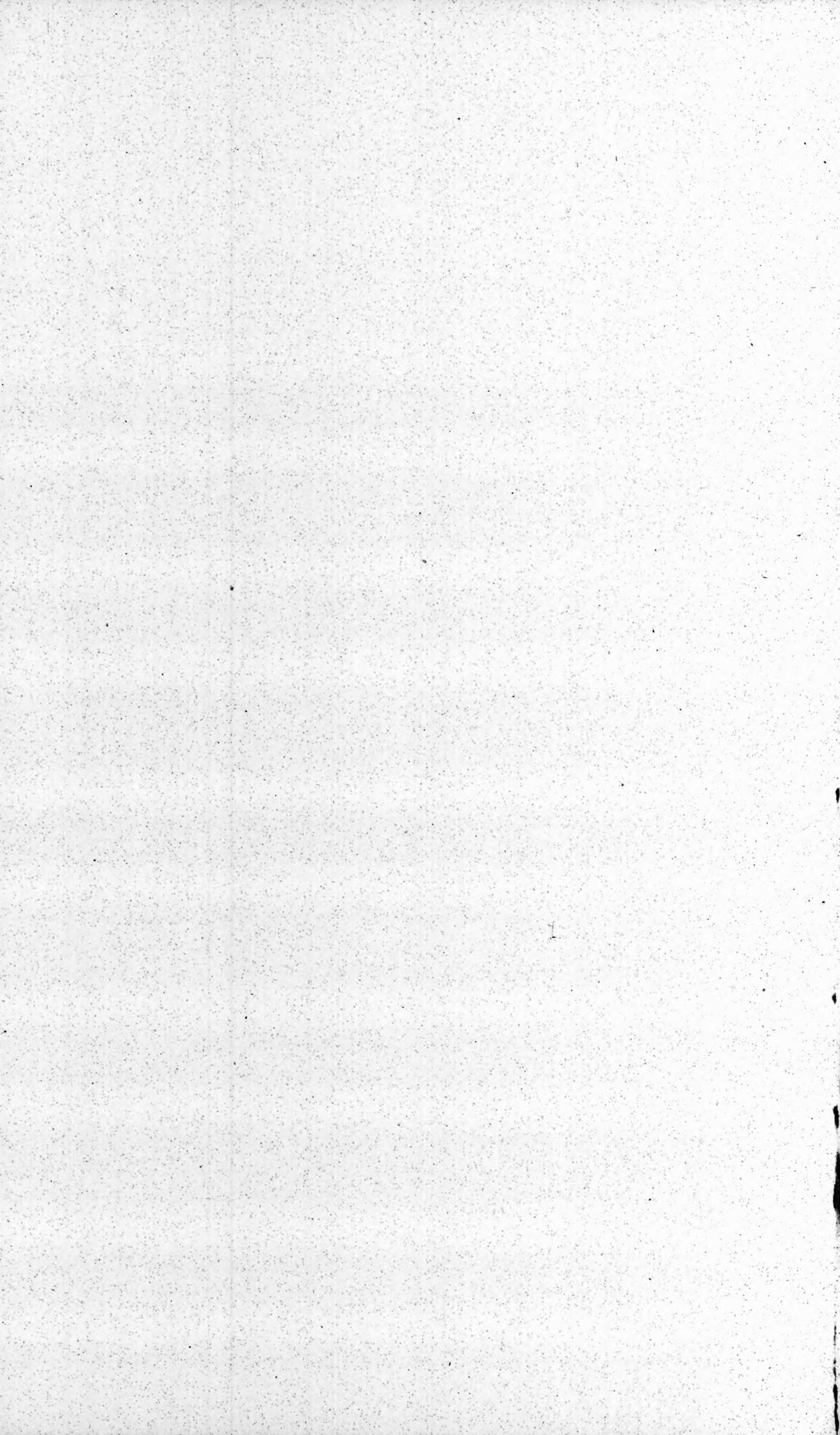
- Curve No. 1. Farbstoff aus dem Barytniederschlage aus dem Urin; löslich in starker Essigsäure.
- Curve No. 2. Farbstoff aus dem Bleiacetatniederschlage aus dem Urin: löslich in starker Essigsäure.
- Curve No. 3 und 4. Farbstoff aus den Geschwülsten; löslich in starker Essigsäure.
- Curve No. V. Normaler Urin.

## Litteratur.

- Berdez & Nencki: Archiv f. exper. Pathologie u. Pharmacologie. 1886. Bd. XX, S. 346.
- Berzelius: Lehrbuch der Chemie. 3. Aufl. 1840. Bd. IX, S. 522.
- Dressler: 1) Vierteljahrschrift f. d. prakt. Heilkunde. Prag, 1865. Bd. LXXXVIII, S. 9. — 2) Vierteljahrschrift f. d. prakt. Heilkunde. Prag, 1869. Bd. CI, S. 59.
- Eberth: Archiv f. path. Anatomie u. Physiologie u. f. klin. Medicin. 1873. Bd. LVIII, S. 58.
- Eiselt: 1) Vierteljahrschrift f. d. prakt. Heilkunde. Prag, 1861. Bd. LXX, S. 107. — 2) Vierteljahrschrift f. d. prakt. Heilkunde. Prag, 1862. Bd. LXXVI, S. 16.
- Floyd: Journal of the chemical society. London, 1877. Vol. I, S. 329.
- Ganghofner & Pribram: Vierteljahrschrift f. die prakt. Heilkunde. Prag, 1876. Bd. CXXX, S. 77.
- Hammarsten: Zeitschrift f. physiolog. Chemie. 1885. Bd. IX, S. 273.
- Heintz: Archiv f. pathol. Anatomie u. Physiologie u. f. klin. Medicin. 1847. Bd. I, S. 477.
- Hoppe-Seyler: Archiv f. pathol. Anatomie u. Physiologie u. f. klin. Medicin. 1863. Bd. XXVII, S. 388.
- Hüfner: Journal f. prakt. Chemie. 1877. Bd. XVI, S. 290.
- Kreusler: Zeitschrift f. analytische Chemie. 1885. Bd. XIV, S. 445.
- Nepveu: Mémoires de la société de biologie. 1872. Bd. XXIV, S. 3.
- Otto: 1) Christiania Videnskabselskabs Forhandling. 1882. No. 25. — 2) Christiania Videnskabselskabs Forhandling. 1883. No. 3.
- Plósz: Zeitschrift f. physiolog. Chemie. 1883. Bd. VIII, S. 85.
- Pribram: Vierteljahrschrift f. d. prakt. Heilkunde. Prag, 1865. Bd. LXXXVIII, S. 16.
- Rosow: Archiv f. Ophthalmologie. 1863. Bd. IX, Abth. III, S. 63.
- Scherer: Annalen d. Chemie u. Pharmacie. 1841. Bd. XV, S. 63.
- Schlossberger: Lehrbuch d. org. Chemie. 5. Aufl. 1860. S. 925.
- Sieber: Archiv f. exper. Pathologie u. Pharmacologie. 1886. Bd. XX, S. 362.







Simon: Handbuch d. angew. medic. Chemie. 1840. Bd. I, S. 347.

Vierordt: 1) Die Anwendung des Spectralapparates zur Messung und Vergleichung der Stärke des farbigen Lichtes. Tübingen, 1871. — 2) Die Anwendung des Spectralapparates zur Photometrie der Absorptionsspectren. Tübingen, 1873. — 3) Die quantitative Spectralanalyse. Tübingen, 1876.

Virchow: Die krankhaften Geschwülste. 1864—65. Bd. 11, S. 271.

Vossius: Archiv f. Ophtalmologie. 1885. Bd. XXXI, Abth. II, S. 161.

Zeller: Archiv f. klin. Chirurgie. 1883. Bd. XXIX, S. 245.