

## Zur Frage über den Eisengehalt des Sarcommelanins vom Menschen.

Von

Dr. E. Zlarek und Dr. R. v. Zeynek.

(Aus dem Universitäts-Laboratorium f. med. Chemie in Wien.)

(Der Redaction zugegangen am 11. September 1902.)

Die meisten Autoren, welche die Entstehung des Sarcommelanins aus dem Blutfarbstoffe vertreten, gehen von der Annahme aus, es müsste der Hämatincomplex zur Bildung des Melanins dienen, während die Eiweisscomponente dabei zerfällt. Dass die Zersetzung des Hämoglobins verlaufen könnte mit partieller Zerstörung des im Blutfarbstoffe doch ziemlich festgebundenen Theiles, welcher bei den usuellen Spaltungen des Hämoglobins als Hämatin erhalten wird, ist noch nicht discutirt worden. Die Berechtigung letzterer Annahme möge nun durch die im Folgenden beschriebenen Versuche unterstützt werden.

Mehrfache, in diesem Institute ausgeführte Versuche, Melanin aus menschlichen Sarcomen rein darzustellen, hatten stets zu eisenhaltigen Körpern geführt. Zu dem gleichen Resultate gelangte bekanntlich s. Z. Mörner.<sup>1)</sup> Da Mörner's Versuche wie die jener Autoren,<sup>2)</sup> welche seine Resultate, betreffend den Eisengehalt des Sarcommelanins, bestätigt hatten, nicht ohne Widerspruch geblieben sind, haben wir eine grössere Menge von derartigem Melanin der Untersuchung auf Eisen unterzogen.

1) Diese Zeitschr., Bd. XI S. 66 und XII. S. 229.

2) Wallach, Virchows Archiv, Bd. 119. Brandl und Pfeiffer, Zeitschr. f. Biologie. Bd. 26.

Das Ausgangsmaterial waren zwei melanotische Lebern, von denen die eine so dicht mit Melaninknoten durchsetzt war, dass eine Isolirung dieser undurchführbar war, ferner einige zu den beiden Fällen gehörende Lymphdrüsen. Die Melaninmasse wurde, soweit es anging, von dem normal erscheinenden Gewebe getrennt, zum anderen Theile mit den Gewebsresten in dünne Scheiben geschnitten und unter Wasser ausgeknetet. Nach dem Absetzen des Melaninbreies wurde mit Chloroformwasser,<sup>1)</sup> dem eine kleine Menge Natriumcarbonat (etwa 0,05%) beigefügt war, mehrmals durch Decantation gewaschen, bis das Waschwasser keine Spur eines Blutfarbstoffspectrums zeigte. Der Rückstand wurde dann mehrere Tage mit 0,4% iger Salzsäure und Pepsin bei 40° belassen, auf ein Filter gebracht, worauf der Niederschlag mit Aceton vom anhaftenden Wasser befreit wurde und dann so lange mit Aether extrahirt wurde, als dieser noch etwas löste. Der von Fett u. s. w. befreite Rückstand wurde fein zerrieben und nochmals der Verdauung mit Pepsinsalzsäure unterworfen. Dieser Verdauungsrückstand wurde mit einer Mischung von gleichen Theilen ausgekochten Weingeistes, Wassers und etwa 5% Ammoniak mehrmals ausgezogen, wobei von dem Farbstoffe eine relativ geringe Menge in Lösung ging. Diese Lösungen wurden nicht weiter untersucht.

Eine Probe des so dargestellten Melanins wurde mit Ammoniak und Hydrazinhydrat versetzt: die braune Lösung erwies sich bei der Untersuchung mit dem Spectroskop als absolut frei von Hämochromogen. In der Asche einer zweiten Probe wurde Eisen neben etwas Kieselsäure und Kalk nachgewiesen. Phosphorsäure war nicht vorhanden. Sowohl wässriges Ammoniak als Kali- oder Natronlauge lösten von dem Melanin reichliche Mengen auf.

Um zu entscheiden, ob das gefundene Eisen etwa nur als Verunreinigung dem Farbstoff anhafte, wurde versucht, denselben mit verdünntem (ca. 5% igem) Ammoniak in Lösung zu bringen und aus dieser Lösung fractionirt mit Chlorbaryum-

1) Die Ausführung dieser Darstellung wurde unternommen vor E. Fischer's Empfehlung des Toluols als Zusatz zu faulenden Flüssigkeiten.

und mit ammoniakalischer Zinklösung zu fällen. Es gelang jedoch nicht, mit Ammoniak bei Zimmertemperatur Alles auf einmal zu lösen; aber nachdem von der ersten Lösung der ungelöste Rückstand getrennt worden war, löste auf diesen gebrachtes Ammoniak wieder eine beträchtliche Menge auf. Um etwaige Oxydation der alkalischen Flüssigkeiten durch den Sauerstoff im Wasser zu verhindern, wurde zum Verdünnen des Ammoniaks ausgekochtes Wasser verwendet. Von besonderen Vorsichtsmassregeln glaubten wir absehen zu dürfen.

Die Einwirkung des Ammoniaks zur Herstellung einer Fraction dauerte Anfangs einen Tag, später wurde hier und da etwas längere Zeit zugewartet.

Die ammoniakalischen Lösungen wurden mit Essigsäure angesäuert, wobei das Melanin vollständig gefällt wurde, die Niederschläge wurden auf Filtern gut mit heissem Wasser gewaschen, bei 105—110° getrocknet. So wurden mehr als 20 Fractionen erhalten, die sämtlich eisenhaltig waren.

Der von diesen Fractionen bleibende Rückstand war zwar nicht unlöslich in Ammoniak oder in Laugen, doch wurde auf ein weiteres Fractioniren verzichtet.

Von diesen Fractionen wurden einzelne quantitativ untersucht: die Resultate sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Nr. der Fraction	C.	In Procenten.				Fe
		H	N	S		
VI	48.95	4.23	—	—	0.41	
VIII	—	4.81	12.58	8.23	0.41	
IX	50.83	—	—	6.90	} 0.42	
X	51.04	4.98	—	5.18		
XII	52.28	4.75	—	4.31	0.39	
XVI	54.76	4.99	12.99	2.51	0.39	
XXI	54.93	5.15	13.02	1.92	eisenhaltig.	
Rückstand	53.30	5.89	13.51	1.74	nicht bestimmt. eisenhaltig. nicht bestimmt.	

Zu der vom «Rückstand» mitgetheilten Analyse ist zu bemerken, dass das Präparat von Filtrirpapierfasern nicht frei erhalten werden konnte.

Aus diesen Versuchen geht hervor, dass das Eisen im

Sarcommelanin sogar recht fest gebunden sein muss. Auch bei mehrtägiger Dialyse der ammoniakalischen Lösungen gegen destillirtes Wasser konnte im Dialysat kein Eisen nachgewiesen werden. Nach 3stündigem Kochen mit 0,4%iger Salzsäure war ein Theil des Eisens gelöst worden und konnte in der braun gefärbten Lösung (untersucht wurden Fractionen IX, XVI, XXI) mit den gebräuchlichen Reagentien nachgewiesen werden. Im ungelösten Theile war jedoch eine immerhin reichliche Menge von Eisen nach der Veraschung nachweisbar.

Würden die Melaninknoten nur in der Leber gebildet, so liesse sich die Vermuthung aussprechen, sie entstünden durch Zersetzung verschiedener eisenhaltiger Eiweisskörper, nicht aber aus Hämoglobin. Da sie sich aber auch in eisenarmen Organen finden, so liegt es nahe, zu ihrer Entstehung den Blutfarbstoff selbst als nothwendig anzusehen.

Von Interesse dürfte die Mittheilung eines Versuches sein, den wir nebenbei betreffend die Intensität der Stickstoffbindung angestellt haben. Es wurden 0,4194 g der Fraction IX durch 2 Stunden mit 30%iger vorher ausgekochter Lauge im Wasserdampfströme gekocht und das entwichene Ammoniak wurde bestimmt; dessen Menge betrug 0,00396 g, also weniger als 1 Procent. —

#### Belege.

Fraction VI. 0,1784 g Substanz gaben 0,0676 g Wasser, 0,3202 g Kohlensäure bei der Verbrennung mit chromsaurem Blei unter vorgelegter Kupfer- und Kupferoxydspirale. 0,5404 g, mit Salpetersäure abgedampft und dann nach Sodazusatz verascht, verbrauchten für die schliesslich erhaltene Schwefelsäurelösung, die mit reinem Zink im Kohlensäurestrom reducirt worden war, 1,7 ccm Chamäleon (1 ccm = 0,0013 g Eisen).

Fraction VIII. 0,1913 g Substanz gaben 0,0829 g Wasser. 0,3040 g gaben nach Dumas bei 19,4° und 746,2 mm Barometerstand 33,2 ccm trockenen Stickstoff. 1,4471 g gaben 0,8660 g Baryumsulfat. 0,501 g verbrauchten 1,6 ccm Chamäleon.

Fraction IX. 0,1970 g gaben 0,3672 g Kohlensäure. 0,1385 g gaben 0,0695 g schwefelsaures Baryum.

Fraction X. 0,1547 g gaben 0,0696 g Wasser, 0,2895 g Kohlensäure. 0,500 g gaben 0,1885 g Baryumsulfat. IX und X vereinigt: 0,4986 g verbrauchten 1,6 ccm Chamäleon.

- Fraction XII. 0,2468 g gaben 0,1056 g Wasser, 0,4731 g Kohlensäure. 0,2070 g gaben 0,0649 g Baryumsulfat. 0,522 g verbrauchten 1,55 ccm Chamäleon.
- Fraction XVI. 0,2184 g gaben 0,0982 g Wasser, 0,4385 g Kohlensäure. 0,2749 g gaben nach Dumas bei 19,50 und 746,5 mm 31,0 ccm trockenen Stickstoff. 0,8355 g gaben 0,0047 g Eisenoxyd und 0,1522 g Baryumsulfat.
- Fraction XXI. 0,2170 g Substanz gaben 0,1005 g Wasser, 0,4371 g Kohlensäure. 0,2795 g gaben bei 19,50 und 746,5 mm 31,6 ccm trockenen Stickstoff nach Dumas. 0,711 g gaben 0,0995 g Baryumsulfat.
- „Rückstand.“ 0,2501 g gaben 0,1336 g Wasser, 0,4888 g Kohlensäure. 0,3386 g gaben nach Dumas bei 19,20 und 748 mm 39,6 ccm trockenen Stickstoff. 1,265 g gaben 0,1600 g Baryumsulfat.
- Fraction IX. 0,4194 g gaben nach Kjeldahl destillirt: vorgelegt 4,75 ccm Normalschwefelsäure, zurücktitrirt 44,9 ccm Barytwasser (1 ccm = 0,1006 Normal), Differenz 0,23 ccm Normal = 0,0039 Ammoniak.