

(Aus dem Pathol. Institut der Univ. Berlin. — Direktor: Geh. Rat Prof. Dr. *Lubarsch.*)

## Das melanotische Pigment.

Von

**Benno Brahn.**

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 29. Juli 1924.)

Besprochen wird im folgenden nur das in bösartigen menschlichen Geschwülsten vorkommende schwarze Pigment. Physiologisch oder aus anderen Ursachen pathologisch vorkommende schwarze Pigmente oder künstlich hergestellte werden nicht behandelt.

### *Die Darstellung.*

Die zuletzt angewandte und verhältnismäßig beste Darstellungsmethode des Melanins war die, daß man die melaninhaltigen Geschwülste fein zerkleinerte, dann mit Pepsin und Salzsäure so lange verdaute, bis alles Eiweiß verschwunden war und die Biuretreaktion negativ wurde. Der Rückstand wurde im Soxhletapparat vollkommen entfettet, in dünner Natronlauge gelöst, filtriert, die Lösung mit Schwefelsäure gefällt, der Niederschlag ausgewaschen und mit Alkohol und Äther nachgewaschen.

Alle bisherigen Angaben über das Melanin bezogen sich auf ein Produkt, das so hergestellt war, von dem man also von vornherein annehmen mußte, daß es nicht rein war, sondern nach seiner Darstellung noch reichlich Beimischungen enthielt.

Das Ausgangsmaterial für meine neuen Untersuchungen stellte ich auf ganz anderem Wege mit Aussicht auf ein bei weitem reineres Produkt her.

Ich ging vom melaninhaltigen Harn aus. Im ganzen habe ich 5 solcher Harne erhalten, einen aus der Klinik des Herrn *Geh.-Rat Bier*, einen aus dem Städt. Krankenhaus Moabit, einen aus der Hautklinik der Charité und 2 Harne wurden in der anatomischen Abt. unseres Institutes bei Sektionen der Blase entnommen. Die Darstellung war eine einfache. Ich säuerte den Harn mit Salzsäure an, löste den gewaschenen schwarzen Niederschlag in dünner Lauge auf, filtrierte, fällte wieder mit Säure und wusch den Niederschlag mit Wasser, dann mit Alkohol und Äther nach. Doch war die Ausbeute zunächst sehr gering. Der große Anteil des noch nicht oxydierten Praemelanins des Harns ging verloren. Erst als es mir gelang, diesen quantitativ zu Melanin zu oxydieren, hatte ich

für meine Untersuchungen genügend Material. Von den Oxydationsmitteln erwiesen sich die meisten, wie Wasserstoffsuperoxyd, Sublimat, Jod usw. als nicht gut brauchbar. Erst als ich mit Kaliumpersulfat oxydierte, erhielt ich eine quantitative Ausbeute, der überstehende Harn wurde hell und gab mit weiterem Persulfat keine Schwärzung mehr<sup>1)</sup>.

Zu diesem Punkt der Oxydation mit Kaliumpersulfat möchte ich noch einiges sagen: Bisher war es üblich — alle Lehrbücher geben das gleichmäßig an — zum Nachweis von Melanin, resp. Praemelanin im Harn Eisenchloridlösung zu benutzen. Tatsächlich gibt Eisenchlorid mit Melanin eine dunkle Färbung, resp. einen dunklen Niederschlag. Die Reaktion ist aber nicht spezifisch, ich habe mit Eisenchlorid oft positive Reaktion bei Fehlen von Melanin erhalten, sowohl bei zahlreichen Harnen aus der Krebs- wie auch bei solchen aus der Tuberkulosebaracke. Vielleicht handelt es sich in diesen Fällen um eine Schwärzung des Eisens durch Bildung der Schwefelverbindung, doch habe ich das nicht weiter untersucht. Eisenchlorid ist jedenfalls als unspezifisch zum Nachweis von Melanin zu streichen; dafür kann die Klinik mit guten Recht den Nachweis des Melanins durch Erhitzen des Harns mit Kaliumpersulfat als eindeutig einführen.

#### *Eigenschaften des Melanins.*

Ich komme nun zu den Eigenschaften des aus dem Harn dargestellten Melanins, zunächst zu seiner Elementaranalyse. In einer früheren Arbeit habe ich die bisherigen Analysenresultate zusammengestellt, meine eigenen Analysen hatten in ungefähre Übereinstimmung mit den anderen ergeben

C 51,92, H 5,21, N 11,03, S 3,42.

Die Analyse des neuen Melanins ergab im Mittel

C 50,28, H 4,1, N 8,57<sup>2)</sup>

Schwefel habe ich nur in einem Falle in geringer Menge nachweisen können. Die übrigen Präparate ließen ihn ganz vermissen. Man sieht, daß dieses Melanin von dem früher dargestellten in seiner Zusammensetzung stark und grundsätzlich abweicht. Der Schwefel fehlt und Stickstoff ist viel weniger vorhanden. Aus der Elementaranalyse ergibt sich eine relativ sehr einfache Formel, nämlich  $C_7H_7NO_4$ . Natürlich ist die Formel des Melanins nicht eine so einfache, sondern stellt ein Vielfaches dieser Formel dar. Zu beachten ist, daß wir es hier wohl mit einem viel reineren Produkt zu tun haben, als bei der früheren Darstellungsweise, daß aber auch unser Melanin weder synthetisch dargestellt noch seiner

<sup>1)</sup> Ich stelle zur Erörterung, wie weit die Oxydation mit Kaliumpersulfat,  $K_2S_2O_8$ , auch für histologische Zwecke brauchbar ist.

<sup>2)</sup> 3,44 mg Substanz gaben 0,254 ccm N bei + 25°, B 762, 2,94 mg Substanz 0,223 ccm N + 26°, B 762 mm. 0,1562 g Substanz gaben 0,2902 g  $CO_2$  und 0,0576 g  $H_2O$ . 0,1569 g Substanz gaben 0,2870 g  $CO_2$  und 0,0571 g  $H_2O$ .

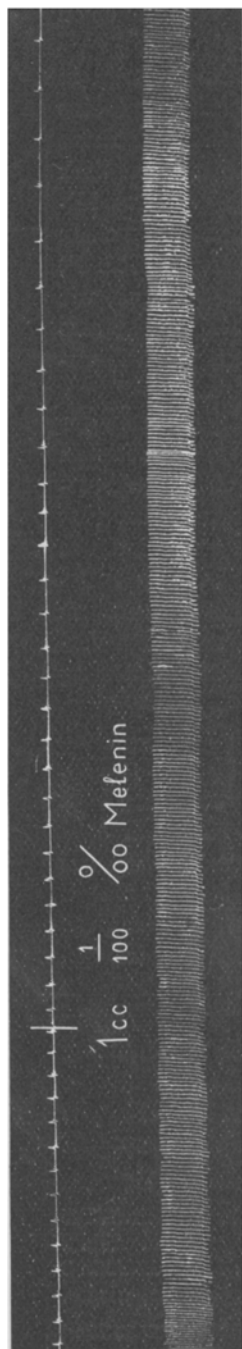


Abb. 1.

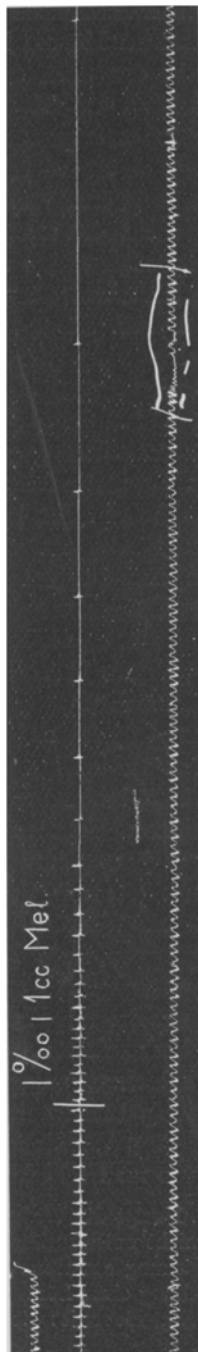
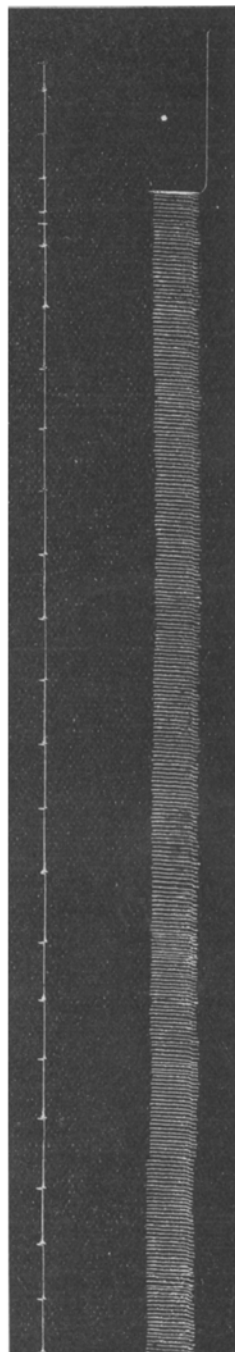


Abb. 2.

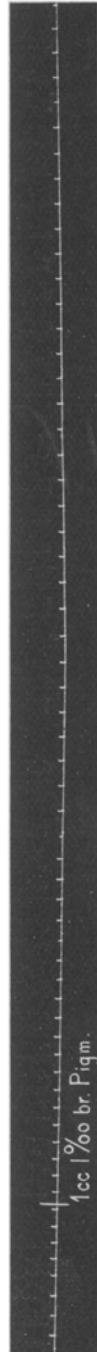


Abb. 3.

Natur nach kristallinisch zu gewinnen ist, so daß auch jetzt für einen chemisch reinen Körper keine Gewähr ist.

Ich habe das nach der früheren Methode dargestellte Melanin in seiner Wirkung am Trendelenburgschen Präparat geprüft, und eine deutlich gefäßverengernde Wirkung des Melanins festgestellt, also eine Eigenschaft, in der es mit dem Adrenalin übereinstimmt, wenngleich dessen Wirkung eine unvergleichlich stärkere ist. Auch das neue Melanin untersuchte ich am Trendelenburgschen Präparat und bekam einen viel stärkeren Ausschlag als mit dem alten. Eine Lösung 1:100000<sup>1)</sup> des neuen Melanins gab einen Ausschlag, der gerade so groß war, wie der einer 1 proz. Lösung des alten Melanins. Die Wirkung war also tausendfach stärker. An diesem Punkte ist zu erkennen, mit wie unreinem Präparat man bisher gearbeitet hatte.

Die dem Melanin und dem Adrenalin gemeinsame Eigenschaft der Gefäßzusammenziehung gab mir Anlaß zu Versuchen, ob das Melanin gleich dem Adrenalin imstande ist, in die Venen eingespritzt, den Blutzucker zu erhöhen. Ich kann darüber noch nichts Genaueres sagen. Der erste Versuch, den ich vor wenigen Tagen machte, zeigte bei einem Kaninchen, dem 3 cem 1 proz. Melaninlösung eingespritzt war, eine Erhöhung des Blutzuckers um 20%. Das ist ein Ergebnis, das zu Schlüssen nicht berechtigt, da die Erhöhung innerhalb der Fehlergrenzen des Verfahrens liegt. Der Versuch wird mit mehr und stärkerer Melaninlösung wiederholt werden.

Ich komme jetzt zu einer anderen Eigenschaft des Melanins, die einen Schluß auf wenigstens einen Baustein seiner Konstitution zuläßt.

Schon 1911 hat *Parisot* durch Einwirkung von Adrenalin auf Blut unter gewissen Umständen Gallenfarbstoff erhalten. *Brugsch* und *Pollak* ist es jetzt gelungen, durch Einwirkung von Brenzkatechin auf Blutfarbstoff (Haemin bzw. seine Derivate) diesen in Gallenfarbstoff umzuwandeln. Wesentlich für diese Reaktion ist die Orthostellung der Hydroxylgruppen, weder Resorcin- noch Hydrochinon-Derivate bewirken diese Umwandlung. Ich bat nun Frau Dr. *Pollak*, das gereinigte Melanin auf gleiche Weise mit Haemin zusammenzubringen, da ja das Melanin aus theoretischen Überlegungen heraus vielfach für einen Abkömmling des Brenzkatechins angesprochen wurde. Tatsächlich entstand eine Lösung, die spektroskopisch Bilirubin anzeigte, und mit Diazoreagenz gekuppelt, eine deutliche Rötung nach *Heymanns van den Berg* gab. Darnach also ist im Melanin der Brenzkatechinring enthalten.

<sup>1)</sup> Abb. 1 zeigt die Wirkung einer Lösung 1:1000 des neuen Melanins. Die Kurve war nicht weiterzuführen, da Tropfen in meßbarer Zeit nicht fielen. Abb. 2 zeigt die Wirkung desselben Melanins in einer Verdünnung 1:100 000. Abb. 3 gibt die Wirkung einer Lösung 1:1000 des braunen Abnutzungspigments wieder, die sich gleich stark erwies wie eine gleichprozentige des Melanins alter Darstellung.