

# Über Koilin.

Von

**K. B. Hofmann und Fritz Pregl.**

---

(Aus dem Institut für medizinische Chemie der Universität Graz.)

(Der Redaktion zugegangen am 26. Juni 1907.)

---

Es wäre von größtem Interesse, durch die lange Reihe der Lebewesen hindurch, die mannigfachen Gewebsbildner vom Gesichtspunkte der Entwicklungsgeschichte aus untersuchen zu können. Wie die Pflanzen und Tierformen sich allmählich differenziert haben, so muß sich einmal, sollte man meinen, auch ein allmählicher Übergang der die Gewebe konstituierenden Stoffe nachweisen lassen — eine Riesenaufgabe der Zukunft, deren Lösung wohl zum Verständnisse jener Differenzierung des Protoplasmas beitragen dürfte. Die genialen Untersuchungen E. Fischers über die Spaltungsprodukte der Eiweißkörper und ihren Aufbau berechtigen zu der Hoffnung, daß man Wege finden werde, die genetische Zusammengehörigkeit der Proteinstoffe verstehen zu lernen, und damit eine befriedigendere Einteilung derselben, als bisher möglich war, zu gewinnen.

Zwei Gebilde, die genetisch und funktionell zwischen den übrigen Sekreten und den Geweben stehn, sind die membrana testacea (Eihaut) des Vogeleies und die hornige Auskleidung des Vogelmagens — beides erstarrte Drüsensekrete, und als solche unter den anderen Sekreten eine Sonderstellung einnehmend. Die erstere zählt man bekanntlich zu den Keratinen, obwohl manches dagegen spricht, die andere könnte nach ihrem Aussehn im feuchten Zustande auch dafür genommen werden.<sup>1)</sup>

---

<sup>1)</sup> Curschmann hielt sie sogar für Chitin oder einen diesem verwandten Stoff.

Getrocknet ist sie aber spröde, etwa wie trockener Leim oder trockenes Eiweiß; also ganz verschieden von den typischen Keratinen. Es lag die Vermutung nahe, daß dieser Stoff den echten Eiweißsubstanzen noch näher stehe, und er noch nicht soweit umgewandelt sein dürfte, als etwa die Keratine, Elastin und ähnliche Abkömmlinge der Eiweiße.

Von diesem Gesichtspunkte aus haben wir, soweit dies mit den gegenwärtigen Mitteln möglich ist, die vorliegende Untersuchung ausgeführt. Die Fragen, die wir uns vorgelegt haben, lauten:

a) wie nahe steht der Stoff, der die Cuticula des Vogelmagens bildet, den echten Eiweißen;

b) besteht eine nähere Beziehung zwischen diesen beiden Sekreten: der membrana testacea (dem erhärteten Sekrete der Eileiterdrüsen) und der Cuticula des Vogelmagens.<sup>1)</sup>

Die Tatsache, daß der Magen der meisten Vögel mit einer hornigen Haut ausgekleidet ist, entging schon dem scharf beobachtenden Aristoteles nicht.<sup>2)</sup>

Wir haben, um einer künftigen Einreihung in die Proteingruppen nicht zu präjudizieren, den Stoff «Koilin» genannt, nach der griechischen Bezeichnung der Magenhöhle (κοιλία).

Die teleologische Bedeutung der Auskleidungsmembran besteht darin, daß sie in dem Muskelmagen, wo dieser ein wahrer Kauapparat ist, dem Geschäfte der Zerreibung der Nahrungsmittel dient. Dementsprechend haben die krebsfressenden Eisvögel eine stärkere Cuticula, als die fleischfressenden z. B. *Alcedo ispida*, der «Königsfischer», bei dem nur weiche Wülste

<sup>1)</sup> Curschmann hält die Fäden der cuticula für sehr ähnlich der membrana testacea der Plagiostomen.

<sup>2)</sup> Arist. Hist. Animal., II, 17. τὴν δὲ κοιλίαν σαρκώδη καὶ στιφρὰν οἱ πλεῖστοι (sc. ὄρνιθες) ἔχουσι, καὶ ἔσωθεν δέρμα ἰσχυρὸν ἀφαιρούμενον ἀπὸ τοῦ σαρκώδους. (Den fleischigen, derben Magen haben die meisten von ihnen und innen eine starke Haut, die sich vom fleischigen ablösen läßt.) — Weniger sorgfältige Beobachter meinten, diese Membran werde, wie das «Gewölle» der Raubvögel ausgeworfen (Galli gallinacei ex ventriculo interiore membrana, quae proici solet. Marcellus Empir. c. IX. § 95). Mach Marcellus goß man die mit warmem Wein zerriebene Membran, mit etwas Opium versetzt, bei Ohrenfluß ins Ohr.

vorhanden sind; bei den *Passeres*, die sich von Körnern nähren, ist die Cuticula stärker und derb; bei den Insektenfressern ist sie schwächer; am schwächsten entwickelt bei *Manucodia* und *Seleucides*, die sich von Früchten nähren. Die *Raptores*, die Reiher, die Ruderfüßler (*Steganopodes*) benötigen bei ihrer Fleischnahrung keine solche Auskleidung.<sup>1)</sup>

Molin<sup>2)</sup> war der erste, der die Cuticula des Muskelmagens als das erstarrte Sekret eigener Drüsen erkannt hat. Dementsprechend besteht sie aus strukturlosen Fäden, die nach Curschmann<sup>3)</sup> durch eine Kittsubstanz zusammengeklebt sind. Das Sekret erstarrt schon in den oberen Partien der Drüsen-schläuche. In dem Maße, wie durch mechanische Abnutzung die Oberfläche des Belages abnimmt, werden die Fäden aus den Drüsen nachgeschoben. Curschmann stellt diese funktionelle Erscheinung mit dem Wachstum der Nagezähne der Rodentien in Parallele.

Bei unserer Untersuchung fragte es sich zunächst, ob, wenn eine Kittsubstanz<sup>4)</sup> vorhanden ist (wie dies von Curschmann angegeben wurde), diese die Resultate wesentlich beeinflussen würde, oder ob und wie man sie vom Koilin trennen könnte. Der Vorschlag Curschmanns, diese durch konzentrierte Kalilauge zu entfernen, ist nicht brauchbar, weil dadurch auch das Koilin tiefgreifende Veränderungen erfährt.<sup>5)</sup> Konzentrierte Essigsäure scheint ohne Wirkung zu sein. Wir

1) Bei *Strutio camelus* ist die Membran stellenweise bis 1,5 cm dick.

2) Sugli stomachi degli ucelli. Denkschriften d. Wiener Akad. der Wissensch. 1852, Bd. III.

3) Zeitschr. f. wissensch. Zoologie [1866], Bd. XVI, S. 224 ff.

4) Nach freundlicher Mitteilung der Herren Kollegen R. Stummer R. v. Treuinfels hat sich die in Rede stehende innere Auskleidungs-membran eines Hühnermagens, der frisch in Pikrinsalpetersäure konser-viert, und der nach Einbettung in Celloidin geschnitten und teils mit Hämatoxylineosin, teils nach Van Giesson gefärbt worden war, homogen erwiesen und keinerlei Anhaltspunkte für das Vorhandensein irgend welcher Zwischensubstanz ergeben.

5) 50 g Koilin in 50 ccm einer 50%igen Kalilauge 24 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen, hinterließ nur 12,2 g Rück-stand; 50 g Koilin unter gleichen Umständen mit 100 ccm 25%iger Kali-lauge hinterließ 19,7 g.

versuchten es mit 5- und mit 10%iger Salzsäure, in der das grobkörnige, gereinigte Koilin durch sechs Tage maceriert wurde. Anscheinend erfuhr es nur eine Quellung; tatsächlich enthielt die stärkere Säure eine geringe Menge eines syntoninartigen Stoffes; das Koilin selbst gab nach dieser Behandlung andere Stickstoffzahlen als das ursprüngliche.

I. Mit 5%iger HCl behandelt:

0,3426 g gaben (bei 727 mm und 17° C.) 44,4 ccm N,  
entsprechend 14,60%.

II. Mit 10%iger HCl behandelt:

0,355 g gaben (bei 728 mm und 17,5° C.) 42,8 ccm N,  
entsprechend 13,57%.

Dies entspricht, gegenüber dem unveränderten Koilin (N = 15,60%), einer Abnahme von 1% bzw. 2%. Auch die Zahl für den Kohlenstoff (50,77%) weicht beträchtlich ab (bei unverändertem Koilin 53,32).

Das gereinigte Hühnerkoilin zeigt untereinander so gut stimmende Resultate, daß man vermuten darf, die in verschiedenem Grade der «Verhornung» befindlichen Partien seien nicht wesentlich verschieden, sondern unterscheiden sich nur durch einen verschiedenen Quellungszustand.

	Hedenius <sup>1)</sup>	Hofmann und Pregl
C	53,21%	53,32%
H	7,17%	6,79%
N	15,78%	15,60%
S	1,13%	1,30%
Asche	0,47%	0,25%

Die Zahlen von Hedenius sind das Mittel aus drei gut stimmenden Analysen; die unsern aus zwei Analysen.

Der Umstand, daß das Koilin ein Sekret ist, läßt kaum einen Zweifel übrig, daß es trotz der gut stimmenden analytischen Zahlen doch kein einheitlicher Stoff ist. Sein Verhalten gegen Alkalien und Säuren, seine Unlöslichkeit in in-

<sup>1)</sup> Auf Hedenius Untersuchung in Hammarstens Auszügen (Maly, Jahresber., Bd. XXI, S. 265 ff.) sind wir erst aufmerksam geworden, als unsere Arbeit nahezu abgeschlossen war. Sie ist wohl nicht überflüssig, da uns neuere Untersuchungsmethoden zur Verfügung standen.

differenten Lösungsmitteln schließt Trennungsversuche aus. Man befindet sich ihm gegenüber in gleicher Lage, wie bei allen Albuminoiden. Unter diesen Verhältnissen erschien die Analyse des Koilins verschiedener Vogelarten interessant. Uns standen außer dem Haushuhn nur das Perlhuhn, der Fasan, die zahme und die Wildente (*Anas boschas*) und das schwarze Wasserhuhn (*Fulica atra*) zur Verfügung. Nachstehend die Zusammenstellung der Resultate der Analysen:

	In Prozenten				
	C	H	N	S	Asche
Haushuhn . . . . .	53,32	6,79	15,60	1,30	0,25
Perlhuhn . . . . .	52,33	6,85	15,61	1,41	1,27
Fasan . . . . .	52,04	6,67	16,12	1,41	0,96
Zahme Ente . . . . .	50,99	6,42	15,50	1,43	0,10
Wildente . . . . .	53,01	6,76	16,41	1,30	0,56
Fulica atra . . . . .	51,66	6,78	14,28	2,11	0,21
Haselhuhn <sup>1)</sup> . . . . .	—	—	16,88	1,33	0,10

Obwohl bei den verschiedenen Proteinstoffen die prozentische Zusammensetzung nur innerhalb geringer Grenzen schwankt, so kann man doch nicht zweifeln, daß die des Koilins der Zusammensetzung der echten Eiweißstoffe näher steht, als jener der Keratine. Sie stimmt am besten mit der des Fibrinogens (Hammarsten), des Serumglobulins und Serumalbumins. Das Eieralbumin ist um ungefähr  $\frac{1}{2}$  % reicher an Wasserstoff. (Mittelwert für Koilin aus obigen Zahlen 6,71 %; für Eieralbumin aus den bei Cohnheim, Eiweißkörper, 2. Aufl., S. 162, angegebenen Werten 7,18, wobei nur eine einzige Angabe unter 7 %.) Bei Serumalbumin (nach acht Angaben) ist der Schwefelgehalt höher als bei Koilin: 1,73—2,31 zu 1,3—1,43, wo wir von dem bei *Fulica* gefundenen Wert absehen müssen, weil die Analyse nicht wiederholt werden konnte.

Beträchtlich stärker weichen voneinander die Werte für Koilin und die Keratine ab:

<sup>1)</sup> Vom Haselhuhn (*Tetrastes bonasa*) reichte die Menge nur für eine Stickstoff- und Schwefelbestimmung.

Koilin	Keratine
C = 52,27%	50,65—51,00%
H = 6,71%	6,36— 6,94%
N = 15,81%	17,14—17,51%
S = 1,14%	2,80— 5,00%

(N und S ohne Einbeziehung der Werte des Fulica-Koilins.)

Danach wird man jedenfalls geneigt sein, das Koilin näher an die echten Eiweißstoffe zu reihen.

Zum Behufe der Reinigung des Koilins wurden die Magenhäute zuerst einer mechanischen Säuberung unterzogen, dann getrocknet, grob gepulvert, mit 1%igem Ammoniak einige Tage maceriert, sodann mit verdünnter Essigsäure und Wasser sorgfältig ausgewaschen, wieder an der Luft getrocknet und nacheinander mit Alkohol und Äther extrahiert.

#### Löslichkeitsverhältnisse und allgemeine Eiweißreaktionen.

Das Koilin ist auch in kochendem Wasser unlöslich. In 30—40%iger Alkalilauge ist es, selbst in der Siedehitze, ziemlich schwer, in verdünnter, etwa 10%iger, leicht löslich; ein Verhalten, wie es ähnlich die roten Blutkörperchen zeigen. Bei den Keratinen verhält es sich umgekehrt; während 10%ige Kalilauge dasselbe nur in der Siedehitze löst, geht es in 20%iger Lauge schon in der Kälte in Lösung (H. Smith).

Von verdünnter Salpeter- und Schwefelsäure wird es wenig angegriffen; kochende Salpetersäure löst das Koilin mit citronengelber Farbe; aus der Lösung wird es durch Neutralisation zum größten Teil wieder ausgefällt; der Schaum färbt sich dabei orange. In kochender konzentrierter Schwefelsäure löst es sich rasch mit braunroter, in kochender konzentrierter Salzsäure mit amethystblauer Farbe (Liebermann). Von Eisessig wird es selbst bei längerem Kochen kaum angegriffen; gegen Verdauungsfermente ist das Koilin (zum Unterschiede von Elastin) ebenso resistent, wie die Keratine.

Die alkalische Lösung gibt sehr schön die Biuretreaktion. Mit Eisessig gekocht wird das Koilin auf Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure burgunderrot. Die Millonsche Reaktion und

die Tryptophanreaktion<sup>1)</sup> fällt positiv, die Molischsche Furfurolreaktion negativ aus. Dies stimmt schlecht zu der Annahme, daß die Liebermannsche Reaktion durch Abspaltung von Furfurol aus einer Kohlehydratgruppe zustande kommt. Eine darauf besonders gerichtete Untersuchung erweist nämlich das Fehlen dieser Gruppe im Koilin.

Koilin enthält bleischwärenden Schwefel.

#### Albuminatartiges Produkt des Koilins.

Läßt man schwache Kalilauge bei Zimmertemperatur auf Koilin einwirken, bis es gelöst ist, so werden Stoffe gebildet, die ihren Eigenschaften nach zu den Albuminaten gerechnet werden dürfen. Um ein klares Bild dieser Hydrolyse zu erhalten, wären eingehendere Untersuchungen nötig, als es in dem Plane dieser Arbeit lag. Die Zusammensetzung dieser Reaktionsgemenge richtet sich wohl nach der Stärke der verwendeten Lauge, nach der Temperatur und der Dauer der Einwirkung. Nachstehend die Zusammensetzung eines solchen «Koilin-Albuminats»:

Die Substanz war bei 100° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

0,121 g	gaben	0,240 g	CO <sub>2</sub>	und	0,078 g	H <sub>2</sub> O
0,210 »	»	30,3 ccm	N	(bei	729 mm	und 15,8° C.).
2,576 »	»	0,093 g	BaSO <sub>4</sub>			
1,293 »	»	0,005 »	»			
0,450 »	»	0,002 »	Asche.			

Daraus berechnet sich für die aschefreie Substanz:

C	=	54,30%
H	=	7,22%
N	=	16,21%
S	=	0,486% (im Mittel).

Sonach ist mehr als die Hälfte des Schwefels bei dieser Behandlung abgespalten worden. Die Verschiebung der übrigen prozentischen Verhältnisse ist unbedeutend.

	H	:	C	:	N
Koilin	1	:	7,85	:	2,29
Albuminat	1	:	7,52	:	2,24

<sup>1)</sup> Erich Rhode, Diese Zeitschrift, Bd. XLIV, S. 161.

Das Produkt ist in Wasser unlöslich, in Salzsäure und Alkali leicht löslich. Es gibt die Biuretreaktion mit dem den nativen Eiweißkörpern eigentümlichen violettblauen Stich. Fügt man zu der mit 0,1 % iger Salzsäure hergestellten Lösung Pepsin, so erfolgt ein weiterer Abbau. Nach 24stündiger Verdauung mit Pepsinsalzsäure bei 38° C. kann man das Auftreten reichlicher Mengen von Albumosen beobachten. Neutralisiert man das Verdauungsgemisch, so erhält man einen Niederschlag mit den Eigenschaften des ursprünglichen Albuminats und ein Filtrat, das durch Hitze nicht koaguliert wird, wohl aber, mit Ammoniumsulfat gesättigt, einen reichlichen Niederschlag von Albumose liefert. Die davon abfiltrierte Flüssigkeit gibt keine Biuretreaktion; der in Wasser gelöste Niederschlag zeigt sie mit der charakteristischen Rosafärbung. Aus diesem Befunde ist zu folgern, daß, wie übrigens zu erwarten war, bei der Einwirkung der Lauge kein tiefgreifender Abbau des Koilins stattfindet und daß die erhaltenen Produkte ihrem Verhalten nach dem ursprünglichen Koilin noch sehr nahe stehen und weit höher zusammengesetzt sind, als die unter dem Sammelnamen der Albumosen und Peptone zusammengefaßten Körpergruppen. Merkwürdigerweise wirkt Pankreasextrakt fast gar nicht. Zum Unterschied von Koilin wird das aus Horn dargestellte Neutralisationspräzipitat durch Pepsinsalzsäure selbst bei dreitägiger Einwirkung so gut wie gar nicht angegriffen.

Zu ähnlichen Resultaten gelangt man bei Darstellung der Atmidprodukte. Es wurden 2 g Koilin mit 50 ccm Wasser durch 4 Tage auf 130° im zugeschmolzenen Rohre erhitzt; es löste sich bis auf einen geringen kohligen Rest zu einer lichtbraunen, schwach grün fluoreszierenden Flüssigkeit von Pyridingeruch (offenbar aus den dem Rohre unmittelbar anliegenden Partien des Koilins stammend). Beim Öffnen des Rohrs war kein gesteigerter Gasdruck und kein Geruch nach Schwefelwasserstoff wahrnehmbar; beides im Gegensatz zum Keratin.

Diese Lösung gerinnt nicht beim Kochen, zeigt mit Bleiacetat keine Schwärzung, gibt nicht die Molischsche, dagegen sehr schön die Millonsche Reaktion. Die Biuretreaktion ist sehr schwach.

Sie wird, hinreichend langes Erhitzen vorausgesetzt, weder durch Äther noch durch starken Alkohol (bis auf eine schwache Opalescenz) gefällt. In diesem Verhalten gleicht sie den Witteschen Albumosen, der Neumeisterschen Atmidalbumose und Bauerschen Atmidkeratose. Die dem Atmidalbumin und Atmidkeratin entsprechende Vorstufe, die durch starken Alkohol fällbar ist, scheint durch das längere Erhitzen schon hydrolysiert worden zu sein. Die «Atmidkoilose» gibt mit Salpetersäure eine Fällung, die im Überschuß der Säure leicht löslich ist (gleichfalls im Gegensatz zum Atmidalbumin und Atmidkeratin). Der mit unzureichender Menge von Salpetersäure entstandene Niederschlag löst sich beim Kochen auf. Die Flüssigkeit trübt sich wieder beim Erkalten; auf Zusatz von Wasser entstehen orangegelbe Flocken. Durch dieses Verhalten unterscheidet sich die Atmidkoilose von Deuteroalbumosen. Der Salpetersäureniederschlag löst sich klar in Alkohol, ein Verhalten, das die aus Serumalbumin erzeugte Atmidalbumose zeigt, nicht aber die aus Eialbumin.

Die Atmidkoilose ist durch Essigsäure fällbar; der Niederschlag löst sich im Überschuß des Fällungsmittels, analog der Atmidalbumose und Keratose und der Albumose, die durch Erhitzen von Serumalbumin mit Wasser bei 150° (während 16 Stunden) entsteht (W. Schmid). Setzt man zu der Lösung das gleiche Volumen Chlornatriumlösung und kocht, so entsteht (zum Unterschiede von der Keratose) keine Trübung; fügt man hierauf Essigsäure zu, so entsteht ein starker Niederschlag, der auch im Überschuß der Essigsäure, selbst beim Kochen nicht gelöst wird.

Metaphosphorsäure gibt einen beim Kochen sich lösenden Niederschlag, der aber (zum Unterschied von den sekundären Albumosen) sich beim Erkalten nicht wieder bildet. Mit Tannin erhält man einen dichten, feinflockigen Niederschlag, der sich beim Kochen löst, beim Abkühlen wieder ausscheidet (Picks sekundäre Albumose A). Ein gleiches Verhalten zeigt der Niederschlag mit Pikrinsäure.

Mit Kaliumquecksilberjodid entsteht eine Trübung; bei Zusatz von Salzsäure ein massiger Niederschlag, der sich selbst

im reichlichen Überschuß der Säure nicht löst, ähnlich wie bei Picks sekundärer Albumose A. <sup>1)</sup>)

Diese Reaktionen gestatten wohl die Annahme, daß die Atmidkoilose, wie sie unter den von uns eingehaltenen Bedingungen entsteht, ein Gemenge sekundärer Albumosen ist; während eine Protalbumose nicht nachweisbar war.

### Prüfung auf Kohlenhydrat.

Die Prüfung auf eine im Koilin etwa anwesende Kohlenhydratgruppe wurde an zwei Proben vorgenommen.

I. 20 g Koilin wurden nach Neuberg <sup>2)</sup>) mit 25 ccm Bromwasserstoffsäure (spezifisches Gewicht 1,49) übergossen, 24 Stunden lang stehen gelassen; die Lösung mit 80 ccm Wasser verdünnt und mit etwas Tierkohle 2<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Stunden am Rückflußkühler erhitzt. Das Filtrat wurde mit Bleicarbonat von der Säure befreit und neuerlich filtriert. Aus diesem Filtrat wurden die Eiweißstoffe mit Phosphorwolframsäure und sodann der Überschuß dieser entfernt. Das neuerliche Filtrat gab mit Fehlingscher Lösung ein negatives Resultat.

II. Es wurden 40 g Koilin mit 50 ccm Bromwasserstoffsäure wie bei der früheren Probe behandelt. Da zur Beseitigung der (albumoseartigen?) Eiweißstoffe viel Phosphorwolframsäure benötigt war, wurde diesmal das nach Behandlung mit Bleicarbonat erhaltene Filtrat mit Bleiacetatlösung versetzt, so lange als noch ein Niederschlag entstand, dann filtriert; das Filtrat wurde mit Tanninlösung gefällt, um den Rest der Albumosen zu entfernen, wobei sich noch ein ziemlich reichlicher Niederschlag bildete. Das überschüssige Tannin entfernte man durch Schütteln mit frischem Eialbumin. Das neuerliche Filtrat wurde auf dem Wasserbade zum dicken Sirup eingengt und dieser mit kochendem Alkohol wiederholt ausgezogen; die alkoholischen Auszüge zur Trockene eingedampft und der Rückstand in wenig Wasser gelöst. Eine Hälfte diente zur

---

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXIV, S. 270 ff. Wir halten die unter dem Namen «Albumosen» zusammengefaßten Produkte nicht für einheitliche Körper.

<sup>2)</sup> Hofmeisters Beiträge, Bd. II, S. 206.

Trommerschen Probe; die andere zur Darstellung von Osazon. Beide Versuche ergaben auch diesmal ein negatives Resultat.

### Die Monoaminosäuren des Koilins.

Deren Isolierung erfolgte nach der Estermethode von Emil Fischer mit Ausnahme des Tyrosins und des Cystins.

In Arbeit genommen wurden 300 g lufttrockenen Koilins mit einem Wassergehalt von 15,98% und 0,83% Asche; es entsprechen daher 300 g des lufttrockenen Präparates rund 250 g (249,63 g) organischer Trockensubstanz.

0,8297 g verloren durch Trocknen bei 120° 0,1326 g und hinterließen nach dem Veraschen 0,0069 g Asche.

Die Hydrolyse wurde durch 8stündiges Kochen mit 900 ccm konzentrierter Salzsäure durchgeführt. Nach dem Einengen der salzsauren Hydrolysenflüssigkeit im Vakuum bis zur Sirupkonsistenz erfolgte die Veresterung durch Übergießen mit 900 ccm Äthylalkohol und Einleiten von trockenem Salzsäuregas bis zur Sättigung. Nach dem Abdestillieren des Alkohols wurde die Veresterung nochmals wiederholt, und der neuerlich erhaltene Destillationsrückstand zur Gewinnung der freien Ester verwendet. Ihre Infreiheitsetzung erfolgte durch Zusatz von Natronlauge und geglühtem Kaliumcarbonat unter starker Kühlung. Zur erschöpfenden Ausschüttelung der freien Monoaminosäureester waren 5 l Äther erforderlich. Die mit geglühtem Natriumsulfat getrocknete ätherische Lösung der freien Ester hinterließ nach dem Abdestillieren 224 g Rohester. Die fraktionierte Destillation dieser erfolgte im Vakuum einer guten Wasserstrahlpumpe bei einem Druck von 11 mm Hg und ergab folgende Ausbeuten:

1. Fraktion	bis 65° (Temperatur des Ölbad)	= 4 g
2. »	von 65 » 123° ( » » » )	= 95 »
3. »	» 123 » 180° ( » » » )	= 40 »
4. Destillationsrückstand		= 50 »

#### 1. Fraktion (bis 65°).

Diese Fraktion bestand zum größten Teil aus Äther und Alkohol, denn beim Abdampfen derselben mit konzentrierter Salzsäure hinterblieben nur 0,2 g eines Rückstandes, der nach

dem Verestern mit absolutem Alkohol und trockenem Salzsäuregas und nach dem Impfen mit einigen Kryställchen von Glycinesterchlorhydrat und mehrtägigem Stehen in der Kälte zu einem Krystallbrei erstarrte. Diese Krystalle wurden mit der gleichartigen Krystallisation aus der nächstfolgenden Esterfraktion vereinigt und weiterverarbeitet.

## 2. Fraktion (von 65° bis 123°).

Statt eine Scheidung in verschiedene Esterfraktionen schon bei der Destillation vorzunehmen, zogen wir es hier vor, eine Trennung auf anderem Wege zu erzielen, indem wir uns dabei auf die Beobachtung des einen von uns (Pregl) stützten, die er bei anderer Gelegenheit gemacht, daß der Leucinester dem mit Wasser verdünnten Estergemenge durch Ausschütteln mit Äther entzogen werden kann, während die Ester der übrigen Aminosäuren in der wässerigen Lösung verbleiben.

Demzufolge wurde die Gesamtmenge dieser Esterfraktion (95 g) mit der dreifachen Menge Wasser verdünnt, die erhaltene Lösung mit dem gleichen Volumen Äther zweimal tüchtig ausgeschüttelt und die vereinigten ätherischen Lösungen dreimal mit destilliertem Wasser gewaschen.

Dadurch wurde eine Trennung in zwei Unterfraktionen erzielt:

1. Fraktion 2a, der Destillationsrückstand der ätherischen Ausschüttelung,
2. Fraktion 2b, die vereinigten wässerigen Lösungen.

### Fraktion 2a.

Der Destillationsrückstand der ätherischen Ausschüttelungen wurde mit der fünffachen Menge Wasser durch 7stündiges Kochen am Rückflußkühler verseift und danach durch aufeinanderfolgendes Eindampfen, Absaugen, Waschen mit Alkohol und wiederholtes Einengen der Mutterlaugen zur trockenen Krystallmasse verarbeitet.

Die feingepulverte Krystallmasse wurde überdies mit der 5fachen Menge absoluten Alkohols ausgekocht. Sie bestand fast nur aus Leucin, von dem 25,5 g isoliert wurden.



des Schwefelbleies beim Einengen im Vakuum eine Krystallmasse, aus welcher durch fraktionierte Krystallisation noch 4,5 g Leucin und 12,5 g Alanin isoliert werden konnten.

0,1467 g lieferten 0,1042 g H<sub>2</sub>O und 0,2170 g CO<sub>2</sub>

Berechnet für C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub> :	Gefunden:
40,42% C und 7,92% H.	40,34% C und 7,95% H.

### Fraktion 2 c.

Die beim Auskochen der Fraktionen 2 a und 2 b mit absolutem Alkohol erhaltenen alkoholischen Lösungen, sowie die letzten, nichtkrystallisierenden, in Alkohol löslichen Mutterlaugen wurden vereinigt und dienten zur Isolierung der  $\alpha$ -Pyrrolidincarbonsäure. Durch Abdestillieren des Alkohols im Vakuum, Aufnehmen des Rückstandes in absolutem Alkohol, Abfiltrieren vom in der Kälte ungelöst Gebliebenen, und durch dreimalige Wiederholung dieses Vorganges war ein Rückstand zu erhalten, der sich in der Kälte in absolutem Alkohol restlos löste. Diese Lösung hinterließ, im Vakuum über Schwefelsäure eingedunstet, einen Rückstand im konstanten Gewicht von 12,5 g. Dieser Rückstand besteht bekanntlich aus einem Gemenge von racemischem und aktivem Prolin, die leicht durch die Kupfersalze getrennt werden können.

Zu ihrer Identifizierung wurde der Rückstand in Wasser gelöst und mit überschüssigem, gefällttem Kupferoxyd anhaltend gekocht, filtriert und das Wasser im Vakuum völlig abdestilliert. Von dem tiefblauen, zähen Rückstand löste sich nur ein Teil beim Auskochen mit absolutem Alkohol; der andere blieb krystallinisch zurück. Das ungelöst gebliebene Kupfersalz zeigte nach dem Umkrystallisieren aus Wasser die Eigenschaften und die Zusammensetzung des racemischen Prolinkupfers.

0,1754 g verloren unter Violettfärbung beim Trocknen im Vakuum bei 100° 0,0194 g an Gewicht und hinterließen nach dem Veraschen 0,0427 g CuO.

Berechnet für C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> Cu + H <sub>2</sub> O:	Gefunden:
10,99% H <sub>2</sub> O und 21,80% Cu.	11,06% H <sub>2</sub> O und 21,87% Cu.

Der in Alkohol lösliche Anteil des Kupfersalzes, das aktive Prolinkupfer wurde nach Entfernung des Alkohols durch

Destillation im Vakuum, und ohne zuvor das Kupfer mit Schwefelwasserstoff entfernt zu haben, mit überschüssigem Baryumhydroxyd in Wasser gelöst und im Autoklaven unter einem Druck von 4 Atmosphären durch 5 Stunden erhitzt. Nach der quantitativen Entfernung des Baryts mit Schwefelsäure und nach anhaltendem Kochen mit überschüssigem Kupferoxyd krystallisierte aus dem eingengten Filtrat ein blaues Kupfersalz von den Eigenschaften und der Zusammensetzung des racemischen Prolinkupfers:

0,1395 g verloren unter Violettfärbung beim Trocknen im Vakuum bei 100° 0,0152 g an Gewicht und hinterließen nach dem Veraschen 0,0338 g CuO.

Berechnet für $C_{10}H_{16}N_2O_4Cu + 2H_2O$ :	Gefunden:
10,99% $H_2O$ und 21,80% Cu.	10,90% $H_2O$ und 21,73% Cu.

### 3. Fraktion (von 123—180°).

Die Estermenge dieser Fraktion wurde nach dem Verdünnen mit der fünffachen Wassermenge in der üblichen Weise mit Äther ausgeschüttelt und die ätherischen Auszüge wiederholt mit Wasser gewaschen. Der Rückstand nach dem Abdestillieren des Äthers (der Phenylalaninester) lieferte nach mehrstündigem Abrauchen mit konzentrierter Salzsäure auf dem Wasserbade einen krystallisierten Rückstand, der zum Zwecke der vorläufigen Reinigung in halbfeuchtem Zustande auf Tonplatten gestrichen und dort mit wenigen Tropfen konzentrierter Salzsäure gewaschen wurde. Die rein weiße Krystallmasse konnte hierauf durch Abrauchen mit konzentriertem Ammoniak in die freie Aminosäure und in Chlorammonium zerlegt werden. Durch wiederholtes Umkrystallisieren aus Wasser unter Anwendung von Tierkohle wurden daraus 4,8 g Phenylalanin von folgender Zusammensetzung erhalten:

0,1645 g lieferten 0,1010 g  $H_2O$  und 0,3961 g  $CO_2$

Berechnet für $C_9H_{11}NO_2$ :	Gefunden:
65,41% C und 6,71% H.	65,67% C und 6,87% H.

Die wässerigen Lösungen, welche nach dem Entfernen des Phenylalaninesters die Ester der Glutaminsäure und Asparaginsäure enthielten, wurden durch mehrstündiges Kochen mit überschüssigem Barytwasser verseift. Nach mehrtägigem

Stehen wurden die ausgeschiedenen Krystalle des Barytsalzes der racemischen Asparaginsäure durch Absaugen von der klaren Lösung getrennt, und beide quantitativ mit Schwefelsäure von Baryt befreit. Dabei ergaben sich einerseits 5,1 g Asparaginsäure:

0,1748 g lieferten 0,0845 g H<sub>2</sub>O und 0,2301 g CO<sub>2</sub>

Berechnet für C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>4</sub> :	Gefunden:
36,08% C und 5,30% H.	35,90% C und 5,41% H.

Andererseits wurden aus dem von Baryt befreiten Filtrate nach dem Einengen und Sättigen mit gasförmiger Salzsäure 3,4 g Glutaminsäurechlorhydrat gewonnen:

0,2634 g lieferten 0,2060 g AgCl

Berechnet für C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> NO <sub>4</sub> Cl:	Gefunden:
19,31% Cl.	19,34% Cl.

#### 4. Der Rückstand der Esterdestillation

lieferte nach sechsstündigem Kochen mit überschüssigem Barytwasser bei gleichzeitiger Anwesenheit größerer Mengen von Tierkohle, Entfernen des Baryts mit Schwefelsäure, Einengen des Filtrates und Sättigen desselben mit Salzsäuregas noch 10 g Glutaminsäurechlorhydrat.

#### Zweite und dritte Gewinnung von Aminosäureestern.

Die breiige, von Kaliumcarbonat durchsetzte Masse, die bei der Infreiheitsetzung der Ester übrig blieb, wurde zur weiteren Verarbeitung in Wasser gelöst, mit Salzsäure angesäuert und auf dem Wasserbade eingedampft. Durch wiederholtes Absaugen der sich dabei ausscheidenden Krystallisationen von Kaliumchlorid war schließlich eine salzsaure Mutterlauge zu erhalten, die geeignet war zur neuerlichen Veresterung. Dabei wurde in der üblichen, schon oft geschilderten Weise vorgegangen und die in Freiheit gesetzten Ester mit Äther ausgeschüttelt. Der ganze Vorgang wurde noch einmal wiederholt und die vereinigten ätherischen Ausschüttelungen durch Destillation vom Äther befreit. Das Gewicht der Rohester betrug 71 g. Bei der Destillation unter vermindertem Druck von 11 mm Hg lieferten sie folgende Fraktionen:

1. Fraktion	bis 123° (Temperatur des Ölbad)	= 28 g
2. »	von 123 » 185° ( » » » )	= 15 »
3. Destillationsrückstand		= 9 »

Durch Verarbeitung dieser Esterfraktionen im Sinne des früher geschilderten Vorgehens wurden daraus noch erhalten:

Leucin	3 g
Alanin	2 »
Glycinesterchlorhydrat	1 »
Prolin	1,2 »
Phenylalanin	1 »
Asparaginsäure	0,6 »
Glutaminsäurechlorhydrat	2,5 »

### Bestimmung des Tyrosins.

200 g Koilin entsprechend 166 g asche- und wasserfreier Substanz, wurden mit 400 ccm konzentrierter Schwefelsäure und 2000 ccm Wasser zuerst 12 Stunden auf dem Wasserbade bis zur erfolgten Lösung erhitzt und dann noch 16 Stunden unter Rückfluß gekocht. Nach Entfernung der Schwefelsäure mit Baryt und nach wiederholtem Auskochen des dabei entstandenen Niederschlages von Baryumsulfat wurden die erhaltenen Filtrate bis zur Krystallisation eingeeengt und die Mutterlaugen weiter eingeeengt, bis sie keine deutliche Millonsche Reaktion mehr zeigten. Die Reinigung des so erhaltenen Roh-tyrosins erfolgte zuerst durch Auskochen mit Eisessig und nachträglich durch Umkrystallisieren aus Wasser. Erhalten wurden 9 g.

0,1648 g lieferten bei der Verbrennung 0,0890 g H<sub>2</sub>O und 0,3601 g CO<sub>2</sub>

Berechnet für C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>3</sub> :	Gefunden:
59,66% C und 6,07% H.	59,59% C und 6,06% H.

Zum Schlusse sei noch bemerkt, daß Versuche, die Anwesenheit von Valin ( $\alpha$ -Amino-isovaleriansäure), Diaminotrioxydodekansäure<sup>1)</sup> und  $\alpha$ -Oxy-Prolin<sup>2)</sup> im Koilin aufzufinden, negativ ausgefallen sind. Auf Serin wurde nicht geprüft.

<sup>1)</sup> E. Fischer und E. Abderhalden, Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 540 (1904).

<sup>2)</sup> E. Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XXXV, S. 2660 (1902).

## Untersuchungen über das Vorkommen einer Cystin- gruppe im Koilin.

Zu diesem Ende wurden 50 g des lufttrockenen Koilinpräparates entsprechend dem Verfahren von Mörner mit 112 ccm konzentrierter Salzsäure und ebensoviel Wasser übergossen, in dem mit Steigrohr versehenen Hartglaskolben sieben Tage lang auf dem Wasserbade erhitzt und hierauf durch Destillation unter vermindertem Druck die Salzsäure möglichst entfernt. Im übrigen wurde nach der in der Arbeit von Buchtala<sup>1)</sup> über Cystin eingehaltenen Methode verfahren. Von der 250 ccm betragenden ammoniakalischen Lösung dienten je 10 ccm zur Schwefelbestimmung, bei der in dem einen Falle 0,0252 g, in dem andern Falle 0,0238 g Baryumsulfat erhalten wurden. Daraus berechnet sich der Gehalt des wasser- und aschefreien Koilinpräparates auf 0,763% und 0,723% Cystin, im Mittel 0,74%.

Der Rest der ammoniakalischen Lösung diente zum Versuch der Isolierung von Cystin. Schon beim Einengen der Lösung im Vakuum fielen reichliche Mengen von Krystallen aus; ohne Rücksicht darauf wurde der Rückstand mit Essigsäure angesäuert und abgesaugt. Der erhaltene Niederschlag bestand seinem ganzen Verhalten nach aus fast reinem Tyrosin und die Schwefelbleireaktion fiel darin überhaupt negativ aus. Der Versuch, daraus Cystin in Substanz zu gewinnen, schlug gänzlich fehl.

Die Unmöglichkeit, aus der in Arbeit genommenen Koilinsmenge Cystin in Substanz zu isolieren, insbesondere aber das Fehlen der Schwefelbleireaktion an der aus der ammoniakalischen Lösung erhaltenen Krystallisation, läßt die Frage unentschieden, ob die nach dem Verfahren von Mörner zum Zwecke der Berechnung der Cystinmenge gefundenen Schwefelwerte wirklich auf Cystin zu beziehen sind oder nicht. Einerseits wäre es ja möglich, daß ursprünglich tatsächlich vorhandenes Cystin im Laufe der Prozeduren beim Versuche, es zu isolieren, nachträglich eine Zersetzung erfahren habe, und dafür spricht das Vorhandensein der Schwefelbleireaktion beim unveränderten

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. LII, S. 474.

Koilin; andererseits ist aber die Möglichkeit auch nicht außer acht zu lassen, daß letztere Reaktion, sowie der nach dem Mörnerschen Verfahren bestimmte Schwefel auf einen Baustein im Koilin zu beziehen ist, der mit dem Cystin nicht identisch ist.

Für letztere Anschauung spricht vielleicht die von uns gemachte Beobachtung, daß durch vierstündiges Kochen von Keratin, Serumalbumin, Fibrin, Membrana testacea vom Huhn, Eieralbumin, sowie von reinem Cystin mit destilliertem Wasser allein aus den genannten Substanzen soviel Schwefelwasserstoff frei gemacht wird, daß die über Bleiacetatpapier geleiteten Dämpfe in dieser Zeit eine starke Schwärzung bewirken, während dieser, mit Koilin mehrfach wiederholte Versuch nur zu einem schwachen Anflug einer rehbraunen Färbung führte. Hierher gehören auch die Beobachtungen, die Herr Buchtala hier im Institute bei der nach Mörner am Wasserbade durch sieben Tage fortgesetzten Hydrolyse verschiedener Eiweißstoffe und Gewebe, wie Menschen- und Tierhaare, Nägel, Hufe usw. gemacht hat, die Beobachtung, daß in dem auf dem Kolben aufgesetzten Steigrohr nach mehreren Tagen stets ein Anflug einer Krystallisation von elementarem Schwefel wahrzunehmen ist, während dies beim Koilin stets vermißt wurde.

Aus dem Angeführten ergibt es sich, daß wir das Vorhandensein einer Cystingruppe im Koilin nicht behaupten können, weil der Versuch, es in Substanz zu isolieren, mißlungen ist; andererseits haben wir aber die Abwesenheit von Cystin unter den Bausteinen des Koilins auch nicht sicher erwiesen; dazu wäre es erforderlich, größere Mengen von Koilin, als sie uns zur Verfügung standen, zu verarbeiten und dabei vielleicht schärfere Methoden, wie etwa die Benzoylierung, in Anwendung zu bringen.

Nach den vorausgehenden Bestimmungen ergeben sich für 100 g wasser- und aschefreien Koilins folgende Werte für den Gehalt an isolierten Monamino-säuren:

Glycin	1,2	g
Alanin	5,8	»
Leucin und Isoleucin	13,2	»

Prolin	5,5 g
Phenylalanin	2,3 »
Asparaginsäure	2,3 »
Glutaminsäure	5,2 »
Tyrosin	5,4 »
Cystin	0,74 »
Summe	<u>41,64 g</u>

## Stickstoffverteilung im Koilin.

Bei deren Bestimmung kam im wesentlichen das Verfahren von Hausmann<sup>1)</sup> zur Anwendung unter Berücksichtigung der Erfahrungen von Gumbel.<sup>2)</sup>

In Verwendung kam ein Koilinpräparat, das im lufttrockenen Zustande einen Gehalt von 13,88% N zeigte.

1,0884 g	verbrauchten bei der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl
	53,9 ccm $\frac{n}{5}$ -HCl = 13,88% N
1,1472 »	» 56,9 » » = 13,88% »

Von diesem Präparate wurden 4 g in 80 g konzentrierter Salzsäure quellen gelassen und dann 6 Stunden am Rückflußkühler gekocht, worauf durch Destillation unter vermindertem Druck die Salzsäure möglichst vollständig entfernt wurde. Der in Wasser gelöste, zähe Rückstand gab, mit überschüssigem Magnesiumoxyd versetzt, bei der Destillation unter vermindertem Druck bei einer 40° nicht übersteigenden Temperatur soviel Ammoniak ab, daß davon 36,1 ccm 0,1-n-Säure verbraucht wurden. Somit sind 1,26% des untersuchten Präparates, entsprechend 9,08% seines Gesamtstickstoffs, als sogenannter «Ammoniakstickstoff» abgespalten worden.

Der Destillationsrückstand wurde in Salzsäure gelöst, mit Wasser verdünnt und in einen Meßkolben filtriert. Nach mehrmaligem gründlichen Waschen des Melaninniederschlags auf dem Filter wurde der Kolbeninhalt auf 500 ccm Wasser aufgefüllt.

Das Filter samt dem Niederschlage wurde mit 20 ccm konzentrierter Schwefelsäure, 0,5 g Kupfersulfat und 3 g Kaliumsulfat nach Kjeldahl oxydiert. Bei der darauffolgenden De-

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXVII, S. 95, und Bd. XXIX, S. 136.

<sup>2)</sup> Hofmeisters Beiträge, Bd. V, S. 297.

stillation erwiesen sich 5,3 ccm 0,1-n-Säure verbraucht. Somit sind 0,186% des untersuchten Präparates, entsprechend 1,336% seines Gesamtstickstoffs, als sogenannter «Melaninstickstoff» in Rechnung zu setzen.

Die Stickstoffbestimmung in dem Filtrate ergab folgende Werte: Je 25 ccm desselben verbrauchten in dem einen Falle 18,4, in dem zweiten Falle 18,3 ccm 0,1-n-Säure. Demnach beträgt im untersuchten Präparate die Summe von «Monamino- und Diaminostickstoff» 12,88% desselben, oder 92,9% seines Gesamtstickstoffs.

Je 100 ccm des Filtrates wurden zum Zwecke der Trennung des Monamino- vom Diaminostickstoff mit je 3 ccm 50%iger Phosphorwolframsäure gefällt, 24 Stunden stehen gelassen, die körnig gewordenen Niederschläge abgesaugt und entsprechend gewaschen.

Die beiden Filtrate von den Phosphorwolframsäureniederschlägen verbrauchten bei der Stickstoffbestimmung übereinstimmend 26,8 ccm  $\frac{n}{5}$ -Säure, entsprechend einem Gehalte von 9,39% Monaminostickstoff des untersuchten Präparates oder 67,7% seines Gesamtstickstoffs.

Von den beiden Phosphorwolframsäureniederschlägen verbrauchte der eine bei der Stickstoffbestimmung 19,2, der andere 18,8 (offenbar etwas zu niedrig) ccm 0,1-n-Säure. Daraus berechnet sich der Gehalt des untersuchten Präparates an Diaminostickstoff zu 3,36%, entsprechend 24,2% seines Gesamtstickstoffgehaltes.

Der Vergleich der algebraischen Summe S für den Gehalt des Koilins an

$$\begin{array}{l} \text{Monaminostickstoff mit } 9,39\% \text{ und an} \\ \text{Diaminostickstoff mit } \underline{3,36\%} \\ S = 12,75\% \end{array}$$

mit der direkt bestimmten Summe beider zu 12,88% ergibt eine vollkommen befriedigende Übereinstimmung.

Die vom Assistenten Hans Buchtala in gleicher Weise ausgeführte Analyse der membrana testacea gab nachstehende Resultate. Von dem lufttrockenen (13,6% N haltenden) Präparate sind 4 g verwendet worden. Zur Bestimmung des Am-

moniakstickstoffs wurden 12,7 ccm  $\frac{1}{5}$ -n-Salzsäure verbraucht, entsprechend 0,889 % Stickstoff der Substanz, zur Bestimmung des Melaninstickstoffs 0,4 ccm Salzsäure, entsprechend 0,028 %. Bei Bestimmung des Monaminostickstoffs wurden auf 100 ccm des Filtrates 28,1 ccm  $\frac{1}{5}$ -n-Salzsäure und des Diaminostickstoffes 7,9 ccm verbraucht, entsprechend 9,81 % bzw. 2,77 % N.

### Resultate.

Vergleicht man die Mengen der einzelnen Spaltungsprodukte des Koilins mit denen anderer Proteinstoffe, so scheint es einesteils dem typischen Keratin (Horn), andernteils den nativen Eiweißstoffen nahezustehn; doch ist die Ähnlichkeit nach keiner Seite durchgreifend. Überdies wird der Wert einer solchen Vergleichung durch den Umstand beeinträchtigt, daß bei den verschiedenen Proteinstoffen die Spaltungsprodukte nicht durchweg nach denselben Methoden bestimmt sind. Ältere Angaben können überhaupt kaum berücksichtigt werden; aber auch bei der Estermethode sind die Ergebnisse anders zu bewerten, je nachdem die Gewinnung der Ester nur einmal oder wiederholt vorgenommen wurde.

Der Glykokollgehalt ist beim Koilin wohl höher als beim Horn (0,34), aber nur halb so groß wie beim Serumglobulin; andererseits fehlt diese Aminosäure bei den anderen Eiweißen (Globin, Serumalbumin und Eieralbumin) ganz.

Die Menge des Alanins kommt jener beim Globin (4,19%) nahe; aber das Globin selbst stimmt in bezug auf seine Hydrolysenprodukte mit anderen Eiweißen doch wenig überein. Jedenfalls ist die Menge des Alanins im Horn beträchtlich geringer als im Koilin.

Der Wert für Glutaminsäure entspricht genau dem bei Edestin, doch steht dieses Pflanzeneiweiß den tierischen Eiweißen wieder recht fern. Aus diesen letztern hat man beträchtlich geringere Mengen Glutaminsäure, als aus Koilin, erhalten; andererseits ist beim Horn die Menge mehr als doppelt so groß (12 bis 14%), verglichen mit Koilin.

Die Leucinmenge stimmt mit der des Menschenhaares (14%) sehr genau; bei Eiweißsubstanzen ist sie beträchtlich größer, doch ist nicht zu übersehen, daß das typische Keratin annähernd soviel Leucin gibt wie das Serumglobulin des Pferdes.

Dem Tyrosingehalte nach steht Koilin (5,4) dem Horn (4,58) nahe, während die echten tierischen Eiweiße (Fibrin ausgenommen) wenig Tyrosin liefern.

Die Werte für Asparaginsäure, Phenylalanin und Prolin weichen bei den Eiweißen und bei Keratin zu wenig von einander ab, um bei der Zuteilung des Koilins zu der einen oder andern Gruppe in Betracht zu kommen. Bei Koilin ist die Menge allerdings mehr als doppelt so groß wie bei den Eiweißen; sie ist auch größer als beim Horn; vielleicht, weil man sorgfältiger auf sie gefahndet hat.

Auch aus dem Fehlen der «Kohlehydratgruppe» im Koilin kann man nichts folgern, denn einerseits fehlt sie auch dem Keratin, andererseits ist es noch immer mehr als zweifelhaft, ob sie als konstituierender Bestandteil der eigentlichen Eiweiße gelten darf.

Noch weniger Anhaltspunkte bietet die Verteilung des Stickstoffs, wie nachstehende Übersichtstabelle lehrt:

	Amid-N	Diamino-N	Monamino-N	Melanin-N
Krystallisiertes Eieralbumin (Hausmann) <sup>1)</sup>	1,28 (8,8)	3,20 (21,8)	10,17 (69,3)	—
Krystallisiertes Serumalbumin (Gümbel) <sup>1)</sup>	0,95 (6,4)	4,86 (32,8)	8,81 (59,6)	0,15 (1,2)
Serumglobulin (Hausmann)	1,41 (8,7)	3,95 (24,7)	10,81 (66,6)	—
Keratin (Gümbel)	1,17 (7,2)	2,95 (18,1)	11,81 (72,2)	0,42 (2,5)
Koilin	1,26 (8,9)	3,36 (23,7)	9,39 (66,0)	0,186 (1,4)
Membrana testacea	0,89 (6,6)	2,77 (20,5)	9,81 (72,7)	0,028 (0,21)

Die nicht eingeklammerten Zahlen geben die Prozente des Stickstoffs bezogen auf die Substanz; die in Klammern stehenden bedeuten Prozente des Gesamtstickstoffs, der in diesem Falle aus der Summe des Amid-, Diamino-, Monamido- und gegebenenfalls des Melaninstickstoffs berechnet ist. Daraus erklärt sich, daß die hier für das Koilin eingesetzten, durch Rechnung ermittelten Werte die Summe von 100 tatsächlich geben und sich von den auf S. 467—469 angeführten, die auf den direkt ermittelten Gesamtstickstoff bezogen sind, etwas unterscheiden.

Ein Blick auf die Tabelle zeigt, daß in bezug auf die Verteilung die größte Ähnlichkeit, fast volle Übereinstimmung zwischen Koilin und Serumglobulin besteht, dagegen die Verteilung bei Keratin und krystallisiertem Serumalbumin nicht wenig abweicht.

Wir glauben die Resultate nachstehend zusammenfassen zu dürfen:

1. Das Koilin gehört nicht zu den Keratinen, da ihm die Cystingruppe sehr wahrscheinlich ganz fehlt, oder, wenn sie vorhanden sein sollte, sie es nur in einer minimalen Menge sein kann, während sie im Aufbau des Keratinmoleküls eine wichtige Rolle spielt.

2. Auch zu den echten Eiweißen kann das Keratin nicht gerechnet, es muß in die Notgruppe der «Albuminoide» eingereiht werden.

3. Das Koilin hat keine Ähnlichkeit mit der membrana testacea des Huhnes oder mit der Eischale der Selachier.

4. Das Koilin und der Stoff, aus dem die membrana testacea besteht, sind Körper sui generis, die man in keine der gegenwärtig aufgestellten Untergruppen der Albuminoide einreihen kann. Auch die membrana testacea besteht nicht aus Keratin; es ist daher die Bezeichnung «Ovokeratin» fallen zu lassen.

