

Über das Mengenverhältnis des Cystins in verschiedenen Hornsubstanzen.

Von
Hans Buchtala.

(Aus dem Institute für medizinische Chemie der Universität Graz.)
(Der Redaktion zugegangen am 26. Juni 1907.)

In der Abhandlung¹⁾ «Zur Kenntnis der Bindung des Schwefels in den Proteinstoffen» berichtet K. A. H. Mörner über die Darstellungsweise von Cystin aus verschiedenen Eiweißsubstanzen und über die prozentuelle Menge desselben, die er aus Menschenhaaren, Rinderhorn, Schalenhaut des Hühneries und einigen anderen Proteinstoffen erhalten hat. Die auffallend große Menge von Cystin, die er aus Menschenhaaren darstellte, mußte überraschen. Ich habe deshalb auf Anregung meines verehrten Lehrers Prof. K. B. Hofmann eine Anzahl Horngebilde untersucht, um die Frage zu beantworten, ob nicht überhaupt die Haare der Regel nach mehr Cystin liefern als die Nägel oder Klauen derselben Tierart.

Anfänglich trachtete ich, eine möglichst quantitative Darstellung des Cystins in Substanz zu erreichen; da ich aber bei der angewandten Arbeitsmethode, die im wesentlichen von der Mörners nicht abweicht, dessen Angabe bestätigt fand, daß eine vollständige Isolierung des Cystins nicht möglich sei, mußte ich mich im weiteren Verlauf der Untersuchung auch damit begnügen, seine Menge aus dem Schwefelgehalt der dasselbe enthaltenden ammoniakalischen Lösung zu berechnen. Obgleich, wie Mörner selbst hervorhebt, seine Methode keine quantitative ist, so liefert sie doch bei genau gleichen Arbeitsbedingungen vergleichbare Resultate.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXIV, S. 207.

Zunächst versuchte ich, ob es mir gelänge, aus Menschenhaaren eine annähernd so große Menge von Cystin darzustellen, wie sie Mörner rechnermäßig bestimmt. Die Resultate waren in diesem Falle befriedigend.

I. Menschenhaare.

1. Es wurden 250 g Frauenhaare in Seifenwasser gewaschen, getrocknet und mit Äther entfettet, lufttrocken mit 500 g konzentrierter Salzsäure und 500 g Wasser durch 168 Stunden in einem Rundkolben mit Steigrohr auf dem Wasserbade erhitzt. Die Flüssigkeit färbte sich bald dunkelrot und nach einigen Tagen schied sich am Hals des Kolbens sowie im Steigrohr etwas Schwefel ab. Die Lösung wurde filtriert, im Vakuum eingeengt, mit konzentrierter Natronlauge unter Kühlung und Zusatz von Alkohol bis zur deutlich alkalischen Reaktion versetzt und sodann mit Essigsäure schwach angesäuert. Der ausfallende Niederschlag zeigte unter dem Mikroskope für Cystin typische sechsseitige Tafeln, daneben auch Nadeln von Cystin. Nach zwei Tagen wurde der Niederschlag auf das Filter gebracht und mit Wasser und Alkohol solange gewaschen, bis eine Probe des Filtrates mit Natronlauge und Bleiacetat beim Erhitzen keine Schwarzfärbung durch Schwefelblei zeigte. Der gewaschene Niederschlag wurde mit 10%igem Ammoniak gelöst, die Lösung erwärmt, filtriert und der Filterrückstand mit verdünntem Ammoniak gewaschen. Das Filtrat, das nun das Cystin enthielt, wurde im Vakuum eingedampft, wobei drei Fraktionen erhalten wurden, wovon die letzte schon durch Tyrosin verunreinigt war. Von allen drei Fraktionen wurde eine Schwefelbestimmung gemacht.

Zu dieser Bestimmung wurden ca. 0,3 g der Substanz mit 2—3 g reinem Natriumhydroxyd und einer gleichen Menge Natronsalpeter in einer kleinen Porzellanschale mit Wasser gelöst und auf dem Wasserbade eingedampft. Der Abdampfrückstand wurde über einer sehr kleinen Bunsenflamme unter beständigem Umrühren vorsichtig erhitzt, bis das trocken gewordene, dunkelbraune, krümelige Gemenge zum zweiten Male zum Schmelzen kam und ganz weiß wurde. Die Schmelze

wurde mit Bromwasser versetzt, um etwaige unvollkommen oxydierte Reste vollends zu oxydieren. Hierauf wurde die Schmelze mit Salzsäure abgedampft, der Rückstand in Wasser aufgenommen, filtriert und in dem Filtrate der Schwefel als schwefelsaures Baryum im Goochschen Tigel bestimmt. Die drei untersuchten Fraktionen gaben folgende Resultate:

Fraktion I betrug 22 g.

Davon 0,2155 g zur Schwefelbestimmung genommen
gaben 0,4025 g $\text{BaSO}_4 = 25,65\%$ S.

Fraktion II betrug $7\frac{1}{2}$ g.

Davon 0,2760 g zur Schwefelbestimmung genommen
gaben 0,5052 g $\text{BaSO}_4 = 25,13\%$ S.

Fraktion III betrug 5 g.

Davon 0,2900 g zur Schwefelbestimmung genommen
gaben 0,4325 g $\text{BaSO}_4 = 20,01\%$ S.

In der Gesamtmenge von $34\frac{1}{2}$ g des verunreinigten Cystins beträgt also der Schwefelgehalt im Durchschnitt $24,72\%$, gegen den berechneten Wert im reinen Cystin von $26,68\%$. Dem Schwefelgehalte nach sind also in Wirklichkeit nur 32,97 g Cystin aus 250 g lufttrockener Haare gewonnen worden. Nach Abzug des Wasser- und Aschengehaltes von zusammen $8,87\%$ kommen jedoch bloß 227,8 g Haare in Rechnung. Diese enthalten sonach 31,97 g d. i.

14,03% Cystin.

2. Von einer zweiten Haarprobe wurden 150 g ebenfalls sieben Tage lang hydrolysiert. Das Cystin fiel in diesem Versuche fast nur in Kugeln aus und war stark dunkel gefärbt. Aus der filtrierten ammoniakalischen Lösung wurden gleichfalls drei Fraktionen gewonnen, von denen die beiden letzten zum Behufe der Schwefelbestimmung vereinigt wurden.

Fraktion I betrug 12,5 g.

Davon gaben 0,2116 g = 0,4125 g $\text{BaSO}_4 = 26,76\%$ S.

Fraktion II und III betrug 9,5 g.

Davon gaben 0,2565 g = 0,2689 g $\text{BaSO}_4 = 14,40\%$ S.

Dem Schwefelgehalt entsprechend bestand also die erste Fraktion aus reinem Cystin, die zweite und dritte enthielt nur 5,12 g reines Cystin. Nach Abzug des Wasser- und Aschen-

gehaltenes (zusammen 9,13%) kommen 136,6 g Haare in Rechnung. Diese lieferten $12,5 \text{ g} + 5,12 \text{ g} = 17,62 \text{ g}$, d. i.

12,98% Cystin.

3. 60 g dunkelbrauner, langer Frauenhaare wurden gewaschen, hierauf in 1%iger Salzsäure und 1%igem Ammoniak je 5 Stunden stehen gelassen, dann nochmals gewaschen, getrocknet und mit Äther entfettet. Der Wasser- und Aschengehalt betrug zusammen 12,33%. Es kommen daher nur 52,6 g in Rechnung. Bei der Hydrolyse schied sich im Kolbenhalse und im Steigrohre Schwefel ähnlich anschließenden Eisblumen ab. Das ausgefällte Cystin bestand hauptsächlich aus sechseckigen Tafeln. Es wurde in Ammoniak gelöst, auf 500 ccm gebracht und die Schwefelbestimmung zweimal mit je 20 ccm gemacht.

I ergab: $0,5914 \text{ g BaSO}_4 = 0,0812 \text{ g S}$
in 500 ccm (= 52,6 g Haare) = **2,03 g S.**

II ergab: $0,5961 \text{ g BaSO}_4 = 0,08185 \text{ g S}$
in 500 ccm = **2,046 g S.**

Diesem Schwefelgehalte entsprechen: in Probe I = 14,47% Cystin
» » II = 14,58% »
im Mittel also: **14,53%** »

Diese Prozentzahl ist die größte bisher erreichte und übertrifft auch die von Mörner berechnete (13,98%). Man gelangt also, wenn man das Cystin möglichst isoliert, zu Zahlen, welche Mörners Annahme, daß der S im Haarkeratin nur in einer Art (als Cystin) gebunden sei, bestätigen.

II. Menschennägel.

Das Material, 16 Leichen entnommen, hat mir der Vorstand des anatomischen Institutes, Herr Professor Holl, gütigst zur Verfügung gestellt; es wog ca. 60 g. Die Nägel wurden einige Tage mit 1%iger Salzsäure maceriert und die weichgewordene Matrix sorgfältig abgeschabt. Nachdem sie einen Tag unter 1%igem Ammoniak gelegen, wurden sie mit Wasser gut ausgewaschen, getrocknet und durch Kochen in Äther entfettet. Nach der Reinigung reduzierte sich ihr Gewicht auf 30 g. Ihr Wasser und Aschengehalt betrug 2,757 g; es kommen daher nur 27,243 g in Rechnung. Diese gereinigten Nägel

wurden mit 70 g konzentrierter Salzsäure und ebensoviel Wasser durch acht Tage auf dem Wasserbade erhitzt. Hierbei färbte sich die Flüssigkeit anfangs hellrot, später dunkelrotbraun. Abweichend vom Verhalten des andern Versuchsobjektes zeigte sich bei den Nägeln erst am achten Tage eine Schwefelabscheidung im Kolbenhalse und Steigrohr in Form schöner Nadeln. Von der Substanz ging auch nach oftmaligem Umschütteln während der Hydrolyse nicht alles in Lösung. Nach dem Abfiltrieren und Auswaschen blieb ein Rückstand (0,75 g) auf dem Filter zurück, der weder in Säuren noch in Alkalien löslich war und auf dem Platindrahte ohne Flamme zu einer spröden Asche verbrannte. Beim Abdestillieren der Lösung im Vakuum bei 40—50° C. wurde abermals eine Abscheidung von Schwefel beobachtet, was bei dem andern Versuche nicht der Fall war. Der mit Essigsäure angesäuerte Neutralisationsniederschlag wies sechsseitige Tafeln, Kugeln und Nadeln, außerdem auch Hantelformen auf, die jedoch wahrscheinlich nicht dem Cystin zugehörten. Es wurde von der Darstellung des Cystins abgesehen und der ganze Niederschlag nach dem Waschen in Ammoniak gelöst. Die Lösung wurde auf 250 ccm aufgefüllt und davon je 20 ccm für die Schwefelbestimmung verwendet.

I ergab: 0,2190 g BaSO_4 = 0,03007 g S
in 250 ccm (27,243 g Nägel) = **0,376** g S.

II ergab: 0,2174 g BaSO_4 = 0,02985 g S
in 250 ccm = **0,3731** g S.

Diesem Schwefelgehalte entsprechen: in Probe I = 5,17% Cystin
» » II = 5,13% »
im Mittel also: **5,15%** »

III. Roßhaare.

100 g wurden in gleicher Weise gereinigt und hydrolysiert. Schwefelabscheidung am Kolbenhalse wurde auch wahrgenommen. Der Niederschlag zeigte die gewöhnlichen Formen von Nadeln und Kugeln. Die ammoniakalische Lösung wurde auf 500 ccm ergänzt. Der Wasser- und Aschengehalt betrug zusammen 15,12%. Sonach kommen in Rechnung 84,88 g.

20 ccm der Lösung ergaben: 0,5271 g BaSO_4 = 0,07238 g S
in 500 ccm (84,88 g Haare) = **1,8059** g S.

Diesem Schwefelgehalte entsprechen: **7,98%** Cystin.

IV. Pferdehufe.

Zur Zerkleinerung wurde ein Pferdehuf mit einer groben Feile bearbeitet; von den ziemlich feinen, nach der früher angegebenen Art gereinigten Feilspänen wurden 110 g acht Tage lang hydrolysiert. Schwefelabscheidung wurde nicht beobachtet. Diesmal wurde das Cystin der ammoniakalischen Lösung nicht durch fraktionierte Krystallisation, sondern durch Neutralisation mit Essigsäure gewonnen, da einige Kontrollversuche mit reinem Cystin ergaben, daß dieses in Essigsäure so ziemlich unlöslich ist und durch dieselbe fast quantitativ ausgefällt wird. Der Niederschlag betrug 11,5 g mit einem Schwefelgehalt von nur 7,3%. Es müssen daher neben Cystin noch andere Körper (Tyrosin) ausgefallen sein. Der Aschen- und Wassergehalt der Pferdehufe betrug zusammen 10,59%. Es kommen daher nur 98,35 g in Rechnung. Das aus dem Schwefelgehalt des Niederschlages berechnete Cystin der Pferdehufe beträgt **3,2%**.

V. Rinderhaare.

100 g Rinderhaare wurden wie früher angegeben gereinigt und mit Salzsäure und Wasser im bekannten Verhältnis und in der gleichen Zeitdauer hydrolysiert. Im Kolbenhalse und Steigrohre war deutlich Schwefelabscheidung sichtbar. Der Niederschlag durch Neutralisation mit Natronlauge und Ansäuern mit Essigsäure fiel sehr reichlich aus und löste sich im Ammoniak beim Erwärmen fast vollständig auf. Die Lösung wurde auf 500 ccm aufgefüllt. Der Wasser- und Aschengehalt der Haare betrug zusammen 13,96%; sonach kommen 86,04 g des Materials in Rechnung.

20 ccm der Lösung ergaben: 0,4860 g BaSO₄ = 0,06673 g S
 500 » (86,04 g Haare) = **1,6682 g S.**

Diesem Schwefelgehalte entsprechen: **7,27%** Cystin.

VI. Rinderklauen.

Es wurden 115 g Rinderklauen, analog den Pferdehufen, zerkleinert und gereinigt, in Arbeit genommen. Bei der Hydrolyse schied sich nur wenig freier Schwefel ab. Der «Neu-

tralisationsniederschlag» zeigte hauptsächlich kugelige und nadel-förmige Krystalle. Die ammoniakalische Lösung wurde auf 500 ccm aufgefüllt. Der Wasser- und Aschengehalt der Klauen betrug zusammen 11,81 %; es kommen daher 101,42 g Material in Rechnung.

20 ccm der Lösung gaben: 0,4230 g BaSO₄ = 0,05808 g S
 500 » (101,42 g Klauen) = **1,452** g S.

Diesem Schwefelgehalte entsprechen: **5,37** % Cystin.

VII. Schweinsborsten.

56 g gereinigter Schweinsborsten wurden in Arbeit genommen und acht Tage hydrolysiert, wobei nicht alles in Lösung ging. Schwefel schied sich in beträchtlicher Menge ab. Der «Neutralisationsniederschlag» wies fast ausschließlich Kugeln auf. In Ammoniak löste er sich so ziemlich vollständig. Die Lösung wurde auf 250 ccm ergänzt. Der Wasser- und Aschengehalt betrug 10,02 %; sonach kommen 50,4 g des Materials in Rechnung.

Es wurden zwei Schwefelbestimmungen mit je 10 ccm der Lösung gemacht.

I ergab: 0,2800 g BaSO₄ = 0,03845 g S
 250 ccm (50,4 g Borsten) = **0,9611** g S.

II ergab: 0,2853 g BaSO₄ = 0,03917 g S.
 250 ccm = **0,9792** g S.

Diesem Schwefelgehalte entsprechen: in Probe I = 7,15 % Cystin
 » » II = 7,28 % »
 im Mittel also: **7,22** % »

VIII. Schweinsklauen.

Dieses Material wurde ähnlich den Menschennägeln gereinigt und davon 58 g lufttrocken in Arbeit genommen. Auch in diesem Falle schied sich freier Schwefel ab. Der Neutralisationsniederschlag wies im allgemeinen dieselben Formen auf wie der von den Schweinshaaren, nur war er etwas dunkler gefärbt. In Ammoniak löste er sich auch fast vollständig. Die Lösung wurde auf 250 ccm aufgefüllt und davon mit je 10 ccm zwei Schwefelbestimmungen ausgeführt. Wasser- und Aschengehalt betrug zusammen 14,00 %, sodaß 49,88 g des Materials in Rechnung kommen.

I ergab: 0,0840 g BaSO₄ = 0,01153 g S
 250 ccm (49,88 g Klauen) = **0,2882 g S.**
 II ergab: 0,0836 g BaSO₄ = 0,01148 g S
 250 ccm = **0,2870 g S.**

Diesem Schwefelgehalte entsprechen: in Probe I = 2,17% Cystin
 » » II = 2,16% »
 im Mittel also: **2,165%** »

Übersichtstabelle.

I. Menschenhaare	$\left\{ \begin{array}{l} 1. = 14,03\% \text{ Cystin} \\ 2. = 12,98\% \text{ »} \\ 3. = 14,53\% \text{ »} \end{array} \right.$	
II. Menschennägel		= 5,15% »
III. Roßhaare		= 7,98% »
IV. Pferdehufe	= 3,20% »	
V. Rinderhaare	= 7,27% »	
VI. Rinderklauen	= 5,37% »	
VII. Schweineborsten	= 7,22% »	
VIII. Schweineklauen	= 2,17% »	

Als Ergebnis der Untersuchungen folgt:

1. daß von den verschiedenen Keratingebilden die Menschenhaare bei weitem die größte Menge Cystin liefern;

2. daß beim Menschen und den untersuchten Tieren aus den Haaren beträchtlich mehr Cystin abgespalten wird als aus den Nägeln (Klauen, Hufen). Ob dieser Befund der Ausdruck einer durchgängigen Regel ist, müßte eine noch umfassendere vergleichende Untersuchung lehren;

3. daß die Haare aus einem anderen Keratin bestehen als die Nägel (Klauen, Hufe) oder, was wahrscheinlicher ist, daß die Hornsubstanzen dieser Gebilde Gemenge verschiedener, vielleicht einander nahestehender Stoffe sind, mit einer verschiedenen Anzahl im Molekül gebundener «Cystingruppen».