

Über das Keratin der Elefanten-Epidermis.

Von

Hans Buchtala.

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

(Vorstand: Hofrat R. B. Hofmann.)

(Der Redaktion zugegangen am 18. März 1912.)

In der Fortsetzung meiner Untersuchungen über Keratin-substanzen verschiedener Tiergattungen bot sich mir durch einen günstigen Zufall auch die Gelegenheit dar, ganz reine Epidermis einer Elefantenhaut in Arbeit nehmen zu können. Das Material stammt von einem Elefanten einer Artisten-truppe und wurde mir von Herrn Hofrat Dr. L. v. Gräff freundlich zur Verfügung gestellt, der den Kadaver des umgestandenen Tieres für das Grazer zoologische Institut erworben hatte. Da über Epidermis überhaupt wenig veröffentlicht ist, dürften die hier vorliegenden Resultate von Interesse sein.

Durch länger andauerndes Ausbrühen mit Wasser wurde die 1—1½ mm dicke Epidermis derart gelockert, daß sie sich von der übrigen Haut (Corium) leicht ablösen ließ. Sie wurde mit 1% iger Salzsäure von etwa noch anhaftenden anorganischen Stoffen gereinigt und durch Auskochen mit Alkohol und Äther von Fett und ähnlichen Stoffen befreit.

Das so vorbehandelte lufttrockene Material hatte einen Wassergehalt von 9,36% und einen Aschegehalt von 2,66%.

1,0729 g Substanz verloren bei 110° C. 0,1004 g Wasser und hinterließen nach dem Verbrennen 0,0285 g Asche. Die Asche wies neben phosphor- und schwefelsaurem Calcium eine erhebliche Menge von Eisen auf.

Stickstoffverteilung.

Wie bei früheren Arbeiten, wurde auch hier zur Orientierung zunächst die Verteilung des Stickstoffes untersucht und

da dieselbe einen so geringen Prozentgehalt für Diaminostickstoff ergab, wurde von der Darstellung der Diaminosäuren Abstand genommen.

Der Gesamtstickstoff der untersuchten Substanz betrug **14,26%**.

0,8339 g Substanz verbrauchten 42,5 ccm $n/5$ -HCl = **14,27%**.

0,8941 „ „ „ 45,5 „ $n/5$ -HCl = **14,25%**.

Die nach der Methode Hausmann bzw. Gümbel durchgeführte Untersuchung ergab folgende Resultate:

Ammoniakstickstoff	—	1,47%
Melaninstickstoff	—	0,20%
Monoaminostickstoff	—	12,25%
Diaminostickstoff	—	0,32%

Bei Veresterung des nach erfolgter Hydrolyse dargestellten Abdampfrückstandes schied sich soviel Chlorammonium ab, daß der daraus berechnete Ammoniakstickstoff 1,35% der Substanz ausmacht.

Hydrolyse der Epidermis mit Salzsäure.

Für die Hydrolyse wurden 300g des lufttrockenen Materials verwendet. Die Veresterung wurde zweimal wiederholt, dabei jedesmal die bereits gebildeten Ester mit Kalilauge unter Zusatz von Kaliumcarbonat in Freiheit gesetzt und in Äther aufgenommen. Die Destillationsrückstände des ätherischen Auszugs wurden zuletzt vereinigt und der fraktionierten Destillation im Vakuum unterworfen.

Diese nachträgliche Vereinigung erschien aus Rücksicht auf Zeit- und Arbeitersparung umsomehr gerechtfertigt, als es nach der in meiner früheren Arbeit¹⁾ erwähnten Abänderung leicht möglich ist, binnen vierundzwanzig Stunden die Veresterung dreimal durchzuführen und die Ausbeuten dadurch beträchtlich zu erhöhen.

Diese Änderung kann ich nur empfohlen und teile ich daher wiederholend und ergänzend mit, daß ich den nach der Ätherextraktion verbliebenen Rückstand mit dem unmittelbar vorher abdestillierten Salzsäurealkohol übergieße, wobei sich die an-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 74, S. 212.

organischen Salze infolge der Dissoziationsverhältnisse fast vollständig und rein abscheiden und von dem in Lösung verbleibenden Gemenge zum Teil noch unveresterter Aminosäuren durch Absaugen sehr leicht und rasch getrennt werden können.

Gleich nach der ersten Veresterung schied sich beim Abkühlen ein Niederschlag von Chlorammonium ab, dessen Stickstoffmenge 1,35% der Substanz betrug, während bei der direkten Bestimmung des Ammoniakstoffs 1,47% gefunden wurden.

Eine Abscheidung von Glykokollesterchlorhydrat konnte auch nach wiederholtem teilweisen Abdestillieren des Salzsäurealkohols und jedesmaligem Abkühlen nicht erzielt werden.

Die Menge der nach dreimaligem Verestern erhaltenen Rohester betrug 320 g. Diese wurden der Destillation bei einem Druck von 11 mm unterworfen, wobei folgende Fraktionen gewonnen wurden:

1. Fraktion bis	60° (Temperatur des Wasserbades)	90,0 g
2. „ „	90°	71,0
3. „ „	125°	Ölbades 36,5
4. „ „	180°	24,0
5. Destillationsrückstand		48,0 g.

1. Fraktion.

Daraus konnten bloß 4,2 g Glykokoll und 1,7 g Alanin dargestellt werden. Sie bestand vornehmlich aus Alkohol und Äther.

2. Fraktion.

Durch wiederholt fraktioniertes Umkrystallisieren konnten aus diesem Gemenge von Aminosäuren Glykokoll, Alanin, Valin, Leucin und Isoleucin zur Darstellung gebracht werden.

Glykokoll: 7,2 g. F. 240°.

Das dargestellte Glykokollesterchlorhydrat zeigte den Schmelzpunkt von 144°.

0,0356 g Substanz enthielten 9,05 mg Cl.

Berechnet für $C_4H_{10}O_2NCl$:	Gefunden:
25,10% Cl.	25,42% Cl.

Alanin: 7,5 g. F. 297°.

Zur Analyse wurde das dargestellte Kupfersalz verwendet. 0,1717 g lieferten 0,0128 g H_2O und 0,0448 CuO .

Berechnet für $(C_3H_6NO_2)_2Cu + H_2O$: Gefunden:
 7,38% H_2O und 26,11% Cu. 7,46% H_2O und 26,10% Cu.

Valin: 6,7 g. Das Präparat bestand aus rhombischen und sechsseitigen Blättchen, die bei 335° schmolzen.

5,41 mg lieferten 0,675 ccm N; $p = 737$ mm, $t = 20^\circ$ C.

Berechnet für $C_5H_{11}NO_2$: Gefunden:
 11,97% N. 11,90% N.

Leucin: 8,4 g. Es krystallisierte in schönen silberglänzenden Blättchen, die im zugeschmolzenen Kapillarröhrchen bei 292° schmolzen.

18,98 mg lieferten 1,836 ccm N; $p = 724$ mm, $t = 20^\circ$ C.

Berechnet für $C_6H_{13}NO_2$: Gefunden:
 10,69% N. 10,69% N.

Optische Bestimmung.

0,4877 g gelöst in 20 ccm 21,5%iger Salzsäure.

Im Dezimeterrohr wurde der Winkel $\alpha = + 0,34^\circ$ abgelesen.

$$[\alpha]_D^{20} = + 13,95.$$

3. Fraktion.

Aus dieser Fraktion konnten noch Glykokoll, Alanin, Valin und Leucin dargestellt werden.

Glykokoll: 13,6 g. Das Esterchlorhydrat krystallisierte in weißen Nadeln, die einen Schmelzpunkt von 144° zeigten.

Alanin: 6 g. F. 296° .

10,58 mg lieferten 1,44 ccm N; $p = 741$ mm, $t = 17^\circ$ C.

Berechnet für $C_3H_7NO_2$: Gefunden:
 15,74% N. 15,62% N.

Valin: 0,6 g.

5,83 mg lieferten 0,63 ccm N; $p = 724$ mm, $t = 20^\circ$ C.

Berechnet für $C_5H_{11}NO_2$: Gefunden:
 11,97% N. 11,91% N.

Leucin: 2,4 g.

8,8 mg lieferten 0,855 ccm N; $p = 724$ mm, $t = 20^\circ$ C.

Berechnet für $C_6H_{13}NO_2$: Gefunden:
 10,69% N. 10,71% N.

4. Fraktion.

Nach dem bekannten Verfahren wurde aus dieser Fraktion 8.6 g Phenylalaninchlorhydrat isoliert. Das daraus mit Ammoniak in Freiheit gesetzte Phenylalanin wurde durch fraktioniertes Krystallisieren gereinigt. Ausbeute: 7 g.

17,4 mg lieferten 1,32 ccm N: $p = 725$ mm, $t = 19^{\circ}$ C.

Berechnet für $C_9H_{11}NO_2$:	Gefunden:
8,49% N.	8,46% N.

Bestimmung der Glutaminsäure.

Dieselbe wurde durch eine eigens zu diesem Zwecke ausgeführte Hydrolyse vorgenommen. 20 g des Materials wurden mit 80 ccm konzentrierter Salzsäure zwölf Stunden lang gekocht, das Hydrolysat, mit Tierkohle fast vollständig entfärbt, wurde auf ein kleines Volumen eingeeengt und nach dem Einleiten von Salzsäuregas und mehrtägigem Stehen in der Kälte das Glutaminsäurechlorhydrat zur Abscheidung gebracht. Seine Menge betrug 2,55 g.

0,0435 g enthielten 8,4 mg Cl.

Berechnet für $C_5H_{10}NO_4Cl$:	Gefunden:
19,31% Cl.	19,31% Cl.

Schwefel- und Cystingehalt.

Die Schwefelbestimmung wurde durch Schmelzen der Substanz mit Salpeter und Natriumhydroxyd ausgeführt.

0,7462 g Substanz gaben 0,0715 g $BaSO_4 = 1,32\%$ S.

Für die Cystinbestimmung wurden 15 g der Substanz hydrolysiert und hierbei 0,7 g Cystin erhalten, das in den bekannten sechsseitigen Krystallen sich zeigte.

Bei dieser Gelegenheit soll erwähnt werden, daß ich zum Vergleiche eine Schwefelbestimmung an Elefantenborsten vornahm. Es zeigte sich auch da, daß die Haare einen größeren Schwefelgehalt aufweisen als die anderen epidermoidalen Gebilde.¹⁾

0,3161 g Substanz gaben 0,0681 g $BaSO_4 = 2,96\%$ S.

Für eine Cystinbestimmung der Borsten reichte das Material leider nicht aus, da sich ihrer am Schwanzende wenige befinden.

¹⁾ Siehe Diese Zeitschrift, Bd. 52. S. 474.

Tyrosinbestimmung.

50 g der Epidermis wurden mit 100 g konzentrierter Schwefelsäure und 200 g Wasser durch 14 Stunden gekocht, wobei sich die Flüssigkeit rosa-violett färbte. Es verblieb ein Rückstand im Gewichte von 5,5 g. Nach Entfernung der Schwefelsäure mit Barytwasser und wiederholtem Auskochen des Niederschlages fiel nach dem Abkühlen der eingedampften Lösung das Tyrosin in einem Gewicht von 5,2 g aus. Dieses Rohtyrosin wurde mit Eisessig ausgekocht und durch Umkrystallisieren aus heißem Wasser gereinigt. Die Menge des ganz reinen Tyrosins betrug 2,6 g.

10,45 mg lieferten 0,72 ccm N; $p = 739$ mm, $t = 19^{\circ}$ C.

Berechnet für $C_9H_{11}NO_3$:	Gefunden:
7,74% N.	7,83% N.

Übersicht der Resultate:

Glykokoll	8,33%
Alanin	5,07%
Valin	2,43%
Leucin	3,60%
Glutaminsäure	10,20%
Phenylalanin	2,33%
Tyrosin	5,20%
Cystin	4,70%

Beim Hinblick auf die Tabelle ist der hohe Prozentgehalt an Glykokoll auffallend, der die Werte dieses Körpers bei anderen Hornsubstanzen, wie Haaren und Horn verschiedener Säugetiere, um das mehrfache übersteigt und von hornartigen Gebilden nur durch das Schildpatt von *Chelone imbricata*¹⁾ übertroffen wird.

Der Wert für Glutaminsäure bewegt sich in mittleren Grenzen gegenüber anderen Hornsubstanzen. Vom Schildpatt unterscheidet sich diese Epidermis wesentlich durch den hohen Gehalt an Glutaminsäure, da dieser Baustein dem Schildpatt von *Chelone imbricata* fehlt. Um zu sehen, ob diese Eigen-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 74. S. 212.

schaft auch dem Schildpatt anderer Schildkröten zukommt, untersuchte ich auch das Schildpatt von *Thalassochelis*, welches mir von Herrn Professor Klemensiewicz gütigst zur Verfügung gestellt wurde. Hierbei konnte ebenfalls Glutaminsäure nicht vorgefunden werden.

Schließlich möchte ich noch als bemerkenswert den Rückstand erwähnen, der bei Hydrolyse von Elefantenepidermis sowohl durch Salzsäure wie durch Schwefelsäure verblieb und der etwas über 10% des gereinigten Materials ausmachte. Derselbe stellte einen plastischen Kuchen dar und erinnerte in seinem Aussehen, Farbe und Geruch an Asphalt. Gegenüber Säuren und Alkalien sehr widerstandsfähig, löste er sich in Alkohol und Petroläther zu einem beträchtlichen Teile auf. Aus der durch Tierkohle entfärbten Lösung wurde nach dem Abdampfen ein farbloser Rückstand von salbenartiger Konsistenz erhalten, der aus Fettsäuren bestand. Es tritt eben auch hier die bereits beobachtete Erscheinung auf, daß Fettsäuren manchen organischen Substanzen so innig anhaften oder vielleicht davon gebunden sind, daß sie durch bloßes Auskochen mit Alkohol und Äther nicht vollständig entfernt werden können. Der in Alkohol und Petroläther unlösliche Rückstand ähnelte in seinem Aussehen ganz den Melaninsubstanzen anderer Eiweißkörper.