

Über das Keratin der Schuppen von *Manis japonica*. (Schuppentier).

Von

Dr. Hans Buchtala.

(Aus dem Institute für medizinische Chemie der Universität Graz, Vorstand:
Hofrat K. B. Hofmann.)

(Der Redaktion zugegangen am 24. April 1913.)

In Fortsetzung meiner Untersuchungen über die Keratine verschiedener Tierarten nahm ich auch die Schuppen von *Manis japonica* in Arbeit. Das Untersuchungsmaterial stammte von einem Tiere und wog nach der vorgenommenen üblichen Reinigung mit Salzsäure, Alkohol und Äther 150 g.

Wasser- und Aschegehalt.

0,8619 g Substanz verloren im Trockenschrank bei 110°
0,0640 g an Gewicht und hinterließen nach dem Glühen einen
Rückstand von 0,0075 g; demnach beträgt:

Der Wassergehalt	7,43%
Der Aschegehalt	0,87%.

Stickstoffverteilung in den Schuppen.

Das verwendete Material zeigte im lufttrockenen Zu-
stande einen Gehalt von 14,21% Stickstoff.

Die nach der üblichen Methode durchgeführte Unter-
suchung über die Stickstoff-Verteilung ergab folgende Resultate:

Ammoniakstickstoff	1,25 %/o
Melaninstickstoff	0,074 %/o
Monoaminostickstoff	12,705 %/o
Diaminostickstoff	0,56 %/o.

Wie aus den gefundenen Werten hervorgeht, ist auch
dieses Keratin zum größten Teil aus Monoaminosäuren auf-
gebaut.

Hydrolyse der Schuppen mit Salzsäure.

Zur Durchführung der Hydrolyse wurden 60 g des luft-trockenen Materials verwendet. Diese wurden mittels 200 ccm konzentrierter Salzsäure unter Erwärmen auf dem Wasserbade in Lösung gebracht, wobei sich die Flüssigkeit rotviolett färbte, und hierauf 12 Stunden lang am Rückflußkühler gekocht. Der nach dem Abdestillieren der Salzsäure erhaltene Rückstand wurde dreimal rasch hintereinander verestert. Aus den vereinigten Ätherlösungen wurden nach dem Abdestillieren des Äthers 100 g Rohester erhalten. Diese lieferten bei der fraktionierten Destillation bei einem Druck von 11 mm folgende Fraktionen:

1. Fraktion bis	60°	17,0 g
2. „ „	80°	8,5 „
3. „ „	105°	17,4 „
4. „ „	123°	5,0 „
5. „ „	180°	4,8 „
6. Destillationsrückstand		29,0 „

Die Verarbeitung der einzelnen Fraktionen erfolgte ähnlich wie in früheren Arbeiten. Durch zahlreiche fraktionierte Krystallisationen gelangte ich zu folgenden Mengen an Aminosäuren, deren Reinheit durch Bestimmungen des Schmelzpunktes, des optischen Drehungsvermögens sowie durch die Analyse erwiesen wurde.

Glykokoll: 0,8 g. Dasselbe konnte nur in der ersten Fraktion gefunden werden. (F. = 240°.) Das daraus dargestellte Glykokollesterchlorhydrat schmolz bei 144°.

0,1034 g des Chlorhydrates enthielten 0,0266 g Chlor.

Berechnet für $C_4H_{10}O_2NCl$:	Gefunden:
25,40% Cl.	25,73% Cl.

Alanin: 7,2 g. (F. = 293°.)

9,55 mg Subst. lieferten 1,35 ccm N. $t = 20^\circ C.$, $p = 737$ mm.

Berechnet für $C_3H_7NO_2$:	Gefunden:
15,74% N.	15,94% N.

Valin: 2,4 g. (F. = 340°.)

11,12 mg Subst. lieferten 1,32 ccm N. $t = 19^{\circ}$ C., $p = 732$ mm.

Berechnet für $C_5H_{11}NO_2$: Gefunden:

11,97% N. 12,05% N.

Optische Bestimmung.

0,50964 g gelöst in 20 ccm 21,5%iger Salzsäure. Im dm-Rohr wurde der Winkel $\alpha = +0,66^{\circ}$ abgelesen.

$$[\alpha]_D^{20^{\circ}} = +25,91^{\circ}.$$

Leucin: 6,15 g. (F. = 298°.)

Zur Analyse diente das für diesen Zweck dargestellte Chlorhydrat.

23,48 mg zeigten einen Gehalt von 4,95 mg Chlor.

Berechnet für $C_6H_{13}NO_2 \cdot HCl$: Gefunden:

21,17% Cl. 21,08% Cl.

Optische Bestimmung.

0,83905 g, unter denselben Verhältnissen wie das Valin gelöst, ergaben den Winkel $\alpha = +0,72^{\circ}$.

$$[\alpha]_D^{20^{\circ}} = 17,17^{\circ}.$$

Phenylalanin: 1,6 g. (F. = 263°.)

8,98 mg Subst. lieferten 0,71 ccm N. $t = 24^{\circ}$ C., $p = 736$ mm.

Berechnet für $C_9H_{11}NO_2$: Gefunden:

8,49% N. 8,80% N.

Prolin: 2,1 g.

Dasselbe wurde durch Analyse des Kupfersalzes identifiziert.

0,1694 g verloren unter Violettfärbung bei 105° 0,0178 g an Gewicht und hinterließen nach dem Veraschen 0,0415 g CuO .

Berechnet für $C_{10}H_{16}N_2O_4Cu + H_2O$: Gefunden:

10,99% H_2O und 10,51% H_2O und

21,81% Cu. 21,88% Cu.

Bestimmung des Schwefel- und Cystingehaltes in den Schuppen.

1,1031 g Substanz lieferten nach dem Schmelzen mit Salpeter und Natriumhydroxyd und endlichem Versetzen mit Baryumchlorid 0,1878 g $BaSO_4$. Daraus berechneter Schwefel-

gehalt: **2,34%**. Für die Darstellung des Cystins wurden 10 g des Materials mit Salzsäure hydrolysiert. Das Cystin wurde daraus in bekannter Weise isoliert und ich konnte davon 0,45 g in Form von sechsseitigen Tafeln darstellen. Die einheitliche Krystallform sowie die positive Schwefelreaktion bewiesen die Anwesenheit reinen Cystins.

Darstellung der Glutaminsäure.

10 g der Schuppen wurden mit 50 ccm konzentrierter Salzsäure hydrolysiert. Aus der entfärbten und eingeeengten Lösung schied sich nach völliger Sättigung mit Salzsäuregas und mehrtägigem Stehen in der Kälte das Glutaminsäurechlorhydrat in einer Menge von 0,44 g ab, entsprechend 0,35 g Glutaminsäure.

23,4 mg des Chlorhydrates enthielten 4,50 mg Chlor.

Berechnet für $C_5H_{10}NO_4Cl$:	Gefunden:
19,31% Cl	19,23% Cl.

Bestimmung des Tyrosins.

20 g Schuppen wurden mit 40 ccm konzentrierter Schwefelsäure und 200 ccm Wasser 10 Stunden lang am Rückflußkühler gekocht. Nach dem Entfernen der Schwefelsäure durch Fällen mit Baryumhydroxyd und Einengen des Filtrates fielen 3 g von Roh tyrosin aus. Durch einmaliges Umkrystallisieren aus heißem Wasser konnten 2,6 g reinen Tyrosins gewonnen werden.

13,47 mg lieferten 0,91 ccm N. $t = 21^\circ$, $p = 737$ mm.

Berechnet für $C_9H_{11}NO_3$:	Gefunden:
7,74% N.	7,61% N.

Eine Probe davon schmolz bei 310° .

Übersicht der Resultate.

Glykokoll	1,33%
Alanin	12,00%
Valin.	4,00%
Leucin	10,25%

Prolin	3,50 ^o / _o
Glutaminsäure.	3,50 ^o / _o
Phenylalanin	2,67 ^o / _o
Tyrosin	13,00 ^o / _o
Cystin	4,50 ^o / _o .

Die vorstehende Tabelle zeigt ganz außerordentlich hohe Werte für Alanin und Tyrosin. Die Menge des ersteren hält sich bei den typischen Keratinen, aus denen die Epidermoidalgebilde bestehen, zwischen 1,2—1,8^o/_o, während sie bei *Manis japonica* das 8—10fache beträgt. Nur bei der Schafwolle steigt sie auf 4,4^o/_o. Bei anderen Eiweißkörpern allerdings ist sie höher, Koilin 5,8^o/_o, Eieralbumin 8,1^o/_o, und steigt bei der Spinnenseide sogar auf 23,4^o/_o. Die Tyrosinmenge übertrifft die bei andern Keratinen um das 3—4fache. Bei *Chelone imbricata* ist die Menge der Glutaminsäure auffallend gering (3,5^o/_o gegenüber der Durchschnittsmenge von 15^o/_o). In bezug auf Cystin stimmen die Schuppen mit den Schweine- und Rinderklauen überein. Die Menge der andern Spaltungsprodukte stimmt mit der der Haare anderer Säugetiere überein.