Untersuchungen über Cetacea.

VI.

Über das Gelatin aus Unterhautbindegewebe.

Von

Shu Oikawa.

(及 川 周)

(Aus dem medizinisch-chemischen Institut der Universität zu
Sendai, unter Leitung von Prof. Katsuji Inouye.)

Das zu untersuchende Gelatin war aus der getrockneten Haut des Wals dargestellt worden. Das in kleine Stücke geschnittene, durch wiederholte Extraktion mit Äther und Azeton entfettete Unterhautbindegewebe wurde mit der mehrfachen Menge Wasser gekocht, heiss filtriert und noch warm mit Alkohol ausgefällt. Das ausgeschiedene Gelatin wurde nunmehr durch mehrmalige Wiederholung von Auflösen im warmen Wasser und Ausfällen mit Alkohol gereinigt, auf neuem mit Äther behandelt und über Schwefelsäure schnell getrocknet. Ich verzichtete auf die Behandlung mit Alkalien oder Säuren, weil dabei Zeichen der Umwandlung offenbar wurde. Das auf die genannte Weise erhaltene Gelatin stellte ein weisses Pulver mit einem Wassergehalt von 8,39% und einem Aschegehalt von 0,97% dar.

0,9200 g des Gelatins gaben nach dem Schmelzen mit Soda und Salpeter 0,0118 g Baryumsulfat = 0,18% S.

Verteilung des Stickstoffs.

Die Untersuchung auf die Verteilung des Stickstoffs geschah nach der Methode von v. Slyke und ergab folgende Resultate.

Bei der Hydrolyse verblieb als ungelöster Rückstand eine kleine Menge dunkelbraune Masse, deren Stickstoffgehalt 0,025% des gesamten Stickstoffs betrug.

	In Prozenten des wasser- und aschefreien Gelatins.	In Prozenten des Gesamt- stickstoffs
Gesamt-N	16,33	
Ammoniak-N	0,68	4,16
Humin-N	0,71	4,35
Monoamino-N	10,97	67,18
Nicht-Amino-N	2,78	17,02
Arginin-N	0,45	2,76
Histidin-N	0,31	1,90
Lysin-N	0,38	2,33
Zystin-N	0	0

Es scheint demnach, am Aufbau des Gelatins hauptsächlich Mono-aminosäuren beteiligt zu sein.

Aminosäuren des Gelatins.

Zum Zweck der Hydrolyse wurden 40 g des Gelatins durch zwanzig Stunden mit 120 ccm Salzsäure von Dichte 1,19 am Rückflusskühler gekocht. Die von ausgeschiedenen Melaninsubstanzen abfiltrierte Flüssigkeit wurde durch das teilweise Abdestillieren des Lösungsmittels unter vermindertem Druck konzentriert, bis zur völligen Sättigung trockenes Salzsäuregas eingeleitet und unter Abkühlung mehrere Tage stehen lassen. Es fand keine Ausscheidung von Glutaminsäure statt. Die braun gefärbte Flüssigkeit wurde nun unter vermindertem Druck zum dicken Syrup eingedampft, unter Erwärmen in 120 ccm absoluten Alkohol aufgelöst und durch Zuleitung von trockener gasförmigen Salzsäure verestert. Der ganze Prozess wurde dreimal wiederholt, wobei jedesmal reichliche Ausscheidung von Glykokollesterchlorhydrat erzielt wurde.

Die Menge des gesamten abgeschiedenen Glykokollesterchlorhydrats betrug 12 g. Nach der Umkrystallisation aus Alkohol und Entfärbung durch Tierkohle schmolz es bei 144°.

0,2400 g Substanz gaben 0,2501 g AgCl = 25,79 % Cl.

Berechnet für $C_4H_9NO_2HCl$: Gefunden:
C = 25,41 % Cl = 25,79 %

Die Mutterlauge des Glykokollesterchlorhydrats wurde im Vakuum stark eingengt, die Ester durch Natronlauge und Kaliumkarbonat in Freiheit gesetzt und sofort in Äther aufgenommen. Der Destillationsrückstand der vereinigten Ätherauszüge wurde der fraktionierten

Destillation bei einem Druck von 6 mm unterworfen. Folgende Fraktionen wurden dabei gewonnen :

Temperatur des Wasser- resp. Ölbad.		
I. Fraktion	bis 60°	8 g
II. „	„ 110°	10 g
III. „	„ 180°	2 g
Rückstand		4 g

Aus den einzelnen Fraktionen wurden die Aminosäuren in der üblichen Art und Weise isoliert und identifiziert.

Fraktion I.

Dieselbe wurde nach der Verseifung durch fünfzehnstündiges Kochen mit dem zehnfachen Volumen Wasser am Rückflusskühler auf dem Wasserbade fast bis zur Trockne eingedunstet, der krystallinische Rückstand mit absolutem Alkohol ausgekocht und der alkoholische Auszug mit dem aus der zweiten Fraktion erhaltenen vereinigt. Die in Alkohol unlöslichen Substanzen wurden in heissem Wasser gelöst und durch fraktionierte Krystallisation in zwei Teilen zerlegt.

Der zuerst auskrystallisierte Anteil wog 0,2 g und bestand aus süßschmeckenden Prismen vom Schmelzpunkt 290°; es lag also höchst wahrscheinlich Alanin vor.

Der zweite Teil bestand in der Hauptsache aus Glykokoll, welches in Form von Pikrat daraus abgeschieden wurde. Die Menge des gereinigten Pikrats, das bei 190° schmolz, betrug 3,19, entsprechend 0,8 g Glykokoll.

Fraktion II.

Sie wurde durch Kochen mit zehnfachen Volumen Wasser verseift, die dabei frei gewordenen Aminosäuren zur Trockne gebracht und darauf mit absolutem Alkohol heiss extrahiert. Die alkoholische, Prolin enthaltende Lösung wurde mit dem entsprechenden Auszug aus der ersten Fraktion vereinigt, bis zur Trockne verdampft, der Rückstand wieder mit absolutem Alkohol behandelt, filtriert und nochmals eingedampft. Der trockne Rückstand im Gewichte von 3,9 g wurde sodann in heissem Wasser gelöst, die Lösung mit einem Überschuss vom frisch gefällten Kupferhydroxyd gekocht, heiss filtriert und das tiefblaue Filtrat zur Krystallisation eingedampft. Die Analyse des so erhaltenen Prolinkupfers ergab folgende Resultate :

0,1970 g lufttrockener Substanz verloren bei 110° 0,0212 g H₂O = 10,76 % H₂O.

Berechnet für $(C_5H_8NO_2)_2Cu + 2H_2O$:	Gefunden:
$H_2O = 10,99 \%$	$H_2O = 10,76 \%$
0,1892 g wasserfreier Substanz gaben 0,0520 g $CuO = 21,98 \%$ Cu.	

Berechnet für $(C_5H_8NO_2)_2Cu$:	Gefunden:
$Cu = 21,81 \%$	$Cu = 21,98 \%$

Der beim Auskochen mit Alkohol verbliebene Rückstand lieferte bei der Zerlegung durch fraktionierte Krystallisation folgende Aminosäuren:

Alanin: 3,4 g. Schmelzpunkt = 290° .

0,3107 g Substanz verbrauchten nach Kjeldahl 34,4 ccm $1/10$ NH_2SO_4 .
= 15,50 % N

Berechnet für $C_3H_7NO_2$:	Gefunden:
$N = 15,74 \%$	$N = 15,50 \%$

Bei der Reinigung verlor ich unglücklicherweise den grössten Teil des Materials; so bin ich nicht imstande, zu entscheiden, ob in dieser Fraktion noch andere Aminosäuren beigemischt waren. Jedenfalls lässt es darüber keinen Zweifel, dass dieselbe im wesentlichen aus Alanin bestand.

Leuzin: 0,5 g. Schmelzpunkt = 296° .

0,2293 g Substanz verbrauchten nach Kjeldahl 17,7 ccm $1/10$ NH_2SO_4 .
= 10,81 % N

Berechnet für $C_6H_{13}NO_2$:	Gefunden:
$N = 10,69 \%$	$N = 10,81 \%$

Fraktion III.

Auf Zusatz von Wasser schieden sich Öltropfen aus dieser Fraktion; das weist darauf, dass sich in derselben Phenylalanin vorfand, wenn seine Quantität auch eine geringe war.

Es sei noch erwähnt, dass das Gelatin die Millon's und Pauly's Reaktion gab; die letztere nam nach der Behandlung mit Benzoylchlorid an Intensität bedeutend ab.

Es wurden im Gelatin gefunden: Glykokoll, Alanin, Prolin, Leuzin, Phenylalanin, Tyrosin und Histidin.