

## II. Gelatine.

Vorbehandlung der isoelekt. Gelatine ( $p_H = 5.05$ )	Formol-Titration 20 cem 3-proz. Lsg. verbrauchten cem $\frac{1}{15}$ Ba(OH) <sub>2</sub> van-Slyke-Zahl 1 cem 3-proz. Lsg. ( $\theta$ , 760 mm) cem N <sub>2</sub> Viscosität bei 40° 25 cem 3-proz. Lsg. Ostwald- Viscosimeter Mutarcation 3-proz. Lsg. 1-dm-Rohr Drehung in Ventzke-Graden				Fluorescenz			
					Gelatine-Film		10-proz. Gelatine-Lösung	
					Farbe	Intensität	Farbe	Intensität
Nicht vorbehandelt	1.13	0.74	1.85	12.40 V <sup>0</sup>	violett	sehr schwach	bläulich	sehr schwach
25-proz.Lsg. 72Std. auf siedend. Was- serbad . . . . .	1.15	0.65	1.22		weißlich	×		
25-proz.Lsg. 75Std. auf siedend. Was- serbad . . . . .	1.20	0.74	1.16	3.52 V <sup>0</sup>	weißlich	×		
25-proz. Lsg. 336 Std. auf siedend. Wasserbad. . . . .	1.40	0.93	1.08	0.34 V <sup>0</sup>	weißlich	× ×	hell opal	× × ×
25-proz.Lsg. 72Std. bei 111° (siedend. Toluol) . . . . .				1.3 V <sup>0</sup>	violett	× × ×	opalblau	× ×
25-proz.Lsg. 48Std. bei 121° (siedend. Perchlor-äthylen)	1.30-1.4	1.09	1.07	0.7 V <sup>0</sup>	weißlich	× × ×		
10-proz.Lsg. 11Std. bei 120° . . . . .							opalblau leucht.	× × × ×
25-proz. Lsg. 8Std. auf siedend. Was- serbad bei $p_H$ 1,8	2.6	1.3		-0.45 V <sup>0</sup>			opalblau	× × ×

Formol- und van-Slyke-Zahlen nur ganz unwesentlich gestiegen. Hingegen zeigt der in der letzten Reihe der Tab. II angegebene Versuch, bei dem die Gelatine bei schwach saurer Reaktion ( $p_H$  1,8) nur 8 Std. auf siedendem Wasserbade erhitzt war, die zu erwartende, durch Lösung von Peptid-Bindungen gekennzeichnete Hydrolyse.

Den HHrn. Dr. Curt Lamm, Dipl.-Ing. H. Hübner und Dipl.-Ing. Graf O. Triangi sind wir für ihre Hilfeleistung bei den Versuchen zu Dank verpflichtet.

### 312. Hans Pringsheim und Gerti Will: Über die Konstitution des Glykogens. (Beiträge zur Chemie der Stärke, XXI. <sup>1)</sup>).

[Aus d. Chem. Institut d. Universität Berlin.]

(Eingegangen am 15. August 1928.)

Bisher hat sich eine energische Desaggregation der Stärke und des Glykogens bis zur Isolierung der Bauelemente dieser Polysaccharide nicht erreichen lassen. Die labile Natur dieser Träger der konstitutionellen Eigenarten der genannten pflanzlichen und tierischen Kohlehydrat-Reserve-stoffe, die zur Erklärung ihrer vielseitigen chemischen und fermentativen

<sup>1)</sup> 20. Mitteilung: H. Pringsheim und P. Meyersohn, B. 60, 1709 [1927].

Umsetzungen herangezogen wurde<sup>2)</sup>, bringt es mit sich, daß sie beim Erhitzen in Glycerin eine Umlagerung unter Stabilisierung zu den Hexosanen erleiden<sup>3)</sup>, wobei im Speziellen aus dem Glykogen das Trihexosan entsteht. Als Baustein des Glykogens kann dieses Trisaccharid, trotzdem seine Amylyse zur Maltose führt, nicht angesprochen werden, da ihm die Fähigkeit zur Aggregation fehlt. Auch kommt dem Trihexosan eine andere spezifische Drehung als dem Glykogen zu. Nach der schon mehrfach experimentell begründeten Auffassung vom Bau komplexer Polysaccharide müßte der Drehwert aber durch die Ablösung der übermolekularen Valenzen, die keine strukturelle Veränderungen nach sich zieht, unbeeinflußt gelassen werden<sup>4)</sup>. Auch das Verschwinden der Jodfärbung beim Übergang vom Glykogen in Trihexosan spricht für eine Konstitutions-Änderung.

Durch den Eintritt von Essigsäure-Resten in die drei freien Hydroxyle des Glykogens mittels der Pyridin-Essigsäure-anhydrid-Acetylierungsmischung<sup>5)</sup> läßt sich nun das Molekül des Polysaccharides so festigen, daß man es energischeren Reaktionen ohne Umlagerungsgefahr aussetzen kann.

Unsere Versuche wurden mit Glykogen aus Miesmuscheln ausgeführt. Das daraus von uns erhaltene Triacetat war in Chloroform nur sehr wenig löslich. Um ihm zur Ausführung der von uns geplanten Versuche diese Eigenschaft zu geben, haben wir es, gestützt auf frühere Beobachtungen an Polysaccharid-acetaten, in siedendem Naphthalin erhitzt. Die nötige Chloroform-Löslichkeit wurde dadurch erreicht. Die Verkleinerung des Ballungszustandes ließ sich jedoch in diesem Falle, und ebenso beim Amylopektin-acetat, nicht durch Abnahme der Viscosität verfolgen. Dieser Ausfall einer in anderen Versuchsreihen erprobten Prüfungsmethode war anfangs recht irreführend.

Wir fanden nun, daß sich die Desaggregation in der nötigen Weise erreichen läßt, wenn man das chloroform-löslich gemachte Glykogen-acetat bei Gegenwart von entwässerter Benzol-sulfonsäure in diesem Lösungsmittel längere Zeit kocht. Läßt man eine 4-proz. Glykogen-acetat-Chloroform-Lösung nach Zugabe von 0.2% Benzol-sulfonsäure einen Tag lang sieden, so tritt keine Substanz-Ausscheidung ein, und man gewinnt aus dem Chloroform ein teilweise verseiftes Acetat mit etwa 34% Acetyl, im Gegensatz zu 44,8% Acetyl des Triacetates, zurück; setzt man das Kochen länger, z. B. 3 Tage fort, dann scheidet sich infolge weiterer Desacetylierung bis zu ca. 24% Acetyl ein Teil der Substanz als gelatinöse Masse am Boden des Kochkolbens ab. Aber das Endresultat ist in diesen Fällen das gleiche; nach der vollkommenen Verseifung gewinnt man ein Glykogen<sup>6)</sup>, das denselben Drehwert wie das Glykogen und dessen charakteristische Jodfarbe zeigt, die offenbar wider Erwarten vom Ballungszustande unabhängig ist. Denn durch Kryoskopie der klaren Lösung des Glykogenes in Wasser ließ sich seine Trisaccharid-Natur unschwer feststellen, gleichgültig, ob die Kochdauer des Glykogen-acetates mit der benzol-sulfonsauren Lösung

<sup>2)</sup> H. Pringsheim, B. 57, 1581 [1924] und in R. P. Walton, A. Comprehensive Survey of Starch Chemistry, New York 1928, S. 35.

<sup>3)</sup> A. Pictet und Jahn, Helv. chim. Acta 5, 640 [1922]; H. Pringsheim und K. Wolfsohn, B. 57, 887 [1924]. <sup>4)</sup> B. 59, 3008 [1902].

<sup>5)</sup> H. Pringsheim und M. Laßmann, B. 55, 1409 [1922].

<sup>6)</sup> Die Einführung des Trivialnamens scheint bis zur besseren allgemeinen Ordnung der Polysaccharid-Nomenklatur aus Gründen der Klarheit geboten.

in Chloroform 1 oder 3 Tage gedauert hatte, unbeeinflusst davon, ob die Endverseifung mit alkoholischer Kalilauge oder mit wäßriger Barythydrat-Lösung vorgenommen worden war.

Beim Siedepunkt des Wassers geht das Glykogen dagegen aus dem echten in den kolloidalen Lösungszustand zurück, denn bei der Ebullioskopie wird keine Siedepunktserhöhung, sondern ein Rückgang des Thermometer-Standes beobachtet, wie das in ganz analoger Weise zuerst bei den Stärke- und Glykogen-Abwandlungsprodukten, der Tri- und der Diamylose, festgestellt wurde<sup>7)</sup>.

Das Glykogen ist durch Pankreas-Amylase bis zum Grenzabbau zu Maltose spaltbar, durch Zusatz von Hefe-Komplement<sup>8)</sup> wird die Spaltung annähernd quantitativ. Die Kinetik der Fermentspaltung verläuft mit Glykogen und Glykogenacetat als Substraten genau parallel, worin wir, wie in anderen Fällen, einen Beweis für die konstitutionelle Gleichheit des Polysaccharids mit seinem Bauelement sehen. Auch bei der Glykolyse verhielt sich das Glykogen, wie Hr. O. Meyerhof festgestellt hat, quantitativ dem Glykogen gleich.

Durch Reacetylieren läßt sich das Glykogen in ein Triacetat verwandeln, das mit dem Triacetyl-glykogen übereinstimmende Drehung zeigt. Die Molekulargewichts-Bestimmung dieses Acetats in Eisessig gab bei Konzentrationen bis zu 0,3% auf ein Triacetyl-hexosan stimmende Werte; bei höherer Konzentration war Assoziation zu beobachten.

Hier stoßen wir auf einen Punkt, der einer Diskussion bedarf.

K. Hess und R. Stahn<sup>9)</sup> gelangten kürzlich bei der Bestimmung des Molekulargewichts von Glykogenacetat in Eisessig bei geringen Konzentrationen zu kleineren Werten, als einem Bioseanhydridacetat zukommen, und L. Schmid, E. Ludwig und K. Pietsch<sup>10)</sup> teilen soeben mit, daß sie das Molekulargewicht des Glykogens in flüssigem Ammoniak entsprechend einem Hexose-anhydrid gefunden haben. Muß aus diesen Befunden der Schluß gezogen werden, daß unser Glykogen ungenügend desaggregiert war? Dagegen spricht die Beobachtung, daß 3-tägiges Kochen das Molekulargewicht nicht unter die bei eintägigem gemessene Trisaccharid-Stufe herabzudrücken imstande war. Weiterhin könnte erwogen werden, ob das Glykogen in Wasser bei Gefriertemperatur nicht eine Assoziationsneigung zur trimeren C<sub>6</sub>-Stufe zeigt. Die Beobachtung der Trihexosan-Bildung beim Glycerin-Erhitzen des Glykogens wie bei der Restkörper-Bildung der Amylyse<sup>11)</sup> spricht mehr dafür, daß im Bauelement des Polysaccharids tatsächlich 3 Glucose-Reste enger miteinander verbunden sind als mit den anderen, und daß die Trihexosan-Bildung eine Umlagerung, vermutlich eine Sauerstoffbrücken-Verschiebung, bedeutet.

Wir streifen hier ein Problem der Strukturchemie zur Aggregation neigender Stoffe, das auf Grund unserer heutigen Anschauungen und mit den uns zur Verfügung stehenden experimentellen Methoden nicht zur endgültigen Lösung gebracht werden kann. Die Frage taucht auf, ob sich bei komplexen Polysacchariden im allgemeinen und in klarer übersichtlichen

<sup>7)</sup> B. 55, 1433 [1922], 56, 1520 [1923].

<sup>8)</sup> vergl. B. 54, 1762 [1923] und fünf weitere Mitteilungen in Biochem. Ztschr.

<sup>9)</sup> A. 455, 115 [1927].

<sup>10)</sup> Monatsh. Chem. 137, 118 [1928].

<sup>11)</sup> Biochem. Ztschr. 148, 336 [1924].

Fällen, z. B. beim Glykogen oder beim Inulan<sup>12)</sup>, die Grenzen zwischen Hauptvalenzen und Molekularvalenzen so verwischen, daß man sie durch unsere Methoden der Molekulargewichts-Bestimmung nicht mehr unterscheiden kann. Oder, um es präziser zu fassen, ob der durch Kryoskopie in Eisessig gefundene, der C<sub>6</sub>-Stufe entsprechende Molekularumfang des Glykogen- bzw. Glykogenacetats oder der des Inulinacetats<sup>13)</sup> durch Aufteilung unter Zerreißen von Sauerstoffbrücken-Bindungen erklärt werden soll, die für das Glykogen selbst auch in flüssigem Ammoniak anzunehmen wäre. Dies könnte in Anlehnung an die Bergmannschen Beobachtungen<sup>14)</sup> über die verschiedenen Aggregatzustände des Acetylaldols in gasförmigem und gelöstem Zustande geschehen, ähnlich wie K. Freudenberg und E. Braun<sup>15)</sup> ihre Ketten-Theorie der Cellulose mit den kryoskopischen Befunden am Celluloseacetat so zu vereinbaren suchen, wenn nicht bezüglich der Beeinflussung des optischen Drehwertes durch eine solche konstitutionelle Veränderung noch Schwierigkeiten bestehen bleiben würden. Die Verkürzung einer langen Kette von Zucker-Resten um einige Glieder kann zwar ohne ablesbare Drehungsänderung vor sich gehen, beim Übergang eines ringgeschlossenen Trisaccharids oder Disaccharids in ein Glucoseanhydrid ist das aber auf Grund der wohlherprobten Gesetze der optischen Superposition auszuschließen. Eine weitergehende Diskussion der hier in unseren Vorstellungen noch klaffenden Lücke wollen wir besser bis zu einer zusammenfassenden Betrachtung der vielseitigen neuen Ergebnisse der Polysaccharid-Chemie vertagen.

### Beschreibung der Versuche<sup>16)</sup>.

Als Glykogen diente ein aus Miesmuscheln hergestelltes Präparat von Merck. Es wurde durch mehrfaches Lösen in Wasser und Fällen mit Alkohol gereinigt und zeigte dann die richtige Drehung von +194° in Wasser.

$$[\alpha]_D^{20} = +0.58^\circ \times 5/0.0299 \times 0.5 = +194^\circ \text{ (in Wasser)}^{17).$$

Das Acetat gewannen wir, wie früher beschrieben, durch Acetylieren mit einem Pyridin-Essigsäureanhydrid-Gemisch — auf 1 Tl. Glykogen 4 ccm Essigsäureanhydrid und 6 ccm Pyridin — durch langes, z. B. 65-stdg., Erhitzen auf 65°. Es zeigte den richtigen Acetyl-Gehalt und die Drehung von +177.9° bzw. +175.5° in Chloroform. Um dem Glykogenacetat die nötige Löslichkeit in Chloroform zu geben, erhitzten wir es 20 Min. mit der 20-fachen Menge siedenden Naphthalins in einem Rundkolben mit Rückflußkühler im Ölbad. Die noch siedende Flüssigkeit wurde in eine Porzellanschale gegossen und nach dem Erkalten im Mörser zu einem feinen Pulver zerrieben. Dann zogen wir das Naphthalin im Soxhlet-Apparat durch Petroläther aus und stellten nun eine 4-proz. Chloroform-Lösung her, die wir durch Kochen mit Carboraffin entfärbten, wobei die Kohle oft in

<sup>12)</sup> H. Pringsheim und J. Fellner, A. **462**, 231 [1928]; H. Pringsheim und J. Reilly, B. **61**, 2018 [1928].

<sup>13)</sup> K. Hess und R. Stahn, A. **455**, 106 [1927]; M. Bergmann und E. Knehe, A. **458**, 93 [1927].

<sup>14)</sup> vergl. z. B. Ztschr. angew. Chem. **41**, 112 [1928].

<sup>15)</sup> A. **460**, 288 [1928].

<sup>16)</sup> An einigen vorbereitenden Versuchen hat sich Hr. Prof. Dr. B. B. Dey vom Presidency College, Madras, Indien, beteiligt.

<sup>17)</sup> vergl. K. Hess und R. Stahn, A. **455**, 118 [1927].

eine kolloidale Lösung ging, die nur durch Zentrifugieren weiterzuverarbeiten war.

Seine Viscosität, mit der des unabgebauten Acetats in 1-proz. Lösung in Acetylen-tetrachlorid verglichen, gab bei 30° die Durchlaufzeiten: unabgebautes Acetat 22.9'', abgebautes Acetat 22.8'' im Ostwaldschen Viscosimeter. Da die Durchlaufzeit des Acetylen-tetrachlorids allein 20.3'' betrug, war die relative Viscosität in beiden Fällen 1.12. Der Abbau war also durch die Viscosität nicht erkennbar.

#### Glykoesan-acetat.

Für den Abbau mit Benzol-sulfonsäure wurde das Glykogen-acetat in Chloroform zu 4% gelöst und 0.2 Vol.-% über Phosphor-pentoxyd bei 14 mm Druck und 78° getrocknete Benzol-sulfonsäure hinzugefügt. Diese Lösung wurde 24 Stdn. (Präparat A) bzw. 72 Stdn. (Präparat B) in einem Rundkolben unter Rückfluß zum Sieden erhitzt, worauf wir die Benzol-sulfonsäure durch Schütteln mit Bicarbonat-Lösung entfernten, die Chloroform-Lösung trockneten, mit Tierkohle reinigten, auf ein kleines Volumen eindampften und das Glykoesan-acetat mit Äther fällten.

A. 0.1006 g Sbst. verbrauchten 8.02 ccm  $n_{10}$ -NaOH, entspr. 34.3%  $\text{CH}_3\text{CO}$ .  
 B. 0.0762 g „ „ 4.40 „ „ „ „ 24.8%  $\text{CH}_3\text{CO}$ .

#### Glykoesan.

Die Verseifung der Acetate geschah in der üblichen Weise mit alkohol. Kalilauge (Präparat A<sub>1</sub> und B<sub>1</sub>) oder durch Schütteln des Acetats mit einem Überschuß von Barythydrat-Lösung („zur Analyse“) in einer Porzellanflasche und Entfernen des Baryts durch quantitative Fällung mit Schwefelsäure (Präparat A<sub>2</sub>). Die Präparate selbst wurden dann aus konzentrierter wäßriger Lösung mit Alkohol gefällt und vor dem Trocknen im Vakuum über Phosphor-pentoxyd bei 78° durch wiederholtes Behandeln mit Alkohol und schließlich mit Äther entwässert. Sonst tritt Verhornung ein, und es werden keine klar wasser-löslichen Produkte erhalten. Die Ausbeute bei A<sub>1</sub> betrug 64% d. Th. Ganz weiß werden die Pulver nach der Baryt-Verseifung; sie waren asche-frei, lösten sich in Wasser ohne Opalescenz und gaben mit Jod-Jodkalium-Lösung die charakteristische Braunfärbung des Glykogens in derselben Intensität.

A<sub>1</sub>) 3.615 mg Sbst.: 5.856 mg CO<sub>2</sub>, 2.074 mg H<sub>2</sub>O.

$\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$ . Ber. C 44.44, H 6.17. Gef. C 44.80, H 6.42.

A<sub>2</sub>) 3.860 mg Sbst.: 6.269 mg CO<sub>2</sub>, 2.170 mg H<sub>2</sub>O.

Gef. C 44.29, H 6.29.

A<sub>1</sub>)  $[\alpha]_D^{20} = +0.45^0 \times 5/0.0232 \times 0.5 = +193.9^0$  (in Wasser),

B<sub>1</sub>)  $[\alpha]_D^{20} = +0.70^0 \times 5/0.0373 \times 0.5 = +187.7^0$  („ „ „),

A<sub>2</sub>)  $[\alpha]_D^{20} = +0.67^0 \times 5/0.0345 \times 0.5 = +194.2^0$  („ „ „).

Die etwas geringere Drehung von B<sub>1</sub> deutet auf Beginn der Umlagerung zum Trihexosan nach der langen Kochdauer hin.

#### Kryoskopie

A<sub>1</sub>: 0.0729, 0.1206 g Sbst. in 15 g Wasser:  $\Delta = 0.019^0$ , 0.033<sup>0</sup>, Mol.-Gew. 473, 450.

B<sub>1</sub>: 0.0696 g Sbst. in 15 g Wasser:  $\Delta = 0.018^0$ , Mol.-Gew. 476.

A<sub>2</sub>: 0.1012 g Sbst. in 15 g Wasser:  $\Delta = 0.023^0$ , Mol.-Gew. 452.

Für  $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_3$  ber. Mol.-Gew. 486.

## Ebullioskopie:

$A_2$ : 0.1612 g Sbst. in 21 g Wasser:  $\Delta = 0.037^\circ$ , Mol.-Gew.  $\infty$ .

## Ferment-Versuche.

Als Ferment verwandten wir eine Pankreas-Amylase, die nach der Methode von Willstätter<sup>18)</sup> aus gehärtetem Schweine-Pankreas von Hrn. Dr. Bondi<sup>19)</sup> isoliert und von der Lipase und dem Trypsin getrennt worden war. Für die Versuche kam sie auf das 5-fache mit Wasser verdünnt zur Anwendung.

Es wurden 100 mg Glykogen (Lösung 1) resp. 100 mg Glykogen (Lösung 2) in 50 ccm Wasser gelöst und zusammengestellt: 10 ccm Lösung 1 oder 2, 5 ccm Phosphat-Puffer  $p_H = 6.8$ , 1 ccm 0.2-n. Kochsalz-Lösung, 5 ccm Pankreas-Amylase (1:5). Die Temperatur betrug während der Spaltung  $37^\circ$ .

Zur Titration gelangten je 10 ccm der Lösungen mit 9.42 mg Substrat.

1. Glykogen:			2. Glykogen:	
nach Stunden	mg Cu	Spaltung in % Maltose	mg Cu	Spaltung in % Maltose
24	6.99	62.0	6.99	62.0
72	7.97	71.6	8.35	74.8

## Versuche unter Zusatz von Hefe-Komplement.

10 ccm Lösung 1 und 2, 4 ccm Phosphat-Puffer  $p_H = 6.8$ , 4 ccm Pankreas-Amylase (1:5), 1 ccm 0.2-n. Kochsalz-Lösung, 1 ccm Hefe-Komplement.

Zur Titration wurden je 10 ccm mit 10 mg Substrat verwandt.

1. Glykogen:			2. Glykogen:	
nach Stunden	mg Cu	Spaltung in % Maltose	mg Cu	Spaltung in % Maltose
48	10.90	94.0	10.7	91.7

## Kinetik der Ferment-Spaltungen.

Für die Versuche kam die Pankreas-Amylase in 10-facher Verdünnung zur Verwendung.

10 ccm Lösung 1 oder 2, 4 ccm Pankreas-Amylase (1:10), 1 ccm 0.2-n. Kochsalz-Lösung, 5 ccm Phosphat-Puffer  $p_H = 6.8$ . Zur Titration wurden je 2 ccm dieser Mischung verwandt und die Zucker-Titration nach Bertrand in der von Michaelis<sup>20)</sup> modifizierten Mikromethode zur Ausführung gebracht.

1. Glykogen:			2. Glykogen:	
Zeit	mg Cu	Spaltung in % Maltose	mg Cu	Spaltung in % Maltose
3'	0.74	32.2	0.71	31.0
1 Stde.	0.90	39.6	0.86	37.8
2 $\frac{1}{2}$ Stdn.	1.11	47.1	1.14	48.6
5 "	1.18	50.5	1.23	52.7
8 "	1.28	55.2	1.35	57.6

<sup>18)</sup> R. Willstätter, E. Waldschmidt-Leitz und A. Hesse, Ztschr. physiol. Chem. **126**, 143 [1923].

<sup>19)</sup> vergl. H. Pringsheim, J. Bondi und E. Thilo, Biochem. Ztschr. **197**, 143 [1928].

<sup>20)</sup> L. Michaelis, Biochem. Ztschr. **59**, 166 [1914].

Glykolytischer Abbau<sup>21)</sup>.

Die Prüfung wurde nach der in der Biochem. Ztschr. 178, 395 [1926] beschriebenen Methode (kohlehydrat-freier, enzym-haltiger Muskel-Extrakt; Milchsäure-Bildung manometrisch nach Warburg bestimmt) ausgeführt, und zwar unter Bedingungen, in denen nur zugesetzte Polysaccharide, aber nicht Hexosen Milchsäure bilden. Erhalten wurde pro 1 ccm etwa 4-fach verd. Froschmuskel-Extrakts und 1 Stde. bei 20°:

1. Kontrolle (ohne Zusatz): 4 ccm CO<sub>2</sub> = 0.016 mg Milchsäure,
2. Zusatz von 0.2 % Glykogen: 124 ccm CO<sub>2</sub> = 0.50 mg Milchsäure,
3. „ „ 0.2 % abgebaut. Glykogen: 150 ccm CO<sub>2</sub> = 0.60 mg Milchsäure,
4. „ „ 0.75 % „ „ : 201 „ „ = 0.80 „ „

Auf den Unterschied der Größen in 2) und 3) ist kein besonderes Gewicht zu legen, zumal der Umfang der Veresterung nicht bestimmt ist und geringe Verunreinigungen in dem benutzten Glykogen-Präparat (Mytilus-Glykogen von Merck, mit Alkohol mehrmals umgefällt) schon eine schwächere Wirkung auf die Milchsäure-Bildung haben können. Auch im Zeitverlauf (Umsatzgröße pro 15 Min.) stimmte das Glykogen mit dem Verhalten des Glykogens überein.

## Glykogen-acetat.

Zur Reacetylierung mit dem Pyridin-Essigsäure-anhydrid-Gemisch wurde Präparat A<sub>1</sub> benutzt, das bedeutend rascher als Glykogen bei 65° in Lösung ging.

3.294 mg Sbst.: 6.051 mg CO<sub>2</sub>, 1.734 mg H<sub>2</sub>O.

C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>O<sub>8</sub>. Ber. C 50.0, H 5.6. Gef. C 50.10, H 5.89.

0.1140 g Sbst. verbrauchten 11.80 ccm n/10-NaOH, entspr. 44.5 % CH<sub>3</sub>.CO.

$[\alpha]_D^{20} = +1.23^{\circ} \times 5/0.0352 \times 1 = +174.7^{\circ}$  (Chloroform).

$[\alpha]_D^{20} = +1.70^{\circ} \times 5/0.0541 \times 1 = +157^{\circ}$  (Pyridin).

## Kryoskopie in 15.75 g Eisessig.

Sbst. g	Konzentrat.	$\Delta$	Mol.-Gew.
0.0506	0.32 %	0.040 <sup>0</sup>	313
0.0480	0.30 %	0.037 <sup>0</sup>	321
0.1044	0.66 %	0.055 <sup>0</sup>	470
0.1092	0.69 %	0.050 <sup>0</sup>	540

Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft danken wir ganz ergebenst für ihre Unterstützung.

<sup>21)</sup> Die Versuche wurden von Hrn. Prof. Dr. O. Meyerhof ausgeführt, dem wir auch obige Angaben verdanken. Wir sprechen Hrn. Prof. Meyerhof unseren besten Dank für sein großes Entgegenkommen aus.