

Kolloidteilchen oder der Ähnlichkeit der Brechungskoeffizienten von Teilchen und Dispersionsmittel unter der mit unserem Apparat beobachteten Grenze, die wir durch eine empfindlichere Einrichtung zu verschieben hoffen. Auch bei konzentrierteren Lösungen mancher Kolloide, z. B. der Cellulose-ester, ist zur Zeit die Ablesung noch unscharf. Eine ausführlichere Mitteilung erfolgt an anderer Stelle.

76. R. O. Herzog und W. Reich: Das Verhalten von Polysacchariden in Lösungen, I.: Die Lösung von Glykogen in Resorcin.

(Eingegangen am 14. Januar 1929.)

Es wurde gefunden, daß einige Polysaccharide, wie Glykogen, Amylose, Lichenin, Inulin, in manchen Phenolen, z. B. in Resorcin, löslich sind und zwar je nach Art der Substanz und des Phenols kolloid oder kristalloid. Wir beabsichtigen, die Natur dieser und einiger anderer Lösungen und die Einwirkung des Auflösungs Vorganges auf das Polysaccharid zu untersuchen. Die vorliegende Studie betrifft Beobachtungen an Glykogen.

Glykogen, in Wasser gelöst, liefert bekanntlich opalescente Lösungen, die einen kräftigen Tyndall-Kegel zeigen. In Resorcin von 120° eingebracht, löst es sich sehr schnell. Diese Lösung zeigt keinen Tyndall-Effekt. Auch mit Hilfe der Halbschatten-Apparatur von B. Lange¹⁾, die den Depolarisationsgrad des Tyndall-Lichtes zu ermitteln gestattet, wurde ein negatives Ergebnis erhalten. Dies führt zu dem Schluß, daß Glykogen in Resorcin nicht kolloid, sondern molekular gelöst ist. Dem entspricht auch das Resultat der Teilchengröße-(T.-G.-)Bestimmung²⁾ in diesem Medium, es wurde eine T.-G. von ca. $[C_6H_{10}O_5]_4$ ermittelt³⁾.

Wird aus der Lösung des Glykogens in Resorcin das letztere mit Alkohol herausgelöst, das zurückgebliebene Glykogen durch mehrfaches Umlösen und Fällen mit Alkohol, hierauf durch Elektrodialyse gereinigt und im Vakuum (0.1 mm Hg) bei 78° über Phosphorpentoxyd getrocknet, so findet man 95% des angewandten Glykogens wieder. Dieses — aus der Resorcin-Lösung regenerierte — Glykogen läßt sich in keiner Weise von dem ursprünglichen Produkt unterscheiden.

In Wasser gelöst, zeigt es den Tyndall-Kegel wie die Lösung des ursprünglichen Polysaccharides. Der Depolarisationsgrad⁴⁾ des Tyndalls ist bei beiden kolloiden Lösungen der gleiche. Ebenso wenig unterscheiden sich die beiden Präparate chemisch. Beide reduzieren Fehlingsche Lösung nicht, sie geben die typische Braunfärbung mit Jod, die beim Erwärmen verschwindet, beim Abkühlen wiederkehrt. Durch Diastase wird das ursprüngliche und das regenerierte Präparat mit der gleichen Geschwindigkeit gespalten.

1) Ztschr. physikal. Chem. **132**, 1 [1928].

2) Unter T.-G. bezeichnen wir das Ergebnis der kryoskopischen Bestimmung, ohne uns, jedenfalls zunächst, auf die Nomenklatur-Frage einzulassen.

3) Wir möchten uns vorerst auf den Absolutwert (4) nicht festlegen. Mit der Nachprüfung auf anderem Wege sind wir beschäftigt.

4) vergl. die voranstehende Mitteilung.

Durch die Auflösung in Resorcin ist also entweder keine strukturelle Veränderung des Glykogens eingetreten, oder, wenn dies der Fall war, ist sie durch den Rückgewinnungsprozeß rückgängig gemacht worden. Bevor wir das Versuchs-Ergebnis eingehender diskutieren, soll die Methodik weiter verfeinert und ihre Anwendung auf weitere Polysaccharide ausgedehnt werden.

Beschreibung der Versuche.

Präparate.

Zur Darstellung des reinen Glykogens wurden ein Vorkriegs-Handelspräparat (Kahlbaum) [Präparat Nr. I] und ein aus tierischer Leber hergestelltes Präparat [Präparat Nr. II] als Ausgangsmaterial genommen⁵⁾.

Das Präparat wurde nach Pflügers Vorschrift mit Kaliumhydroxyd-Lösung behandelt, mit Alkohol gefällt und abzentrifugiert, hierauf 10-mal aus wäßriger Lösung mit Alkohol gefällt, neuerlich in Wasser gelöst und der Elektrodialyse unterworfen, mit Alkohol gefällt und weitere 5 Male aus wäßriger Lösung umgefällt, ein 2. Mal elektrodialysiert und schließlich mit Alkohol ausgefällt. Die Trocknung geschah bei 0.1 mm Druck und 78° über Phosphorpentoxyd. Die Präparate wurden in völlig trockenem Zustand zu den Versuchen verwandt. Sie sind schneeweiß, reduzieren Fehlingsche Lösung auch beim Erwärmen und tagelangem Stehen nicht und geben die für das Glykogen typische Braunfärbung mit Jod.

Präparat Nr. I: 0.003928 g Sbst.: 0.006373 g CO₂, 0.002175 g H₂O.

C₆H₁₀O₅. Ber. C 44.45, H 6.17. Gef. C 44.25, H 6.15.

Asche-Bestimmung: 0.1325 g Sbst.: 0.0002 g Asche = 0.15 %.

Polarisation: 0.1292 g Sbst. in Wasser, zu 25 ccm aufgelöst, 0.5-dm-Rohr:

$$[\alpha]_D^{21} = +0.53^{\circ} \times 100/0.5 \times 4 \times 0.1292 = +205.2^{\circ}.$$

Präparat Nr. II: 0.004215 g Sbst.: 0.006850 g CO₂, 0.002349 g H₂O.

C₆H₁₀O₅. Ber. C 44.45, H 6.17. Gef. C 44.32, H 6.19.

Asche-Bestimmung: 0.1702 g Sbst.: 0.0006 g Asche = 0.35 %.

Polarisation: 0.1686 g Sbst. in Wasser zu 25 ccm aufgelöst, im 0.5-dm-Rohr:

$$[\alpha]_D^{22} = +0.70^{\circ} \times 100/0.5 \times 4 \times 0.1686 = +207.6^{\circ}.$$

Tyndall-Depolarisation.

Geschmolzenes Resorcin wurde mit Hilfe eines kleinen elektrischen Öfchens auf 120° erwärmt und die Temperatur innerhalb 5° konstant gehalten. Hierbei wurde im Halbschatten-Apparat⁶⁾ ein Winkel von 29.5° abgelesen. Hierauf wurde trocknes Glykogen in mehreren Portionen eingetragen, wobei sich der abgelesene Winkel innerhalb der Fehlergrenzen der Methode — hier ca. $\pm 0.5^{\circ}$ — gegenüber der Ableseung bei reinem Lösungsmittel nicht änderte.

T.-G.-Bestimmungen.

0.3541 g Glykogen (Präp. Nr. II), in 46.35 g trockenem, reinem Resorcin bei 120° gelöst: $\Delta = 0.076^{\circ}$;

$$T.-G. = 100 \times 0.3541/0.076 \times 46.35 \times 65 = 653 \text{ (für } [C_6H_{10}O_5]_4 \text{ ber. T.-G. = 648).}$$

⁵⁾ Wir danken Hrn. Prof. Cremer für das uns freundlichst zur Verfügung gestellte Präparat auch an dieser Stelle bestens!

⁶⁾ vgl. die voranstehende Mitteilung.

Nach Zusatz von weiteren 0.2621 g in Lösung Glykogen 0.6162 g: $\Delta = 0.136^{\circ}$;
 T.-G. = $100 \times 0.6162 / 0.136 \times 46.35 \times 65 = 635$;
 0.6025 g Glykogen (Präp. Nr. I), in 58.25 g Resorcin gelöst: $\Delta = 0.117^{\circ}$;
 T.-G. = $100 \times 0.6025 / 0.117 \times 58.25 \times 65 = 588$.

Zurückgewinnung des in Resorcin gelösten Glykogens.

Das Resorcin wird von dem Glykogen durch Extraktion mit Alkohol abgetrennt. Das Glykogen wird dann, wie oben beschrieben, durch mehrfaches Umlösen aus Wasser und Elektrodialyse gereinigt. Ausbeute = 95%. Das zurückgewonnene Produkt wird in seinen chemischen und physikalischen Eigenschaften, wie durch den Vergleich des fermentativen Abbaues mit dem durch Resorcin nicht behandelten reinen Glykogen verglichen.

Analyse des zurückgewonnenen Glykogens.

Das Präparat (II) ist schneeweiß, reduziert Fehlingsche Lösung auch beim Erwärmen und tagelangen Stehen nicht, und gibt die typische Braunfärbung mit Jod.

0.005138 g Sbst.: 0.008375 g CO₂, 0.002914 g H₂O.

C₆H₁₀O₅. Ber. C 44.45, H 6.17. Gef. C 44.46, H 6.32.

Asche-Bestimmung: 0.1015 g Sbst.: 0.0004 g Asche = 0.39%.

Polarisation: 0.1242 g Sbst., in Wasser zu 25 ccm aufgelöst, im 0.5-dm-Rohr:

$$[\alpha]_D^{25} = +0.51^{\circ} \times 100 / 0.5 \times 4 \times 0.1242 = +205.3^{\circ}.$$

$[\alpha]_D$ ist also innerhalb der Fehlergrenzen identisch mit dem Wert, der bei den unbehandelten Präparaten erhalten wurde.

Tyndall-Depolarisation.

1-proz. wäßrige Lösungen wurden untersucht:

	α
Unbehandeltes Glykogen	7.8
Zurückgewonnenes Glykogen	7.5

Der Depolarisationswinkel ist innerhalb der Fehlergrenzen der Bestimmung (hier ca. $\pm 0.3^{\circ}$) der gleiche.

Ferment-Spaltung.

Die Untersuchung erfolgte in zwei verschiedenen Versuchsreihen mit verschiedener Methodik.

A. Optische Verfolgung der Spaltung.

Präparat Nr. II: 0.2546 g Glykogen (unbehandelt) wurden zu 25 ccm in H₂O aufgelöst. Davon wurden 20 ccm abpipetiert (= 0.20368 g) und mit 10 ccm einer 8-proz. Diastase-Lösung (Kahlbaum) versetzt. — Präparat Nr. IIa: 0.2535 g Glykogen (zurückgewonnen) wurden wie bei Präparat II behandelt. — Die Spaltung wurde in einem 0.5-dm-Rohr polarimetrisch bei konstanter Temperatur von 27.2° verfolgt.

Die Spaltungs-Geschwindigkeit ist bei beiden Präparaten innerhalb der Ablesungsfehler der Polarisationsmessung identisch.

Zeit in Min.	Umsatz	
	unbehandelt. Glykogen	zurückgewonn. Glykogen
20	41 %	38 %
40	51 %	50 %
70	61 %	60 %
130	71 %	70 %
24 Stdn.	100 %	100 %

Da die Drehungswinkel sehr klein sind, die Methode also unempfindlich ist, wurde bei einer zweiten Versuchsreihe ein chemisch-analytischer Weg gewählt.

B. Verfolgung der Spaltung durch Bestimmung des Rest-Glykogens.

Zu der Glykogen-Lösung bestimmter Konzentration wird eine bestimmte Menge Diastase-Lösung zugesetzt und das Gemenge bei 37° im Brutschrank stehen gelassen. Nach einer bestimmten Zeit wird eine genau abgemessene Menge der Lösung abgenommen, Alkali zugesetzt und die restliche Menge des Glykogens nach Pflüger und Bang⁷⁾ quantitativ isoliert.

Zur Bestimmung des so gewonnenen Glykogens wird es mit HCl zu Traubenzucker hydrolysiert und dieser nach der Titrationsmethode von Bertrand⁸⁾ bestimmt.

1. Zuerst wurde die Methode durch die Bestimmung des Glykogens mit Zugabe von einer in ihrer Ferment-Wirkung abgetöteten Diastase-Lösung geprüft.

0.7273 g Glykogen (Präp. Nr. II) werden zu 50 ccm aufgelöst, dann 25 ccm der getöteten Ferment-Lösung hinzugegeben, davon 25 ccm abpipetiert und mit so viel wäßriger KOH-Lösung versetzt, daß das gesamte Volumen 150 ccm beträgt und die Mischung einen Gehalt von 30 % KOH hat. Die Lösung wird dann weiter behandelt, wie oben angegeben ist. Nachdem das Glykogen zu Traubenzucker aufgespalten ist, wird die Lösung auf 200 ccm aufgefüllt, und davon 50 ccm zur Titration vorgelegt.

Verbraucht 11.74 ccm KMnO_4 -Lösung = $11.74 \times 10.03 = 117.75$ mg Cu = 63 mg Glucose = $63 \times 0.927 = 58.40$ mg Glykogen.

Daraus errechnet sich, daß 96.3% des verwandten Glykogens nach der Behandlung wiedergefunden wurden.

2. Dann wurde ein Leerversuch mit Diastase ohne Zugabe von Glykogen gemacht. Beim Ausfällen der KOH-Lösung mit Alkohol fällt kein Niederschlag.

3. Gleiche Mengen der beiden Glykogen-Präparate (Präp. II, unbehandelt und Präp. IIa, zurückgewonnen) wurden in Parallelversuchen der Spaltung durch gleiche Mengen des Fermentes unterworfen. Der Verlauf der Spaltung wird durch die quantitative Bestimmung des restlichen Glykogens nach 30 Min., dann 60 Min. und 24 Stdn. bestimmt.

	Versuchsdauer Min.	Abpipetiert. Vol.-Menge ccm	Ges. Trauben- zucker aufgelöst zu ccm	Zur Tira- tion vor- gelegt ccm	Verbraucht KMnO_4 - Lösung ccm	Gesamt- menge des gefundenen Glykogens mg	zurück- geblieben Glykogen %
Präp. Nr. II	30	25	200	50	3.10	57.2	23.5
„ „ IIa	30	25	200	50	2.80	51.92	20.7
„ „ II	60	25	100	50	3.50	32.6	13.5
„ „ IIa	60	25	100	50	3.60	33.0	13.6
„ „ II	24 Stdn.	20	100	50	1.60	14.4	7.4
„ „ IIa	24 „	20	100	50	2.0	18.54	9.5

⁷⁾ I. Bang, Festschrift für Hammersten, Wiesbaden 1906.

⁸⁾ G. Bertrand, Die quantitative Bestimmung der reduzierenden Zuckerarten, Bull. Soc. chim. Paris [3] 35, 1285 [1906].

Präparat Nr. II: 0.7275 g Sbst. wurden in Wasser zu 50 ccm aufgelöst, und mit 25 ccm der 10-proz. Ferment-Lösung versetzt. — Präparat Nr. IIa: 0.7270 g Sbst. wie bei Präparat Nr. II aufgelöst.

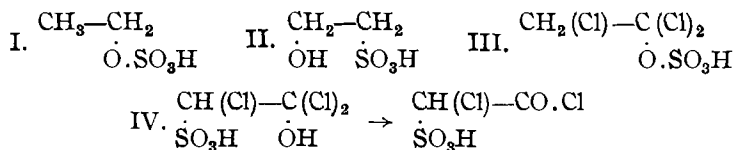
Die in der letzten Kolumne je mit einer Klammer verbundenen Werte zeigen, daß die Spaltung des ursprünglichen (Präp. II) und des aus der Resorcin-Lösung regenerierten (Präp. IIa) Glykogens innerhalb der Fehlergrenzen mit gleicher Geschwindigkeit erfolgt.

77. P. Lipp und Maria Holl: Studie zum Additionsproblem an einem Fall aus der Camphen-Reihe.

[Aus d. Organ.-chem. Laborat. d. Techn. Hochschule Aachen¹⁾.]

(Eingegangen am 18. Januar 1929.)

Bekanntlich ist man über die Gesetzmäßigkeiten, welche die Additionsvorgänge an Äthylen-Lücken beherrschen, noch recht unvollständig unterrichtet. Die wesentlichsten Faktoren, welche bei solchen Reaktionen eine Rolle spielen, dürften zunächst die chemische Polarität²⁾ der Äthylen-Kohlenstoffatome und des Addenden bzw. dessen Dissoziationszustand sein, dann die Additions geschwindigkeit, welche bei den beiden ungesättigten Kohlenstoffen durchaus nicht gleich groß zu sein braucht³⁾, und endlich die räumlichen Verhältnisse, die an den Additionsstellen durch verschiedenartige Substitution der Äthylen-Kohlenstoffe zustande kommen. Bei einem systematischen Studium der fraglichen Erscheinungen nach diesen Gesichtspunkten wird man natürlich ein Übereinanderlagern der genannten drei Faktoren durch Wahl möglichst einfacher Verhältnisse zu vermeiden suchen. Beschränkt man sich zunächst auf die Addition von Sauerstoff-Säuren an Äthylen-Lücken, so fällt hier auf, daß sich diese zum Teil in zwei Formen, wir wollen sie Ionen-Form und Radikal-Form nennen, zu addieren vermögen; die Schwefelsäure z. B. lagert sich als „Monohydrat“ an Äthylen unter Bildung von Äthyl-schwefelsäure (I), als „Oleum“ aber unter primärer Bildung von Isäthionsäure (II) an. Analoge Verhältnisse sind beim Trichlor-äthylen gefunden worden⁴⁾, das mit konz. Schwefelsäure primär die Verbindung III, mit Oleum dagegen IV liefert. Auch die Essigsäure zeigt Anzeichen der doppelten Additionsform: unter dem Einfluß



¹⁾ vergl. Vortrags-Handbuch der 90. Versammlung der Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Ärzte, Hamburg 1928, S. 20 und M. Holl: Über die Addition von Schwefeltrioxyd und von Acylhalogeniden an Camphen, Dissertat., Aachen 1928. Vorläufige Mitteilung P. Lipp und Küppers, B. 60, 1578, Anm. 10 [1927].

²⁾ vergl. z. B. Weitz, Ztschr. Elektrochem. 34, 539 [1928].

³⁾ vergl. z. B. P. Lipp, Journ. prakt. Chem. [2] 105, 50 [1922].

⁴⁾ Simon und Chavanne, Compt. rend. Acad. Sciences 176, 742 [1923]; C. 1923, III 1212.