

Ueber die specifische Drehung des Glykogens.

Von

Huppert.

Aus dem medicinisch-chemischen Laboratorium der k. k. deutschen Universität in Prag.)
(Der Redaction zugegangen am 29. Mai 1893.)

Wenn eine optisch active Substanz ein optisch actives Inversionsproduct liefert und die specifische Drehung des Products, sowie diejenige Menge des Products bekannt sind, welche die Substanz bei der Inversion liefert, so lässt sich die specifische Drehung der dem Versuch unterworfenen Substanz ohne Wägung derselben ermitteln.

Wo die Bedingungen zur Ausführung dieses Verfahrens gegeben sind, bietet es den Vortheil, dass man sich mit der Reindarstellung der Substanz nur bis zur Entfernung aller fremden optisch activen Substanz oder solcher, welche die Drehung überhaupt störend beeinflusst, zu befassen hat. Das Trocknen der Substanz entfällt ganz. Die absolute Reindarstellung der Substanz und das völlige Trocknen, wie sie die Bestimmung der spec. Drehung durch Wägung erfordert, sind aber oft schwer zu erreichen und die specifische Drehung wird dann leicht unsicher. Ein weiterer nicht gering zu veranschlagender Vortheil ist der, dass man, wie ich zeigen werde, mit viel weniger Substanz auskommen kann, als zur Bestimmung der specifischen Drehung durch Wägung nöthig ist.

Dieses Verfahren lässt sich sehr wohl auf die Bestimmung der specifischen Drehung des Glykogens anwenden. Die spec. Drehung des Inversionsproducts aus dem Glykogen, des Traubenzuckers, ist mit Sicherheit bekannt; für schwache Concentrationen, genauer für 1 gr. in 100 ccm., ist $[\alpha]_D = 52.5^\circ$,

die Zusammensetzung des Glykogens darf zu $6 \text{ C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5 + \text{H}_2\text{O}$ angenommen werden, und damit ist die Menge des Traubenzuckers gegeben, welche bei der Inversion aus dem Glykogen entsteht; es liefern dann 11 Theile Glykogen 12 Theile Traubenzucker.

Die für das Glykogen angenommene Formel $6 \text{ C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5 + \text{H}_2\text{O}$ bedarf noch der Begründung.

Zunächst ist die Annahme eines Moleküls Wasser in der Verbindung keine willkürliche, wie man glauben könnte. Geht man von der begründeten Voraussetzung aus, dass bei der Aneinanderlagerung je zweier Hexosen immer ein Molekül Wasser austritt, so kommt den zusammengesetzten Kohlenhydraten die allgemeine Formel $n\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 - (n-1)\text{H}_2\text{O}$ zu, welche sich auflösen lässt in $n\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5 + \text{H}_2\text{O}$. Diese Formel ist also ein einfacherer rechnermässiger Ausdruck für die complicirtere, den Sachverhalt unmittelbar darstellende.

Die Formel $6 \text{ C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5, \text{H}_2\text{O}$ verlangt 43,64 % C und 6,26 % H. Kütz und Borntraeger¹⁾ fanden bei der Analyse eines nach Brücke dargestellten sehr reinen Leberglykogens, das bei 100° getrocknet war, im Mittel aus 6 Bestimmungen 43,61 % C und 6,45 % H; S. Fränkel²⁾ im Mittel aus 3 Bestimmungen 43,66 % C und 6,38 % H bei der Verbrennung von Glykogen, das mittelst Trichloressigsäure dargestellt und bei 110° getrocknet war. Ich selbst habe in einem gleichfalls aus Leber dargestellten und bei 110° getrockneten Glykogen 43,62 % C und 6,25 % H gefunden. Die aufgestellte Formel darf also als die richtige betrachtet werden³⁾.

Nach Boehm und Hoffmann⁴⁾ kommt dem bei 110° getrockneten Glykogen aber die Formel $11 \text{ C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5, \text{H}_2\text{O}$, mit 40,00 % C und 6,27 % H zu. Kütz und Borntraeger dagegen bestimmten in demselben Präparat, welches zu den angeführten Analysen gedient hatte, nach dem Trocknen bei 110° im Mittel aus 4 Verbrennungen 43,87 % C und 6,39 % H. Aus diesem Ergebniss und aus den oben angeführten, von Fränkel und von mir ermittelten Zahlen folgt also, dass das Trocknen bei höherer Temperatur allein die Zusammensetzung des Glykogens nicht verändert. Wohl aber dürfte unnöthig langes Trocknen hierauf von Einfluss sein. Fein

¹⁾ E. Kütz und A. Borntraeger, Pflüger's Archiv, Bd. 24, S. 26, 1881.

²⁾ S. Fränkel, Pflüger's Archiv, Bd. 52, S. 128, 1892.

³⁾ Die Formel $5 \text{ C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5 + \text{H}_2\text{O}$ verlangt 43,48 % C und 6,28 % H, die Formel $7 \text{ C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5 + \text{H}_2\text{O}$ 43,76 % C und 6,24 % H. — Sabanejew (Zeitschr. f. physikal. Ch., Bd. 5, S. 192) schreibt dem Glykogen auf Grund der Gefrierpunktsbestimmung die Formel $10 \text{ C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$ zu.

⁴⁾ R. Boehm und F. A. Hoffmann, Archiv f. exper. Pathol., Bd. 10, S. 14, 1879.

gepulvertes Glykogen erreicht bei 110° schon in einem einzigen Tag constantes Gewicht, während bei krümligem Glykogen das Trocknen eine Reihe von Tagen in Anspruch nimmt; die oberflächlichen Schichten werden dabei eine weitergehende Zersetzung erleiden, während die inneren noch hygroskopisches Wasser enthalten.

Aus den oben angeführten Daten lässt sich die spec. Drehung des Glykogens in folgender Weise berechnen. Ist α der beobachtete Drehungswinkel der Glykogenlösung, α' der beobachtete Drehungswinkel des entstandenen Traubenzuckers bei derselben Rohrlänge und ohne Aenderung der Concentration, so ist für das Glykogen

$$[\alpha]_D = \frac{\alpha \cdot 12}{\alpha' \cdot 11} 52,5$$

Die Berechnung ist im Grunde dieselbe wie die aus der durch Wägen bestimmten Concentration der Glykogenlösung; nur ermittelt man hier die Concentration der Glykogenlösung aus der durch Polarisation bestimmten Menge des gebildeten Zuckers. Hat die beobachtete Drehung des gebildeten Zuckers den Winkel α' betragen, so enthält die Zuckerlösung in 100 cchem. $\frac{100 \alpha'}{52,5}$ gr.; das entsprechende Gewicht des Glykogens

ist $\frac{11}{12}$ mal so gross, als das Gewicht des Zuckers, also $\frac{100 \alpha'}{52,5} \cdot \frac{11}{12}$ gr. Aus dieser Glykogenmenge und dem beobachteten Drehungswinkel der Glykogenlösung lässt sich dann die spec. Drehung des Glykogens wie gewöhnlich berechnen. Ist dieser Winkel α , so beträgt die spec. Drehung des Glykogens $\frac{100 \alpha \cdot 12 \cdot 52,5}{100 \alpha' \cdot 11}$, d. i. gleich dem oben angeführten Werthe.

Auf diese Weise habe ich die Bestimmung der spec. Drehung des Glykogens vorgenommen. Ob diese nöthig gewesen ist, kann fraglich erscheinen, da schon mehrere solche Bestimmungen vorhanden sind. Allein diese Bestimmungen lassen über die wahre Grösse im Unsicheren, auch wenn man nur solche Bestimmungen in Betracht zieht, die mit reinem Material und besseren Hilfsmitteln ausgeführt wurden. Es fanden Boehm und Hoffmann¹⁾ im Mittel aus 7 Bestimmungen $[\alpha]_D = 226,7^\circ$, mit Schwankungen zwischen 212,8 und 238,0°, E. Külz²⁾ im Mittel aus 14 Bestimmungen $[\alpha]_D = 211^\circ$ mit

¹⁾ Boehm u. Hoffmann, Arch. f. exper. Pathol., Bd. 7, S. 492, 1877.

²⁾ E. Külz, Pflüger's Archiv, Bd. 24, S. 88.

den Grenzwerten 203,5 und 225,6, Landwehr¹⁾ $[\alpha]_D = 213,3^\circ$, Fränkel²⁾ im Mittel aus 4 Bestimmungen $[\alpha]_D = 197,9^\circ$. Cramer³⁾ ermittelte in drei Einzelbestimmungen $[\alpha]_D$ zu 200,2^o (195,0 — 205,1^o). Mittelst dieser spec. Drehung wurde von ihm selbst, sowie von drei anderen Beobachtern fast stets weniger Glykogen bestimmt als durch Wägung; der für die spec. Drehung angenommene Werth war also zu gross. Rechnet man nach den Mittelwerthen der durch Wägung gefundenen Zahlen die spec. Drehung um, so ergibt sich nach den Bestimmungen von Cramer $[\alpha]_D = 184,5^\circ$, nach denen der drei anderen Beobachter $[\alpha]_D = 188,5^\circ$.

Um alle diese Werthe unter einander vergleichen zu können, sind die Bestimmungen nach $[\alpha]_j$ umzurechnen nach $[\alpha]_D$. Da das Verhältniss zwischen beiden Grössen kein constantes, sondern von der Art der drehenden Substanz und noch von anderen Umständen abhängig ist⁴⁾, so lässt sich von der Rechnung kein sicheres Resultat erwarten. Legt man jedoch der Umrechnung das von Broch für Quarz ermittelte Verhältniss von $\alpha_D = 0,8845 \alpha_j$ zu Grunde, so ergibt sich die spec. Drehung des Glykogens nach der Bestimmung von Boehm und Hoffmann zu $[\alpha]_D = 200,5^\circ$, von Külz $[\alpha]_D = 186,6^{o5}$.

Die angeführten sieben Werthe der spec. Drehung des Glykogens weichen um 28,8^o von einander ab; und wenn man die höchste Zahl, 213,3^o, weglässt, immer noch um 16,0^o. Es ist daher der Wunsch begreiflich, wenn es sich, wie mir, um die Identificirung eines Kohlenhydrates mit Glykogen handelt, aus eigener Anschauung Genaueres über die spec. Drehung des Glykogens zu erfahren. Wenigstens bot sich mir dann der Vortheil dar, dass ich mit ungefähr gleichen Fehlern behaftete Werthe unter einander verglich.

¹⁾ H. A. Landwehr, diese Zeitschr., Bd. 8, S. 170, 1883/84.

²⁾ S. Fränkel, a. a. O. S. 130.

³⁾ A. Cramer, Zeitschr. f. Biologie, Bd. 24, S. 100, 1888.

⁴⁾ Vergl. Landolt, das optische Drehungsvermögen, 1879, S. 43; Neubauer, Analyse des Harns, 9. Aufl., S. 411.

⁵⁾ H. T. Brown und G. H. Morris (Ann. d. Ch., Bd. 199, S. 179) setzen für Kohlenhydrate $\alpha_D = 0,8975 \alpha_j$; darnach betrügen die obigen Werthe 203,5 und 189,7^o.

Aus diesem Grunde habe ich die spec. Drehung des Glykogens aufs Neue bestimmt und mich dazu des geschilderten Verfahrens bedient.

Das dazu verwendete Glykogen war aus Hundeleber dargestellt. Es war sehr rein und enthielt nur Spuren Asche. Dasselbe Präparat diente zu der oben angeführten Analyse. Das Glykogen wurde in concentrirter Lösung im 1 Dmtr.-Rohr polarisirt. Der Drehungswinkel betrug bei den verschiedenen Lösungen $0,575 - 0,92^\circ$; die trübe Beschaffenheit der Glykogenlösung setzt der Concentration diese Grenze. Die Drehung der Zuckerlösung wurde im 2 Dmtr.-Rohr ermittelt.

Zur Verzuckerung wurde die Glykogenlösung auf 100 ccm. mit 5 und mit 10 ccm. 8fach verdünnter Schwefelsäure, oder mit 10 und 15 ccm. Salzsäure von 1,12 Dichte versetzt. Die Mischungen enthielten somit 1,1 und 2,1 % H_2SO_4 und 2,5 und 3,6 % HCl . Die Glykogenlösungen und die Säuren wurden mit Normalbüretten zusammengemessen. Selbstverständlich wurde bei der Berechnung der spec. Drehung auf die Verdünnung der Glykogenlösung durch die Säuren und auf die Rohrlängen Rücksicht genommen.

Man kann ohne Aenderung des Resultats auch so verfahren, dass man die Glykogenlösung erst nach Zusatz der Säure polarisirt; die Inversion des Glykogens erfolgt in der Kälte so langsam, dass sie die Bestimmung des Drehungswinkels nicht beeinflusst.

Um die Concentration der Lösungen während des Erhitzens unverändert zu erhalten, wurden die Lösungen in Glasrohre eingeschmolzen. Erhitzt wurde im siedenden Wasserbad. Die Lösung mit 1,1 % Schwefelsäure hatte das Maximum der Drehung nach 12 St. noch nicht erreicht, aber nach 18 St., die Lösung mit 2,1 % Schwefelsäure nach 6 St. noch nicht, aber nach 12 St., während in den mit Salzsäure versetzten Lösungen das Glykogen schon nach 3 St. vollständig in Zucker übergeführt war. Nur zeigte die Lösung mit 15 ccm. Salzsäure auf 100 ccm. einen Stich ins Gelbe, während die mit nur 10 ccm. Salzsäure farblos geblieben war. Dass die Salzsäure auf die Glieder der Stärkegruppe schneller einwirkt als andere Säuren, ist schon von Sachsse¹⁾ hervorgehoben worden; es ist das verständlich, da die Salzsäure (neben der Salpetersäure) unter den Säuren die relativ stärkste ist.

Zu bemerken ist noch, dass die Gegenwart der Säuren in der angegebenen Concentration keinen merkbaren Einfluss auf die spec. Drehung des Zuckers hat.

Wenn eine Glykogenlösung im 1 Dmtr.-Rohr zwischen $0,92$ und $0,575^\circ$ dreht, wie die zum Versuch gebrauchten, so macht ein Fehler in der Bestimmung des Drehungswinkels von nur $0,005^\circ$ einen Fehler in der spec. Drehung von rund $1-3^\circ$ aus. Es wurde daher auf die Drehungs-

¹⁾ Sachsse, Chem. Centralbl. 1877, S. 733.

bestimmung besondere Sorgfalt verwendet. Zur Polarisation diente ein Polarimeter nach Lippich von Rothe in Prag, an welchem sich 0,005° noch ablesen, und die Hälfte noch schätzen liess. Zur Ausgleichung der Beobachtungsfehler wurde immer eine grössere Anzahl von Ablesungen vorgenommen.

Eine Glykogenlösung von der verwendeten Concentration enthält in 100 ccm. 0,3–0,47 gr. Glykogen. Da man zum Füllen des Dmtr.-Rohres, auch wenn es weit ist, recht wohl mit 20 ccm. Lösung auskommen kann, so reicht zur Bestimmung der spec. Drehung des Glykogens 0,06–0,10 gr. Substanz aus, ein Vortheil, der nicht zu unterschätzen ist.

Nach diesem Verfahren hat sich die spezifische Drehung des Glykogens in 5 Versuchen ergeben zu

$$[\alpha]_D = 195,61, 196,25, 196,68, 197,17 \text{ und } 197,45^\circ,$$

das Mittel beträgt $196,63^{0.1}$.

Da das Erythrodextrin dem Glykogen so ausserordentlich ähnlich ist, so schien es mir in diagnostischer Hinsicht von Interesse, die spec. Drehung des Erythrodextrins nach derselben Methode zu bestimmen, nach welcher die des Glykogens ermittelt worden war. Brown und Morris²⁾ haben die Zusammensetzung des dem Erythrodextrin nahestehenden Amylodextrin nach der Raoult'schen Methode zu $14 C_6H_{10}O_5 + H_2O$ gefunden. Es wäre demnach zu erwarten gewesen, wenn man die spec. Drehung des Erythrodextrins unter der Voraussetzung bestimmte, es habe die für das Glykogen angenommene Zusammensetzung $6 C_6H_{10}O_5 + H_2O$, dass der für $[\alpha]_D$ berechnete Werth deutlich verschieden wäre von dem beim Glykogen gefundenen. Die Rechnung ergibt für das Amylodextrin $[\alpha]_D = 198,67^\circ$.

Das zu dem Versuch dienende Erythrodextrin war durch Malz aus Stärke dargestellt und färbte sich mit Jod gerade so weinroth, wie Glykogen. Eine Lösung desselben wurde mit 0,1 Vol. Salzsäure von 1,12 Dichte versetzt und im ge-

¹⁾ Das Mittel aus den auf S. 139 und 140 angeführten sieben Bestimmungen von $[\alpha]_D$ beträgt mit meiner Umrechnung von α , $195,9^\circ$, mit der Umrechnung nach Brown und Morris $196,8$.

²⁾ Brown und Morris, Chem. Centrallbl. 1889, Bd. II, S. 123.

geschlossenen Rohr 3 St. in siedendem Wasser gelassen. Vor dem Erhitzen betrug $2 \alpha_D = 2,11^\circ$, nach demselben $2 \alpha_D = 0,615^\circ$, woraus sich unter der gemachten Voraussetzung $[\alpha]_D = 196,50^\circ$ ergibt. Dieser Werth liegt dem für das Glykogen zu $196,63^\circ$ gefundenen so nahe, dass beide für identisch angesehen werden können. Es lässt sich also auch polarimetrisch das Erythro-dextrin nicht vom Glykogen unterscheiden.

Um für diesen Zweck etwa noch einen Anhaltspunkt zu gewinnen, habe ich noch das Färbungsvermögen des Jod für diese zwei Kohlenhydrate in Betracht gezogen. Wenn beide durch Jod auch die gleiche Färbung annehmen, so wäre immer noch möglich gewesen, dass die dazu erforderlichen Jodmengen verschieden seien. Bei dem Versuch stellte sich aber heraus, dass Lösungen der beiden Stoffe von gleichem Drehungsvermögen, als man von ihnen gleiche Volumina mit gleichen Mengen verdünnter Jodlösung versetzte, in gleich dicker Schicht genau dieselbe Färbung darboten, so dass sie durchaus nicht von einander zu unterscheiden waren.

Auch die Spectren dieser Lösungen waren identisch. Es war eine von Gelb nach dem violetten Ende fortschreitende Verdunkelung des Spectrums wahrnehmbar. Auch Brücke¹⁾ hat im Spectrum des Jodglykogens keine Streifen, sondern nur eine allgemeine Absorption beobachtet. Das Spectrum ist gleich dem einer Jodjodkaliumlösung.

Für die Unterscheidung des Glykogens vom Erythro-dextrin gibt also nach wie vor die Opalescenz der Glykogenlösung und die physikalische Beschaffenheit der festen Substanzen den Ausschlag.

¹⁾ Brücke. Sitzungsber. der k. Akad. der Wissensch., II. Abth., Bd. 63, S. 216, 1871.