

Über eine neue Glukosaminverbindung, zugleich ein Beitrag zur Konstitutionsfrage des Chitins.

Von

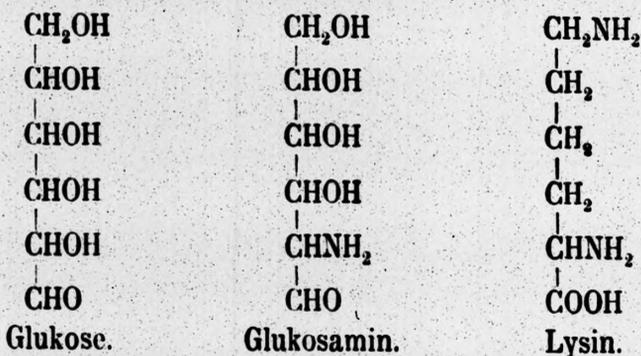
Yashirō Kotake und Yoshita Sera.

Mit zwei Tafeln.

(Aus der medizinisch-chemischen Abteilung der Med. Akademie zu Ōsaka.)

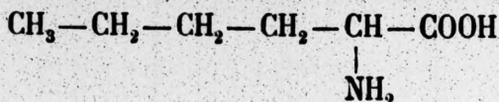
(Der Redaktion zugegangen am 20. September 1913.)

Das Glukosamin, welches von Ledderhose entdeckt wurde, kommt in der Natur sehr verbreitet vor, und zwar nicht als solches, sondern als Bestandteil komplizierterer Verbindungen. Das Glukosamin ist dadurch besonders von großem Interesse, daß es gewissermaßen eine Brücke zwischen einfachen Zuckerarten und Aminosäuren darstellt, wie es schon aus den folgenden Strukturformeln ersichtlich ist¹⁾:



Es scheint nicht unmöglich, daß, wenn Glukosaminmoleküle zu zweien, dreien oder mehreren auf irgend eine Weise ver-

¹⁾ Vor kurzem berichtete Abderhalden und Weil (Diese Zeitschrift, Bd. 84, S. 39, 1913), daß unter den hydrolytischen Spaltungsprodukten der Proteine aus Nervensubstanz eine neue Aminosäure vorkommt, der die Formel $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_2$ zukommt. Nach Untersuchung genannter Autoren soll es fast sicher sein, daß diese Aminosäure α -Aminocaprinsäure



ist, so daß wir hier wieder eine dem Glukosamin sehr nahe stehende Aminosäure vor uns haben.

einigt sind, solche Verbindungen gebildet werden, die gewissermaßen zwischen Di- oder Polysacchariden einerseits und Polypeptiden anderseits stehen.

Bekanntlich ist die Biuretreaktion insofern bedeutungsvoll, als dieselbe zur Abgrenzung von Eiweiß gegen seine einfacheren Spaltungsprodukte benutzt wird. Unter den Reaktionen der Polysaccharide ist bekannterweise die Jodreaktion die wichtigste.

Unter den Glukosaminverbindungen geben Chitin und dessen Spaltungsprodukt Chitosan die Jodreaktion — das letztere erst in Gegenwart von Chlorzink —, was die nächste Verwandtschaft genannter Substanzen zu den Polysacchariden kundgibt. Sie geben aber keine Biuretreaktion.

Bei den chemischen Untersuchungen von einer Art Lykoperdon haben wir eine Substanz gefunden, welche aus Glukosaminmolekülen aufgebaut ist und eine schöne Biuretreaktion, Jodreaktion (unter Mitwirkung von Chlorzink) und Reduktionsprobe gibt, sie ist ebensogut wie Eiweißkörper durch Alkaloidreagentien fällbar, so daß unsere Substanz den Reaktionen nach etwa eine Stellung zwischen Polypeptiden und Di- oder Polysacchariden einnehmen könnte.

Das Vorkommen einer Glukosaminverbindung in den Pilzarten ist durch die Arbeiten von Gilson,¹⁾ Winterstein,²⁾ Wisselingh,³⁾ Wester⁴⁾ u. a. schon lange bekannt. Eine Glukosaminverbindung, welche von Gilson durch Kalischmelzung der Gerüstsubstanz gewisser Pilzarten oder des daraus gestellten Chitins erhalten und Mykosin benannt wurde, soll mit dem Chitosan identisch sein, was schon Prof. Araki⁵⁾ hervorhob.

Das Lykoperdon (*Lycoperdon gemmatum* Batsch?), welches bei uns zur Herbstzeit in Kiefernwäldern an der Küste wächst, enthält reichlich organisch gebundenen Stickstoff, aber Eiweiß ist nicht nachweisbar. Wenn die Pilzsubstanz mit einer starken Mineralsäure gespalten wird, so wird in reichlicher Menge eine

¹⁾ Gilson, La Cellule, T. 11, p. 5, und Chem. Ber., Bd. 28, S. 821.

²⁾ Winterstein, Chem. Ber., Bd. 27, S. 3113.

³⁾ Wisselingh, Zeitschr. f. wissensch. Bot., Bd. 31, S. 619.

⁴⁾ Wester, Archiv f. Pharm., Bd. 247, S. 282.

⁵⁾ Araki, Diese Zeitschrift, Bd. 20, S. 498.

Substanz gebildet, welche eine intensive Reduktionsprobe gibt, und sie besteht nach unserer Untersuchung hauptsächlich aus Glukosamin. In welcher Verkettung ist nun das Glukosamin im Lykoperdon enthalten? Bei der Bearbeitung dieser Frage kamen wir zur Entdeckung der vorerwähnten neuen Glukosamin-Verbindung.

Die Krystallform der Salze unserer Substanz ist derjenigen der Chitosansalze, welche zuerst von Fürth und Russo⁶⁾ krystallinisch erhalten wurden, sehr ähnlich; doch läßt sich unsere Verbindung vom Chitosan leicht dadurch unterscheiden, daß sie eine Reduktionsprobe und Biuretreaktion gibt.

Wir machten zunächst folgende Beobachtung. Als wir einige Lykoperdon, welche lange in der sandigen Erde gesteckt haben, mit einer verdünnten Salzsäure extrahierten, das Extrakt eindampften, blieb eine sirupöse braunefärbte Substanz zurück, dieselbe war stickstoffhaltig und gab Reduktionsprobe, zeigte aber — in verdünnter Lösung — keine nennenswerte Drehung.

Um diese Substanz in einer größeren Menge zu gewinnen, wurden ca. 500 kg des Pilzes gesammelt, wofür wir Herrn K. Taguchi zu Dank verpflichtet sind. Bei diesen Versuchen konnten wir aber merkwürdigerweise im salzsauren Auszug keine reduktionsfähige Substanz nachweisen. Da wir es für möglich erachteten, daß die genannte Substanz im Pilzleib irgend einem Zersetzungsprozeß ihren Ursprung verdankt, haben wir einige Spaltungsversuche angestellt. Wir konnten zuletzt aus der Spaltungsflüssigkeit, welche aus dem Pilzstaub durch ziemlich konzentrierte Schwefelsäure bereitet war, wieder eine Substanz isolieren, welche die obigen Eigenschaften besitzt. Wir möchten für diese Substanz den Namen «Lykoperdin (α und β)» vorschlagen.

I. Darstellung des α -Lykoperdins.

Die ausgewachsenen, braunefärbten Lykoperdon-Exemplare wurden an der Luft getrocknet und mit Hilfe von einer Fleischmaschine staubfein gepulvert. Das Pilzpulver — 700 bis 800 g — wurde in einer großen Reibschale durch Zusatz

¹⁾ Fürth und Russo, Hofmeisters Beitr., Bd. 8, S. 163.

von konzentrirter Schwefelsäure — 570 ccm H_2SO_4 (95%) — zu einem dicken Teig angerieben, dann 3430 ccm Wasser hinzugefügt, gut umgerührt, in zwei geräumige Kolben verteilt und am Rückflußkühler 6 Stunden lang im Sieden erhalten, indem der Kolben besonders im Beginn (lebhaftes Schäumen!) vorsichtig oftmals umgeschüttelt wurde. Nach dem Erkalten wurde die Spaltungsflüssigkeit, in welcher eine dunkelgefärbte Substanz reichlich ungelöst zurückblieb und welche nach Karamel roch, filtriert und mit Wasser ausgewaschen. Filtrat und Waschwasser wurden vereinigt und mit Wasser verdünnt, bis zu einem Gehalt von 5%iger Schwefelsäure; darauf, mit zirka 10%iger Phosphorwolframsäure vorsichtig versetzt, wobei eine flockige Fällung eintrat. Die mit 5%iger Schwefelsäure einfach durch wiederholte Dekantierung gewaschene Fällung wurde abgesaugt, mit verdünnter Schwefelsäure angerieben, wieder abgesaugt, und der so wiederholt gereinigte Niederschlag mit Barytwasser umgesetzt, filtriert und mit Schwefelsäure bis zur schwach sauren Reaktion versetzt. Die vom Baryumsulfat abfiltrierte Lösung haben wir mit wenig Tierkohle entfärbt und sorgfältig auf dem Wasserbade eingedampft, bis die Gesamtmenge ungefähr 30—50 ccm betrug und die Oberfläche der Flüssigkeit mit einer dünnen Haut bedeckt war; dann wurde sie an einem kühlen Orte 24 Stunden stehen gelassen.

Das dabei abgeschiedene Sulfat (α -Salz) zeigte unter dem Mikroskop einheitliche Krystalle von einer charakteristischen Form, die derjenigen des von Fürth und Russo angegebenen Chitosanchlorhydrates ähnlich war (Photogr. I).

Die Krystalle wurden in einem kleinen Saugtrichter abgesaugt, sorgfältig mit kaltem Wasser gewaschen, wieder in heißem Wasser gelöst, nochmals mit wenig Tierkohle entfärbt und in der Kälte stehen gelassen.

Das wieder abgeschiedene farblose Sulfat wurde in wenig heißem Wasser gelöst und noch heiß mit sehr verdünnter Natronlauge versetzt; dabei schied sich α -Lykoperdin ab, welches unter dem Mikroskop aus stark lichtbrechenden Körnchen¹⁾ bestand

¹⁾ Bei einer passenden Ausscheidung haben wir manchmal größere Körnchen, welche unter dem Mikroskop radial gestreift erscheinen, erhalten.

(Photogr. 2). Es wurde abgesaugt, gründlich mit Wasser, dann mit absolutem Alkohol gewaschen und getrocknet. Die Ausbeute betrug ca. 0,7 g.

Durch Wiederholung der Prozedur haben wir im ganzen ca. 50 g des α -Lykoperdins gewonnen.

II. Analysen und Molekulargewichtsbestimmung des α -Lykoperdins.

Zur Analyse haben wir das Sulfat und die freie Substanz angewandt, welche wie folgt getrocknet waren:

Die Substanzen wurden in einem Kölbchen mit Glasstöpsel eine Woche unter absolutem Alkohol unter zweimaliger Erneuerung desselben und dann im Vakuumexsikkator bis zum konstanten Gewicht stehen gelassen.

Die Analysen ergaben folgende Zahlen:

0,2750 g des Sulfates lieferten 0,3502 g CO_2 und 0,1490 g H_2O .

C = 34,72%, H = 6,02%.

0,2206 g des Sulfates gaben 0,2816 g CO_2 und 0,1198 g H_2O .

C = 34,81%, H = 6,04%.

0,1830 g des Sulfates verbrauchten nach Kjeldahl 7,80 ccm n_{10} -Schwefelsäure: N = 6,00%.

0,1528 g des Sulfates verbrauchten 6,80 ccm n_{10} -Schwefelsäure.

N = 6,23%.

0,2436 g des Sulfates gaben 0,1290 g BaSO_4 . H_2SO_4 = 22,25%.

0,1600 „ „ „ „ 0,0830 „ „ „ = 21,80%.

Es wurden gefunden:

	1	2	3	4	5	6	Mittel %	Berechnet für ($\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_9$) H_2SO_4
C . .	34,74	34,81	—	—	—	—	34,78	34,67
H . .	6,02	6,04	—	—	—	—	6,03	5,78
N . .	—	—	6,00	6,23	—	—	6,12	6,22
H_2SO_4	—	—	—	—	22,25	21,80	22,03	21,78

0,2020 g Lykoperdin gaben 0,3300 g CO_2 und 0,1298 g H_2O :

C = 44,55%, H = 7,20%.

0,1212 g Lykoperdin verbrauchten nach Kjeldahl 6,0 ccm n_{10} -Schwefelsäure.

N = 7,96%.

Gefunden:

C 44,55

H 7,20

N 7,96

Berechnet für $\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_9$:

44,32%

6,82%

7,95%

Außerdem haben wir einmal im Chlorhydrat, welches aus dem freien Lykoperdin hergestellt war, eine Chlorbestimmung gemacht.

0,1625 g Substanz gaben 0,1098 g AgCl.

Gefunden: Berechnet für $(C_{13}H_{24}N_2O_9)_2HCl$:

Cl = 16,72% Cl = 16,71%

Da das Chlorhydrat unter den verschiedenen Salzen am besten in Wasser löslich ist, haben wir dieses zum Zweck der Molekulargewichtsbestimmung des α -Lykoperdins angewandt. Die Bestimmung wurde nach der Gefriermethode von Beckmann ausgeführt unter Anwendung von Wasser als Lösungsmittel.

Wasser	Substanz	Δ	Gef. Mol.-Gew.	Berechnet für $(C_{13}H_{24}N_2O_9)_2HCl$:
12,3178 g	0,7920 g	0,29	421,9	425

III. Eigenschaften und Verbindungen des α -Lykoperdins.

Das freie α -Lykoperdin ist in Wasser unlöslich und fällt aus einer wässrigen Lösung seiner Salze in gelinder Wärme beim Alkalizusatz in den schon erwähnten charakteristischen Körnchen aus. Die Verbindungen, welche das α -Lykoperdin mit Salzsäure, Bromwasserstoffsäure und Phosphorsäure bilden, krystallisieren isomorph mit dem Sulfat. Die Salze sind meistens leicht löslich in Wasser.

Das α -Lykoperdin ist linksdrehend und zeigt Birotation. Die Bestimmung der spezifischen Drehung gab folgende Zahlen.

0,9037 g Substanz in 17,06 g $n/2$ -Salzsäure gelöst, drehten sofort im 2 dm-Rohr das Natriumlicht $-0,71^\circ$, nach 2½ Stunden $-0,56^\circ$.

Mithin $[\alpha]_D = -6,70^\circ$ und $[\alpha]_D = -5,28^\circ$.

0,8239 g Substanz in 17,03 g $n/2$ -Salzsäure gelöst, drehten sofort beim Natriumlicht im 2 dm-Rohr $-0,63^\circ$, am andern Tage $-0,50^\circ$.

Mithin $[\alpha]_D = -6,52^\circ$ und $[\alpha]_D = -5,16^\circ$.

Das α -Lykoperdin zeigt keinen Schmelzpunkt: Es färbt sich im Kapillarröhrchen von etwa $130^\circ C.$ an schwach gelbbraunlich, gegen $240^\circ C.$ ganz dunkel.

Das α -Lykoperdin wird durch Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdänsäure, Pikrinsäure und Gerbsäure gefällt. Es läßt sich leicht benzoylieren oder acetylieren; die Anzahl

von Benzoyl- oder Acetylresten, die ein Molekül Lykoperdin aufnimmt, ist unter den bei der Reaktion angewandten Bedingungen verschieden. Wahrscheinlich stellen aber die bisher gewonnenen Benzoyl- oder Acetylprodukte alle nur ein Gemisch der verschieden acetylierten Produkte dar.

Das α -Lykoperdin zeichnet sich durch folgende Reaktionen aus.

1. Biuretreaktion.

Eine wässrige Lösung der Lykoperdinsalze zeigt beim Zusatz von Natronlauge und verdünnter Kupfersulfatlösung ohne Erwärmen eine schöne Violettfärbung.

2. Reduktionsprobe.

Eine wässrige Lösung der Lykoperdinsalze reduziert beim Erwärmen Fehlingsche Lösung. Die Reduktionskraft wurde nach der Bertrandschen Methode bestimmt.

a) 0,1089 g α -Lykoperdin wurden in Wasser mittels verdünnter Salzsäure gelöst und genau nach der Vorschrift von Bertrand behandelt mit dem Resultate, daß die Reduktionskraft 13,5 mg Traubenzucker gleich kommt.

b) 0,1356 g α -Lykoperdin wurde in Wasser mittels Salzsäure gelöst, nach Bertrand behandelt und dabei gefunden, daß die Reduktionskraft 17,5 mg Traubenzucker entspricht.

Demnach entspricht die Reduktionskraft des α -Lykoperdins ca. $\frac{1}{8}$ derjenigen des Traubenzuckers.

3. Jodreaktion.

Eine wässrige Lösung von Lykoperdinsalzen wird von Jodjodkalium beim Zusatz von Chlorzink schön rotviolett gefärbt; die Farbe verschwindet beim Erwärmen, kommt aber beim Erkalten wieder zum Vorschein.

Das Lykoperdin bildet mit Phenylhydrazin kein Osazon.

IV. Spaltung des α -Lykoperdins.

Das α -Lykoperdin wird durch konzentrierte Mineralsäuren gespalten. Zu den Spaltungsversuchen haben wir meistens nach Fürth und Russo konzentrierte Salzsäure und Zinnchlorür an-

gewandt. Die Flüssigkeit färbte sich dabei dunkel und nur eine kleine Huminsubstanz schied sich aus; die vom Zinn durch Schwefelwasserstoff befreite Lösung war aber völlig farblos.

1 g α -Lykoperdin wurde in 50 ccm konzentrierter Salzsäure getan unter Zuführung von 1 g Zinnchlorür und in kleinem Kolben am Rückflußkühler 1 Stunde und 30 Minuten gekocht. Die Reaktionsflüssigkeit wurde mit Wasser verdünnt und durch Schwefelwasserstoff vom Zinn befreit. Das Filtrat hinterließ beim vorsichtigen Verdampfen eine krystallinische Substanz (ca. 0,7 g), welche Fehlingsche Lösung schon in der Kälte zu reduzieren vermag; sie gab Phenylhydrazinprobe (Schmelzpunkt des gebildeten nadelförmigen Osazons: 204—205° C.) und zeigte eine starke Rechtsdrehung.

0,5215 g Substanz in 13,1000 g Wasser gelöst, drehten im 1 dm-Rohr das Natriumlicht 2,81° nach rechts.

$$\text{Demnach } [\alpha]_D = + 70,6^\circ.$$

Sie wurde weiter durch folgende Analyse als Glukosaminchlorhydrat identifiziert.

0,1206 g Substanz verbrauchten nach Kjeldahl 5,8 ccm n_{10} -Schwefelsäure.

Gefunden:	Berechnet für $C_6H_{13}NO_3HCl$:
N = 6,75%	N = 6,50%

0,1395 g Substanz gaben 0,0926 g AgCl.

Gefunden:	Berechnet für $C_6H_{13}NO_3HCl$:
Cl = 16,42%	Cl = 16,45%

Um zu entscheiden, ob das Lykoperdin bei der Säurespaltung neben dem Glukosamin irgend eine flüchtige Fettsäure liefert, haben wir nach Prof. Araki folgenden Versuch angestellt.

3,2050 g α -Lykoperdin wurden in einem zugeschmolzenen Rohr mit 30 ccm konzentrierter Salzsäure 4 Stunden lang auf 110° C. erhitzt. Der Inhalt, welcher braunschwarz gefärbt war und etwas Huminsubstanz gebildet hatte, wurde mit Wasser verdünnt und 6 Stunden lang einer Wasserdampfdestillation unterworfen. Das Destillat wurde in Barytwasser aufgefangen und von dem überschüssigen Baryt durch Kohlensäure befreit, auf dem Wasserbade eingedampft und nochmals filtriert. Aus

dem Filtrat wurde die Salzsäure entfernt und zuletzt wurden 0,5146 g schön krystallisierten Baryumsalzes gewonnen, das durch seine Reaktionen und die folgende Analyse als Ameisensaures Baryum erkannt wurde.

0,2247 g Substanz gaben 0,2282 g BaSO₄.

Gefunden: Berechnet für (CHO₂)₂Ba:

Ba = 60,21%

Ba = 60,42%

Um das Glukosamin, das bei der Spaltung des α-Lykoperdins gebildet ist, quantitativ zu bestimmen, haben wir nach den Angaben von Fürth und Russo¹⁾ und Löwy²⁾ folgendermaßen verfahren.

1. 0,4803 g Substanz wurden mit 10 ccm konzentrierter Salzsäure unter Zusatz von 1 g Zinnchlorür 2 Stunden lang am Rückflußkühler im Glycerinbad bei 110—120° C. zum gelinden Sieden erhitzt. Die entstandene dunkel gefärbte Lösung — wir konnten dabei die Bildung einer kleinen Menge Huminsubstanz nicht völlig verhindern — wurde mit Wasser verdünnt, durch Schwefelwasserstoff vom Zinn befreit und auf dem Wasserbade eingedampft. Der dabei ausgeschiedene krystallinische Rückstand wurde wieder in Wasser gelöst und in 100 ccm-Maßkolben zur Marke gefüllt. In 20 ccm der Lösung wurden nach Bertrand 89 mg Glukosamin gefunden.

Demnach = 91,6%.

2. 0,4707 g Substanz wurden wie oben behandelt. Der zuletzt gewonnene Rückstand wurde in Wasser gelöst und in $\frac{1}{5}$ der Lösung nach Bertrand 85 mg Glukosamin gefunden.

Demnach = 90,27%.

Die Ameisensäure, die bei der Lykoperdinspaltung eintritt, wurde nach dem Verfahren von Brach³⁾, welches auf der Wenzelschen Methode beruht, bestimmt.

0,5110 g α-Lykoperdin wurden mit 10 ccm konzentrierter Salzsäure unter Zusatz von 1 g Zinnchlorür gespalten, und die in der Spaltungsflüssigkeit gebildete Ameisensäure neutralisierte 15,7 ccm $\frac{n}{10}$ -Natronlauge.

¹⁾ Fürth und Russo, l. c.

²⁾ Löwy, Biochem. Zeitschr., Bd. 23, S. 47.

³⁾ Brach, Biochem. Zeitschr., Bd. 38, S. 468.

Demnach = 14,4 %.

2. 0,4702 g α -Lykoperdin, wie oben behandelt, lieferten Ameisensäure, welche 14,5 ccm $n/10$ -Natronlauge neutralisierte.

Demnach = 14,2 %.

V. Darstellung des β -Lykoperdins.

Das Filtrat vom Sulfat des α -Lykoperdins wurde mit Wasser verdünnt, im Wasserbade auf ungefähr 60° C. erwärmt, soviel Alkohol hinzugefügt, bis die ganze Flüssigkeit sich weißlich trübte, und dann mit verdünnter Schwefelsäure versetzt, wobei die Trübung feinen mikroskopischen Nadeln Platz machte. Beim Erkalten schieden sich weiter die Krystalle, welche unter dem Mikroskop hauptsächlich aus Nadeln bestanden, in einer großen Menge ab. Sie wurden abgesaugt und wieder in heißem Wasser gelöst und 24 Stunden in der Kälte stehen gelassen, von einer dabei abgeschiedenen geringen Menge α -Lykoperdinsulfat abgesaugt, und das Filtrat wurde, wie oben, mit Alkohol und Schwefelsäure behandelt. Der dabei ausgeschiedene nadelförmige Niederschlag (Photogr. 3.) wurde abgesaugt, mit verdünntem, dann mit absolutem Alkohol und im Exsikkator getrocknet.

Aus den einzelnen Mutterlaugen des α -Lykoperdins haben wir im ganzen ca. 40 g des β -Lykoperdinsulfates gewonnen.

Das freie β -Lykoperdin wird aus der Sulfatlösung durch verdünnte Natronlauge nicht binnen kurzer Zeit ausgeschieden. Es wird aber durch den Zusatz von verdünntem Ammoniak in der Wärme schneller gefällt. Es sieht unter dem Mikroskop dem α -Lykoperdin völlig gleich aus.

VI. Analysen und Molekulargewichtsbestimmung des β -Lykoperdins.

Zur Analyse haben wir die Substanzen, wie oben erwähnt, mit absolutem Alkohol und im Vakuumexsikkator zum konstanten Gewicht getrocknet. Die Analysen ergaben folgende Zahlen.

0,1736 g des Sulfates gaben 0,2182 g CO₂ und 0,0951 g H₂O.

C = 34,27%, H = 6,09%.

0,1700 g des Sulfates lieferten 0,2152 g CO₂ und 0,0936 g H₂O.

C = 34,52%, H = 6,12%.

0,1298 g des Sulfates verbrauchten nach Kjeldahl 5,6 ccm n_{10} -Schwefelsäure. N = 6,09%.

0,1716 g des Sulfates verbrauchten nach Kjeldahl 7,6 ccm n_{10} -Schwefelsäure. N = 6,20%.

0,1605 g des Sulfates gaben 0,0838 g BaSO_4 . $\text{H}_2\text{SO}_4 = 21,94\%$.

Es wurden gefunden:

	1	2	3	4	5	Mittel %	Berechnet für $(\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_9)\text{H}_2\text{SO}_4$
C . . .	34,27	34,52	—	—	—	34,40 %	34,67 %
H . . .	6,09	6,12	—	—	—	6,11 %	6,78 %
N . . .	—	—	6,09	6,20	—	6,15 %	6,22 %
H_2SO_4 .	—	—	—	—	21,94	21,94 %	21,78 %

0,2430 g β -Lykoperdin verbrauchten nach Kjeldahl 13,8 ccm n_{10} -Schwefelsäure.

Gefunden:

N = 7,95 %

Berechnet für $\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_9$:

N = 7,95 %

Das Molekulargewicht des β -Lykoperdins wurde hier im Sulfat nach der Beckmannschen Gefriermethode bestimmt.

Wasser	Substanz	Δ	Gef. Mol.-Gew.	Berechnet für $(\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_9)\text{H}_2\text{SO}_4$
15,2100 g	0,3125 g	0,095	410,2	450

VII. Eigenschaften und Reaktionen des β -Lykoperdins.

Die Eigenschaften und Reaktionen des β -Lykoperdins sind denen des α -Lykoperdins fast gleich. Die β -Form bildet jedoch zum Unterschied mit Schwefelsäure ein in kaltem Wasser sehr leicht lösliches Salz und das Sulfat krystallisiert in Nadeln — bei einer langsameren Ausscheidung krystallisiert aber das β -Sulfat auch in einer quadratischen Form —. Das β -Sulfat drehte in ca. 3%iger Lösung eine Spur nach links.

VIII. Spaltung des β -Lykoperdins.

4,3525 g β -Lykoperdin wurden in einem zugeschmolzenen Rohr mit 30 ccm konzentrierter Salzsäure 4 Stunden lang auf 110° C. erhitzt und die gebildete flüchtige Säure wurde weiter, wie bei der Spaltung des α -Lykoperdins, durch eine 6 Stunden dauernde Wasserdampfdestillation als Baryumsalz (0,3620 g) isoliert.

0,1600 g des Baryumsalzes gaben 0,1628 g BaSO_4 .

Gefunden:	Berechnet für $(\text{CHO}_2)_2\text{Ba}$:
Ba = 59,88 %	Ba = 60,42 %

Die in dem Kolben zurückgebliebene Flüssigkeit wurde eingedampft, wobei ein krystallinischer Rückstand zurückblieb, welcher Reduktions- und Phenylhydrazinprobe gab.

0,1515 g Substanz verbrauchten nach Kjeldahl 6,9 ccm n_{10} -Schwefelsäure.

Gefunden:	Berechnet für $(\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_5)\text{HCl}$:
N = 6,37 %	N = 6,50 %

Nach unserer Erfahrung wird das β -Sulfat durch Salzsäure viel leichter als das α -Lykoperdin gespalten, deshalb haben wir hier 25%ige Salzsäure angewandt. Die gewonnenen Resultate sind im wesentlichen denjenigen, die bei den Versuchen mit dem α -Lykoperdin erhalten wurden, gleich; hier war aber die gefundene Ameisensäuremenge etwas weniger.

0,5436 g des β -Sulfates wurden mit 10 ccm 25%iger Salzsäure und 1 g Zinnchlorür 2 Stunden lang im Glycerinbade auf $125=132^\circ$ C. erhitzt, und die Menge des entstandenen Glukosamins wurde, wie schon erwähnt, durch die Reduktionskraftbestimmung nach Bertrand bestimmt. Es wurden in $\frac{1}{5}$ der hergestellten Lösung 78,5 mg gefunden.

Demnach 72,20 % oder 92,30 %, berechnet auf freie Substanz.

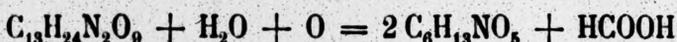
0,6394 g des β -Sulfates wurden mit 10 ccm 25%iger Salzsäure unter Zusatz von 1 g Zinnchlorür wie oben behandelt. Die dabei gebildete Ameisensäure neutralisierte nach dem schon erwähnten Verfahren 14,8 ccm n_{10} -Natronlauge. Demnach ergeben sich 10,5 % oder 13,42 %, berechnet auf freie Substanz.

IX. Konstitution des Lykoperdins.

Aus den Analysen und Molekulargewichtsbestimmungen geht hervor, daß dem Lykoperdin (α - sowie β -Form) die Formel $\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_9$ zukommt. Da das Lykoperdin bei der Hydrolyse über 90 % Glukosamin und ca. 14 % Ameisensäure liefert, steht außer Zweifel, daß in einem Molekül desselben zwei

Glukosaminkomplexe und noch eine Gruppe, welche ein Molekül Ameisensäure zu liefern vermag, vorhanden sind.

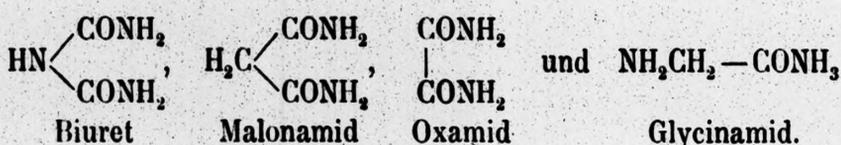
Falls die Spaltung quantitativ nach der folgenden Gleichung:



erfolgt, so muß ca. 101 % Glukosamin und ca. 13 % Ameisensäure gebildet werden. Wir haben also etwas weniger Glukosamin und etwas mehr Ameisensäure gefunden als diese berechneten; das könnte aber dadurch erklärt werden, daß bei der Spaltung eine kleine Menge Huminsubstanz gebildet wurde, und daß das Glukosamin selbst bei analoger Behandlung immer eine kleine Menge flüchtiger Säure liefert.

Unter den Reaktionen des Lykoperdins ist die Biuretreaktion besonders bemerkenswert für seine Konstitutionsermittlung.

Nach Schiff¹⁾ fällt in allen Verbindungen, in welchen die Gruppen $CONH_2$, $CSNH_2$, $C(NH)NH_2$ oder CH_2NH_2 zu zweien durch ein Kohlenstoff- oder ein Stickstoffatom oder direkt miteinander verkuppelt vorhanden sind, oder die Biuretreaktion positiv aus, also in den folgenden Typen:

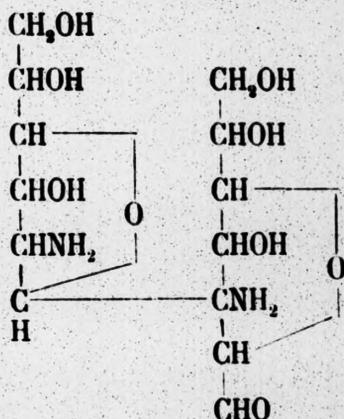


Da im Lykoperdin zwei $CHNH_2$ -Gruppen vorhanden sein können, dürfte man die Biuretreaktion desselben mit der Annahme erklären, daß diese Gruppen im Lykoperdin direkt oder nur durch ein Kohlenstoffatom verknüpft sind.

Unsere Substanz ist ein starker Salzbildner und sie bildet mit einem Molekül Schwefelsäure oder zwei Molekülen Salzsäure feste Verbindungen. Hieraus darf man wohl schließen, daß im Lykoperdin Aminogruppen frei, nicht substituiert, existieren; dafür spricht auch die Tatsache, daß die Lykoperdinsalze, wie später erwähnt, mit großer Leichtigkeit in wässriger Lösung mit Natriumnitrit durch Abspaltung von Stickstoff reagieren.

¹⁾ Schiff, Chem. Ber., Bd. 29, S. 298. — Liebigs Annalen der Chemie, Bd. 299, S. 236, und Bd. 319, S. 300.

Es wird nicht zu gewagt erscheinen, wenn wir, auf die oben und unten erwähnten Gründe hin, dem Lykoperdin folgende Konstitutionsformel zuschreiben.



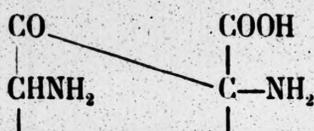
Daß das Lykoperdin ein Reduktionsvermögen besitzt, aber kein Osazon bildet, ist aus der obigen Konstitutionsformel ohne weiteres begreiflich. Ferner wurde die Existenz der Aldehydgruppe durch folgenden Versuch gestützt.

Das Sulfat des β -Lykoperdins wurde in wässriger Lösung mit der berechneten Menge Natriumnitrit versetzt, 24 Stunden stehen gelassen. Die Reaktionsflüssigkeit wurde mit Alkohol gefällt und die vom Niederschlag (Natriumsulfat) abfiltrierte Lösung auf dem Wasserbade vorsichtig eingedampft, wobei ein stickstofffreier, starke Reduktionsprobe gebender Sirup zurückblieb. Er wurde mit Wasser aufgenommen, mit Essigsäure angesäuert und unter Zufügung von Phenylhydrazinchlorhydrat und Natriumacetat im Wasserbade 50 Minuten erhitzt. Bei allmählichem Erkalten schied sich ein Osazon¹⁾ ab, welches unter dem Mikroskop aus gelben breiten Nadeln bestand (Photogr. 4). Die aus heißem Wasser gereinigten Krystalle schmolzen bei 160—162° C.

Das α -Lykoperdin gibt ebenfalls nach Einwirkung von salpetriger Säure und nachheriger Phenylhydrazinbehandlung ein Osazon, welches wir aber bisher nicht ganz rein isolieren konnten.

¹⁾ Daß das Desaminierprodukt des Lykoperdins mit Phenylhydrazin ein Osazon gibt, ist durch die Annahme erklärbar, daß die COH benachbarte Gruppe CH—O— bei der Einwirkung von salpetriger Säure oder Phenylhydrazin unter Aufnahme von H₂O in CHOH umgewandelt wird.

In unserem Formelbild sind zwei Glukosaminkomplexe durch Kohlenstoffatome direkt verbunden; damit könnte man wohl eine starke Resistenz des Lykoperdins gegen die Spaltung erklären. Das ein am C-Atom gebundenes H-Atom einer CHNH_2 -Gruppe mit einer anderen Gruppe unter Wasseraustritt in Reaktion tritt, hat nichts Befremdliches; derartige Bindungsweise hat auch Schiff¹⁾ in den Polyaspartsäuren, welche auch die Biuretreaktion geben, angenommen:



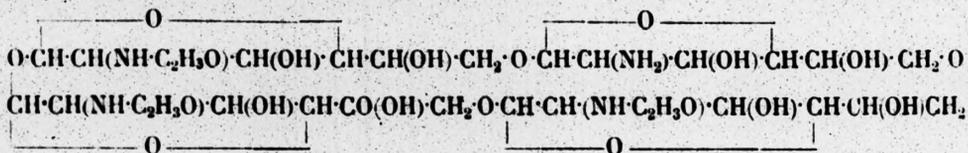
Was die Bildung von zwei Modifikationen (α - und β -Lykoperdin) betrifft, können wir vorläufig nichts Sicheres sagen. Es ist nicht ausgeschlossen, daß die β -Form bei der Spaltung durch Razemisierung aus der α -Form gebildet ist; wahrscheinlicher scheinen aber beide Formen folgenderweise durch verschiedene Lagerung von Aldehydgruppe zu entstehen:



Diesbezügliche Untersuchungen werden zurzeit vorgenommen.

X. Über die Konstitution des Chitins.

Die Konstitutionsformel des Chitins wurde einmal von Irvine²⁾ wie folgt gegeben, ohne daß sie hinreichend begründet war.



Neuerdings hat Brach³⁾ gefunden, daß im Chitin auf ein Stickstoffatom ein Essigsäurerest und ein Glukosamin vor-

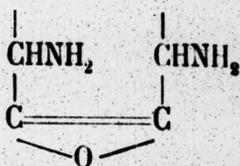
¹⁾ Schiff, Chem. Ber., Bd. 30, S. 2449.

²⁾ Irvine, Journ. Chem. Soc., Bd. 95—96, S. 564.

³⁾ Brach, l. c.

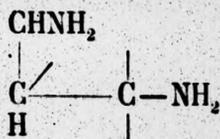
handen sind. Er bemerkt darüber folgendes: «Für die Annahme einer Anordnung der Essigsäurereste in Form von Acetessigsäure bzw. Acetylacetatessigsäureresten ergeben sich keine Anhaltungspunkte und dürfte die Annahme einer gleichmäßigen Verteilung der Essigsäurereste auf alle Stickstoffatome am einfachsten und ungezwungensten erscheinen».

Wie die Glukosaminkomplexe im Chitin verkettet sind, darüber sind wir aber bisher nicht genug unterrichtet; einmal hat Fürth und Russo¹⁾ im Chitosan folgende Bindungsweise vermutet.



Daß diese Annahme aber nicht mehr haltbar ist, wurde schon von Offer²⁾ hervorgehoben.

Die von uns gefundene Tatsache, daß das Lykoperdin und Chitosan dieselbe Jodreaktion und die Salze der beiden Substanzen sehr ähnliche charakteristische Krystallform zeigen, läßt uns vermuten, daß den beiden und auch dem Chitin ähnliche Konstitution zukommt. Man könnte sich vorstellen, daß im Chitosan oder Chitin auch eine Bindungsweise:



existiert.

Tatsächlich konnten wir wie folgt aus dem Chitin (aus Krebspanzer) durch Säurehydrolyse eine geringe Menge Substanz erhalten, welche ebensogut wie das Lykoperdin eine schöne Biuretreaktion gibt.

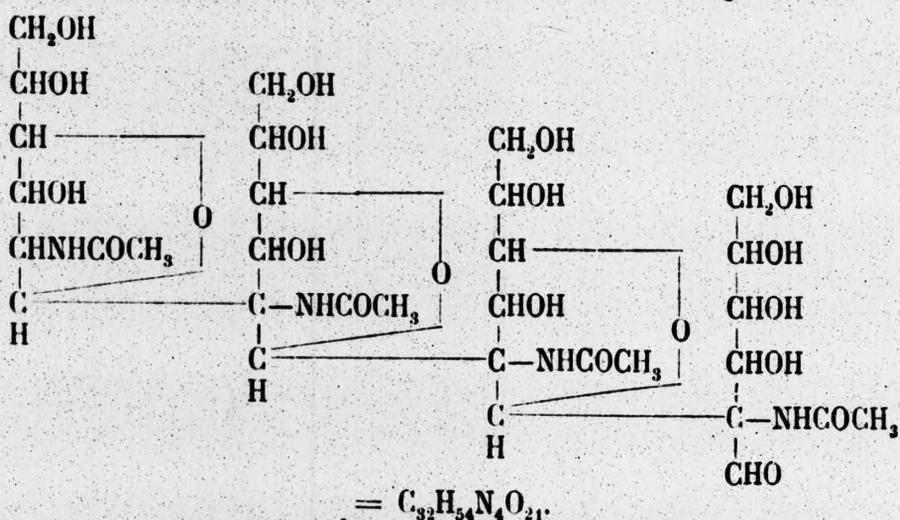
50 g Chitin wurden mit 1500 ccm 35%iger Schwefelsäure 3 Stunden lang auf dem Sandbade gekocht, wobei nur ein kleiner Teil des Chitins gelöst wurde. Die Lösung wurde auf 5%ige Schwefelsäure gebracht und mit Phosphorwolframsäure gefällt. Das vom gereinigten Phosphorwolframat üblicher-

¹⁾ Fürth und Russo, l. c.

²⁾ Offer, Biochem. Zeitschr., Bd. 7, S. 117.

weise gewonnene Sulfat krystallisierte in kugelig oder mehr oder weniger quadratisch gruppierten Nadeln. Es wurde in wenig Wasser gelöst und mit Tierkohle entfärbt. Die Lösung gab Biuret- und Reduktionsprobe, aber keine Jodreaktion.

Wenn nun 4 Glukosaminmoleküle — nach der Untersuchung von Brach muß das Chitin aus mindestens 4 Glukosaminmolekülen aufgebaut sein —, welche an jeder Amino- gruppe acetyliert sind, derart wie im Lykoperdin, miteinander verbunden sind, so lautet die Strukturformel folgendermaßen:



Diese Zusammensetzung stimmt mit der von Brach bestimmten kleinsten Formel des Chitins völlig überein.¹⁾

Die Untersuchung wird fortgesetzt.

¹⁾ Die Aldehydgruppe dient vielleicht im Chitin zu weiterer Kuppelung oder bildet möglicherweise mit einer Alkoholgruppe einen hydroxylierten Äthylenoxydkomplex.

Nach Brach ist die Formel des Chitins $(\text{C}_{32}\text{H}_{54}\text{N}_4\text{O}_{21})_x$. Wir haben auch einige Elementaranalysen mit Krebschitin ausgeführt. Die gewonnenen Zahlen stimmten ziemlich gut mit dieser Formel überein.