

(Aus d. Laborat. der I. med. Klinik. Direktor: Geh. Rath Prof. Dr. v. Leyden.)

Ueber Reindarstellung des Glykogens.

Von

Dr. **Ernst Bendix** und Dr. **Julius Wohlgemuth**,

Volontär-Assistenten der Klinik.

Bei der Darstellung des Glykogens unter genauer Innehaltung der von Pflüger verbesserten Külz'schen Methode machten wir die Beobachtung, dass das so gewonnene Glykogen die Phloroglucin- bzw. Orcin-Reaction auf Pentosen gibt. Diese Probe wurde angestellt¹⁾, indem kleine Quantitäten des Glykogens in heissem Wasser gelöst, mit einigen Körnchen Phloroglucin oder Orcin und dem gleichen Volumen rauchender Salzsäure versetzt wurden. Nach kurzem Kochen wurde mit Amylalkohol ausgeschüttelt. Der amyloalkoholische Auszug zeigte den für Pentosen als charakteristisch beschriebenen Absorptionsstreifen am Ende des Roth zwischen *C* und *D*.

Es fragte sich nun, kommt diese Reaction dem Glykogen als solchem zu oder irgend einer Beimengung des Glykogens. Die zu diesem Zwecke angestellten Untersuchungen führten uns zu folgenden Beobachtungen: Je häufiger wir das Glykogen in heissem Wasser lösten und mit Alkohol fällten, um so mehr verlor die Orcin-Salzsäurereaction an Intensität, bis sie schliesslich nach oftmaliger Lösung und Fällung des Glykogens verschwand. Wir durften also annehmen, dass dem Glykogen ein Körper anhaftet, für den diese Reaction charakteristisch ist.

Um diesen Körper, den wir für eine Pentose, bzw. für ein Pentosan hielten, genauer zu präcisiren, stellten wir aus dem nach der Pflüger-Külz'schen Methode gewonnenen Glykogen die Phenylhydrazin-Verbindung dar und zwar in folgender Weise: Durch achtstündiges Digeriren mit 5 % iger Salzsäure auf dem Wasserbade

1) Vgl. E. Salkowski, Berliner klinische Wochenschrift 1895 S. 364. — F. Blumenthal, Zeitschrift für klin. Medicin Bd. 37 Heft 5 und 6.

wurde das Glykogen invertirt, sodann mit Kalilauge unter Kühlung leicht alkalisch gemacht, mit Weinsäure wieder schwach angesäuert und sodann mit Hefe versetzt. Nach 24stündigem Stehen im Brutschranke war der grösste Theil der Glykose vergohren. Zur Entfernung der Hefe wurde die Lösung durch ein Berkefeld'sches Filter gesogen und mit dem Filtrat die Osazonbildung nach der üblichen Art vorgenommen.

Es bildeten sich zwei Osazone, die durch ihre verschiedene Löslichkeit im warmen Wasser sich trennen liessen, und zwar löste sich das eine bei 60°, während das andere beim Filtriren bei dieser Temperatur auf dem Filter zurückblieb. Der Rückstand auf dem Filter erwies sich als Hexosazon — von den unvergohrenen Glykose-resten wohl herstammend. Nach mehrmaligem Umkrystallisiren des im warmen Wasser löslichen Osazons erhielten wir aus 3,25 g Leberglykogen 0,08 g reines Osazon.

Dieses Osazon charakterisirte sich aus folgenden Eigenschaften als Pentosazon: es war im warmen Wasser leicht löslich, schmolz bei 153—155° und gab die für die Pentosazone typischen spektroskopischen Erscheinungen bei Anstellung der Orcin-Salzsäure-Reaction¹⁾. Aus diesen Eigenschaften geht auch ohne Elementaranalyse hervor, dass es sich um ein Pentosazon handelt.

Am wahrscheinlichsten scheint uns, dass diese Pentosen aus bei der Fällung gleichzeitig mit niedergerissenen Nucleoproteinen stammen: Gilt doch die Pentosengruppe im Allgemeinen als charakteristischer Bestandtheil für alle Nucleine! Im besonderen Falle gelang es uns, aus dem Nucleoproteid der Leber ein Osazon von genau den gleichen Eigenschaften zu erhalten. An anderer Stelle wird hierüber noch ausführlicher berichtet werden.

Noch wahrscheinlicher wurde uns die Annahme, dass es sich um eine Verunreinigung mit Nucleinen handelt, weil in unserem Glykogen nach der Veraschung deutlich Phosphor nachweisbar war. Allerdings bedarf dieser Phosphornachweis insofern einer gewissen Einschränkung, als der Beweis der organischen Bindung nicht erbracht ist.

Als weiteren Grund, dass die Verunreinigung ein Nucleoalbumin ist, möchten wir anführen, dass das durch Schwefelsäure invertirte Glykogen die für Xanthinbasen charakteristische Reaction gab: nach

1) F. Blumenthal, l. c.

Zusatz ammoniakalischer Silberlösung entstand eine deutliche, leicht-flockige Trübung.

Aus Pflüger's klassischen Arbeiten¹⁾ über das Glykogen geht schon hervor, dass unsere jetzt am meisten geübte Darstellungsmethode von Glykogen keineswegs eine vollkommene ist, und zwar desshalb, weil einerseits nicht unerhebliche Verluste entstehen und andererseits das so gewonnene Glykogen kein reines ist, vielmehr eine Verunreinigung durch N-haltige Körper (neben anderen Stoffen) zeigt. Wir glauben nicht fehlzugehen, wenn wir annehmen, dass diese N-haltigen Körper zum grossen Theil Nucleoalbumine sind.

Schliesslich möchten wir noch darauf aufmerksam machen, dass die quantitative Glykogenbestimmung, welche bekanntlich auf einer Verzuckerung des Rohglykogens und auf der Bestimmung dieses Zuckers beruht, durch die Anwesenheit der Pentosen eine wenn auch nur geringe Ungenauigkeit erfährt. Diese Fehlerquelle lässt sich durch mehrmaliges Lösen und Füllen des Glykogens leicht vermeiden. Zur vorläufigen Beurtheilung der Reinheit irgend eines Glykogenpräparates scheint uns die Orcinreaction wegen der Schnelligkeit der Ausführung ganz zweckmässig zu sein.

1) Pflüger's Archiv 1899.
