

Über einen aus dem Glycogen bei der Einwirkung von Salpetersäure entstehenden Salpetersäure-Ester.

Von Dr. S. Lustgarten,

Demonstrator am Laboratorium für medicinische Chemie.

(Aus dem Laboratorium des Prof. E. Ludwig.)

(Vorgelegt in der Sitzung am 21. Juli 1881.)

In einer im hiesigen Laboratorium ausgeführten Arbeit über Glycogen erwähnt Abeles ¹ eines durch Einwirkung von Salpetersäure auf Glycogen entstehenden Körpers, der von ihm nicht näher untersucht wurde. Ich habe die Untersuchung dieses Körpers aufgenommen und bin zu Resultaten gelangt, die im Folgenden mitgetheilt werden sollen.

Zum Zwecke der Darstellung bereitete ich mir nach der Brücke'schen Methode ² mit der von Abeles ³ angegebenen Modification, die Eiweisskörper mit Chlorzinklösung heiss zu fällen, Glycogen und erhielt ein schönes, rein weisses, 0.19 Perc. Asche (Zinkoxyd) enthaltendes Präparat.

Das Nitroglycogen — so will ich den Nitrokörper vorderhand nennen — wird dargestellt, indem man Glycogen in einer in Eis gekühlten Schale mit rauchender Salpetersäure übergiesst und innig mengt, darauf mit concentrirter Schwefelsäure und abwechselnd mit Salpeter- und Schwefelsäure versetzt, bis im Ganzen $4\frac{1}{2}$ Theile Salpetersäure und $10\frac{1}{2}$ Theile Schwefelsäure verbraucht sind. Dieses Mengenverhältniss ist in Gmelin's Handbuch der Chemie für die Darstellung des Nitromannits angegeben. Beim Behandeln mit Salpetersäure löst sich ein beträchtlicher Theil des Glycogens, der übrige wird gelblich durchscheinend, beim Versetzen mit Schwefelsäure scheidet sich das Nitroglycogen

¹ Wr. Med. Jahrb. IV., 1877, pag. 558.

² Sitzb. d. kais. Ak. d. Wiss. II. Abth. Bd. 62, pag. 214.

³ Wr. Med. Jahrb. IV., 1876, pag. 521.

in knolligen, weissen, klebrigen Stücken aus. Die ganze Masse wird darauf in ein grosses Becherglas gebracht, rasch mit viel Wasser vermischt, mehrmals decantirt, darauf auf dem Filter mit destillirtem Wasser bis zum Verschwinden der Schwefelsäure-reaction gewaschen und endlich über Schwefelsäure im Finstern getrocknet. Die Ausbeute beträgt circa 140 Percent des angewandten Glycogens.

Das auf diese Weise erhaltene Product bildet theils weisse, knollige Stücke, theils ein feines weisses Pulver und ist unlöslich in Wasser, Äther, Alkohol, (in letzterem in kleinen Stücken etwas durchscheinend werdend) in Salzsäure, Schwefelsäure, Essigsäure, in Ammoniak und Kalilauge, welche letztere es gelb und beim Erwärmen braun färben und theilweise zersetzen. Schwefelammonium sowie concentrirte Salpetersäure lösen die Nitroverbindung unter Zersetzung auf. Ein Lösungsmittel für das Nitroglycogen, das es nicht zugleich zersetzen würde, konnte nicht gefunden werden. Das Nitroglycogen zersetzt sich ferner unter Entwicklung von niederen Stickstoff-Sauerstoffverbindungen bei der Einwirkung des Tageslichtes, besonders aber des directen Sonnenlichtes, sowie beim Erwärmen auf 80—90°, verpufft, auf dem Platinbleche erhitzt, Kohle zurücklassend, explodirt aber durch Stoss, Druck und Schlag nicht.

Die Analysen der über Schwefelsäure im Dunkeln getrockneten Substanz ergaben Zahlen, die gut auf die kleinste Formel $C_6H_8(NO_2)_2O_5$ stimmten.

- I. 0.4349 Grm. Nitroglycogen mit Kupferoxyd gemengt im Bayonnetrohr mit vorgelegtem Kupfer und Kupferoxyd verbrannt, gaben 0.4574 Grm. CO_2 entsprechend 0.1247 C und 0.1516 Grm. H_2O entsprechend 0.0168 Grm. H.
- II. 0.3807 Grm. Nitroglycogen wie bei I. verbrannt, gaben 0.4013 Grm. CO_2 entsprechend 0.1095 Grm. C und 0.1320 Grm. H_2O entsprechend 0.0146 Grm. H.
- III. 0.5051 Grm. durch Kochen mit Salzsäure gereinigtes Nitroglycogen nach der Dumas'schen Methode mit vorgelegtem Kupfer und Kupferoxyd verbrannt, gaben 46.75 CC. N bei 14.1° C. und 746 Mm. Barometerstand entsprechend 0.05485 Grm. N.

IV. 0.4888 Grm. derselben Substanz wie bei III. und in gleicher Weise behandelt, gaben 46.2 CC. N bei 14° C. und 745 Mm. Barometerstand entsprechend 0.05413 Grm. N.

V. 0.4962 Grm. nicht mit Salzsäure behandelten Nitroglycogens wie bei III. und IV. verbrannt, gaben 47.1 CC. N bei 21° C. und 749 Mm. Barometerstand entsprechend 0.05416 Grm. N.

| | I | II | III | IV | V | Mittel |
|------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| C .. | 28.67% | 28.76% | — | — | — | 28.71% |
| H .. | 3.86% | 3.83% | — | — | — | 3.84% |
| N .. | — | — | 10.86% | 11.07% | 10.91% | 10.95% |

| | Berechnet | | Gefunden |
|------------------|-----------|--------|----------|
| C ₆ = | 72 | 28.57% | 28.71% |
| H ₈ = | 8 | 3.17% | 3.84% |
| N ₂ = | 28 | 11.11% | 10.95% |
| O ₉ = | 144 | 57.15% | — |
| | 252 | 100.00 | |

Spaltungsversuche mit Kalilauge, Ammoniak, kohlensaurem Baryt, Magnesiumoxyd und Natriumamalgam führten zu keinem brauchbaren Resultate. Mit Kalilauge, Ammoniak in wässriger und alkoholischer Lösung erhitzt, erfolgt starke Bräunung der Substanz und Flüssigkeit, welche letztere nach dem Kochen mit verdünnter Schwefelsäure Kupferlösung reducirte. Ebenso erfolgte Bräunung beim Behandeln mit kohlensaurem Baryt, Magnesiumoxyd und Natriumamalgam; in der abfiltrirten Flüssigkeit konnte aber nach dem Kochen mit verdünnter Schwefelsäure kein reducirender Körper nachgewiesen werden.

Bessere Dienste leistete Schwefelammonium. Übergiesst man nämlich Nitroglycogen in einem Kölbchen mit Schwefelammonium, so erfolgt geringe Erwärmung, und man erhält nach einiger Zeit eine klare, gelbbraune Flüssigkeit, in der Salpetersäure auch nicht durch Brucin nachgewiesen werden kann. Letzterer Umstand deutet darauf hin, dass der Schwefelwasserstoff des Schwefelammoniums die entstehende Salpetersäure reducirt und erklärt zugleich das Braunwerden der Lösung durch Bildung von Polysulfiden des Ammoniums. Die Lösung erfolgt viel rascher beim

Erwärmen mit Schwefelammonium, aber unter viel bedeutenderer Bräunung, wesshalb ich den Process immer bei gewöhnlicher Temperatur vor sich gehen liess.

Bei einigen Präparaten erfolgte nicht vollständige Lösung, sondern es blieb eine geringe Menge durchscheinender, gequollenem Sago ähnlicher Körner am Boden des Gefässes zurück. Die Menge dieser war für eine eingehende Untersuchung viel zu gering, ich konnte nur erkennen, dass diese Körner durch Waschen mit destillirtem Wasser vom Ammoniak befreit weiss wurden, mit Alkalien versetzt wieder durchscheinend, ohne sich zu lösen, und dass sie sich in Salz- und Salpetersäure lösten. Ich halte diesen Körper für eine Verunreinigung des Nitroglycogens, die vielleicht dadurch entsteht, dass bei der Darstellung das Glycogen nicht innig genug mit der Salpetersäure gemengt wurde, und welche obgenannte Eigenschaften mit dem aus Stärke dargestellten Xyloidin theilt. Um ihn aus dem Nitroglycogen zu entfernen, wurde mit Salzsäure erwärmt, filtrirt und bis zum Verschwinden der Chlorreaction gewaschen. Das restirende Nitroglycogen war jetzt schneeweiss und löste sich ohne Rückstand in Schwefelammonium. Auf die Zusammensetzung hat die Behandlung mit heisser Salzsäure keinen Einfluss, wie obige Stickstoff-Bestimmungen zeigen, von denen zwei von mit Salzsäure behandelten Präparaten, eine von einem sich ohne Behandlung mit Salzsäure ohne Rückstand lösenden Nitroglycogen herrühren, und die keine nennenswerthen Differenzen zeigen.

Die Lösung des Nitroglycogens in Schwefelammonium wurde in der Weise behandelt, dass durch dieselbe so lange Luft durchgesaugt wurde, bis das ganze Schwefelammonium entfernt war, und die Flüssigkeit nicht mehr alkalisch reagirte. Dann wurde diese auf dem Wasserbade zur Trockene eingedampft, der Rückstand mit wenig Wasser behandelt, von der Hauptmasse des ausgeschiedenen Schwefels durch ein Faltenfilter abfiltrirt, das noch immer trübe Filtrat so lange gekocht, bis der Schwefel sich zusammengeballt hatte und darauf abermals filtrirt. In dem nun klaren, etwas gelb gefärbten Filtrate erhielt ich durch Zusatz des 4 — 5fachen Volums absoluten Alkohols eine reichliche, flockige Fällung, die am Filter mit absolutem Alkohol gewaschen und über Schwefelsäure getrocknet wurde. Sie stellte dann eine

lockere, weisse, amorphe Masse dar, die mit Wasser eine geruchlose, fade schmeckende, klare, in concentrirtem Zustande gelb gefärbte, klebende Lösung gab, und die mit Jodlösung sich nicht färbte. Diese physikalischen Eigenschaften stimmen ganz auf ein Dextrin und auch nicht minder die chemische Untersuchung, wie im Folgenden gezeigt werden soll.

Dieses Dextrin bei 105° getrocknet und im Sauerstoffstrom verbrannt, gab Werthe für die Formel $C_6H_{10}O_5$.

0.2742 Grm. Substanz gaben 0.4415 Grm. CO_2 entsprechend 0.1204 C und 0.1529 Grm. H_2O entsprechend 0.0169 H und hinterliessen 0.0071 Grm. Asche.

| I | Berechnet für $C_6H_{10}O_5$ |
|-----------------|------------------------------|
| C 43.91 | 44.44 |
| H 6.16 | 6.17 |

Das Reductionsvermögen dieses Dextrins ist gering. In der Kälte reducirt es Fehling'sche Lösung selbst nach mehrtägigem Stehen gar nicht. In der Kochhitze scheidet sich erst nach minutenlangem Kochen ganz wenig Kupferoxydul ab, so zwar, dass eine bestimmte Menge Kupferlösung, deren vollständige Reduction einem Reductionsvermögen = 2, das des Traubenzuckers = 100 gesetzt, entsprechen würde, bei weitem nicht vollständig reducirt wird.

Mit verdünnter Schwefelsäure gekocht geht dieses Dextrin leicht und vollständig in Traubenzucker über. Schon nach einigen Minuten langem Kochen tritt Zuckerreaction auf.

0.1560 Grm. entsprechend 0.1474 Grm. aschefreier Substanz wurden durch zwei Stunden mit 20 CC. einer $4\frac{0}{10}$ igen Schwefelsäure im zugeschmolzenen Rohre auf 110° erhitzt, dann auf 50 CC. verdünnt. Der Zuckergehalt wurde mit einer Kupferlösung bestimmt, deren Titer kurz zuvor mit einer Traubenzuckerlösung von annähernd derselben Concentration gestellt worden war und von welcher 10 CC. = 0.0536 Grm. Traubenzucker entsprachen. 10 Ctm. der Kupferlösung verbrauchten nur im Mittel von drei Versuchen 16.4 CC. der aus dem Dextrin erhaltenen Zuckerlösung. Demnach enthalten sämmtliche 50 CC. dieser Zuckerlösung 0.1634 Grm. Zucker, während die aus 0.1474 Grm. Dextrin

berechnete Menge von Zucker 0.1638 Grm. beträgt. Es wurden also statt 100 Percent 99.75 Percent gefunden.

Durch Mundspeichel wird das aus Nitroglycogen gewonnene Dextrin sehr rasch, wenigstens theilweise, in Zucker übergeführt. Versetzte ich nämlich einige Cubikcentimeter einer circa 2⁰/₀igen Dextrinlösung mit der gleichen Menge filtrirten Mundspeichels, der früher mit Kupferlösung geprüft und als nicht reducierend befunden worden war, so erhielt ich mit einer Probe der Mischung schon nach 2 — 3 Minuten deutliche Zuckerreaction. Die Geschwindigkeit der Umsetzung des Dextrins in Zucker nimmt aber, wie es scheint, bald sehr ab, denn wenn ich die Mischung durch 20 Stunden auf 40 — 50° erwärmt hatte, so enthielt sie zwar etwas mehr Zucker, aber auch noch immer durch Alkohol fällbares Dextrin. Ich habe diese Versuche nicht quantitativ gemacht, weil mit Speichel versetzte Dextrinlösungen sich nach wenigen Stunden durch entstehende Massen trüben und durch diese ein neuer unberechenbarer Factor eingeführt wird.

Das dargestellte Dextrin drehte die Ebene des polarisirten Lichtstrahles stark nach rechts. Die Bestimmung des specifischen Drehungsvermögens wurde mit dem Wild'schen Polaristrobometer unter Anwendung von Natriumlicht vorgenommen. Zur Bestimmung der Concentration der in einem mit eingeschliffenem Glasstöpsel versehenen Kölbchen bereiteten Dextrinlösung wurde eine gewogene Menge derselben in einem Porcellantiegel zur Trockene gebracht, der Trockenrückstand gewogen und verascht.

6.6697 Grm. Lösung gaben 0.8323 Grm. Trockenrückstand und 0.0202 Grm. Asche, entsprechend einem Percentgehalt von 12.175 Percent aschefreien Dextrins. Die mit dem Pycnometer vorgenommene specifische Gewichtsbestimmung gab $s = 1.0492$ bei $t = 24^\circ \text{ C.}$ bezogen auf Wasser von 4° C. Die Herstellung und optische Untersuchung fand bei 27° C. statt. Die Lösung wurde im 100 Mm. langen Rohr untersucht.

Ablesungen bei mit destillirtem Wasser gefülltem Rohre:

| I | II | III | Mittel |
|-------|-------|-------|--------|
| 51.03 | 51.05 | 51.02 | 51.03 |
| | | | 45* |

Ablesungen bei mit der Dextrinlösung gefülltem Rohre:

| I | II | III | Mittel |
|-------|-------|-------|--------|
| 75·85 | 75·80 | 75·85 | 75·82 |

Der abgelesene Drehungswinkel beträgt demnach im Mittel 24·79°. Daraus ergibt sich aus der Formel $[\alpha] = \frac{100 \alpha}{l \text{ pd.}}$

$$[\alpha]_D = + 194\cdot00^\circ.$$

Das aus Nitroglycogen dargestellte Dextrin theilt mit den anderen Dextrinen die Eigenschaft, sehr schwer zu dialysiren, so dass eine durch acht Tage der Dialyse ausgesetzte Dextrinlösung keine auffällige Abnahme des Dextringehaltes zeigt. Durch sein Drehungsvermögen, sein Verhalten gegen Kupferlösung und Mundspeichel unterscheidet es sich nicht unwesentlich von den bis jetzt theils aus Stärke und Glycogen (O'Sullivan,¹ Bondonneau,² Musculus und Gruber,³ Brown und Heron,⁴ Musculus und Mehring⁵), theils aus Traubenzucker (Musculus,⁶ Musculus und Meyer⁷) dargestellten Dextrinen.

Ich muss hier noch einer merkwürdigen Eigenschaft des aus Nitroglycogen dargestellten Dextrins erwähnen, die dasselbe mit dem aus Stärke dargestellten theilt und die in dem Verhalten dialysirter Eiweisslösungen ihr Analogon findet. Beim Versuche nämlich, wässrige Dextrinlösungen mit Alkohol zu fällen, erhielt ich nicht immer die erwartete flockige Fällung, sondern auch häufig eine opalisirende, nur eine sehr geringe Menge eines pulverigen Niederschlages absetzende Flüssigkeit, oder auch eine getrübbte, deren Trübung von sehr feinen Partikelchen herrührte, welche sehr geringe Tendenz, sich abzusetzen, zeigten und beim Filtriren auch bald die Filterporen verstopften. Ich vermuthete anfangs, dass die Ursache dieses verschiedenen Verhaltens in

¹ Monit. scient. [3]. 4. Vol. 210.

² Bull. de la soc. chimique de Paris [2]. 23. Vol. 98. Compt. rend. 81. Vol. 972 und 1210.

³ Zeitsch. f. physiol. Chemie. 2. Band. 177.

⁴ Liebig's Annalen. 199. Bd. 165.

⁵ Bull. de la soc. chim. de Paris [2]. 31. Vol. 105.

⁶ Dasselbe, [2]. 18 Bd. 68.

⁷ Zeitsch. f. physiol. Chemie. 5. Bd. 122.

den verschiedenen Concentrationen der Dextrinlösungen und in den verschiedenen Mengen des zugesetzten Alkohols zu suchen sei, ohne dass es mir gelang, mich davon zu überzeugen. Ein unreines schwefelsaures ammoniakhaltiges Dextrin, das ich behufs Entfernung des Salzes circa acht Tage dialysirte, führte mich auf den richtigen Weg. In dieser dialysirten Dextrinlösung entstand nämlich durch Alkohol kein Niederschlag, sondern nur Opalescenz. Als ich aber in Proben dieser opalisirenden Flüssigkeit verschiedene Salzlösungen, kohlensaure, schwefelsaure Salze, Chloride in wässriger Lösung, essigsäures Kali, Chlorstrontium, sowie Ätzkali in alkoholischer Lösung, brachte, entstand sogleich eine dichte flockige Fällung, die sich rasch in der jetzt ganz klaren Flüssigkeit absetzte. Die zum vollständigen Ausfällen benötigte Salzmenge ist sehr gering, und man setzt sie am besten tropfenweise so lange zu, bis die über den Niederschlag stehende Flüssigkeit ganz klar geworden ist. Das auf diese Weise mit nicht flüchtigen, in Alkohol löslichen Salzen dargestellte Dextrin enthält selbst nach langem Waschen 2—3 Percent Asche, das mit einer alkoholischen Ätzkalilösung dargestellte sogar 5—6 Percent, sodass es sich im letzteren Falle wahrscheinlich um eine Verbindung des Dextrins mit Kalium handelt. Ob der starke Aschegehalt des mit Hilfe von Salzlösungen dargestellten Dextrins durch das Entstehen einer chemischen Verbindung oder durch die Eigenschaft vieler Niederschläge gelöste Stoffe mitzureissen, zu erklären ist, wage ich bis jetzt nicht zu entscheiden, obwohl mir letzteres in Anbetracht der chemischen Natur des Dextrins wahrscheinlicher erscheint. In ganz gleicher Weise verhalten sich dialysirte, aus Stärke dargestellte Dextrinlösungen.

Durch Einwirkung von Salpeter-Schwefelsäure in dem beim Glycogen angewandten Mengenverhältnisse auf durch Dialyse und mehrmaliges Füllen durch Alkohol gereinigtes und als schneeweisse lockere Masse erhaltenes käufliches Dextrin erhielt ich nicht Nitroglycogen, sondern einen Körper, der wahrscheinlich mit dem von Bechamp¹ dargestellten Binitrodextrin identisch ist. Er stellt eine amorphe, weisse, sich sehr leicht unter Entwicklung von niederen Stickstoff-Sauerstoffverbindungen zersetzende Masse

¹ Compt. rend. 51. Vol. 256,

dar, die sich in absolutem Alkohol löst und 11·53 Percent Stickstoff enthält.

0·3877 Grm. Binitrodextrin über Schwefelsäure im Dunkeln getrocknet und nach Dumas mit vorgelegtem Kupfer und Kupferoxyd verbrannt, gaben 38 CC. N bei 13° C. und 745 Mm. Barometerstand, entsprechend 0·04468 Grm. N.

| Gefunden | Berechnet für $C_6H_8(NO_2)_2O_{10}$ |
|------------------|--------------------------------------|
| N 11·53% | 11·11% |

Dieses Binitrodextrin löst sich auch in Schwefelammonium und gibt in gleicher Weise wie das Nitroglycogen behandelt, einen dextrinartigen Körper.

Wird Nitroglycogen bei gewöhnlicher Temperatur mit concentrirter Salpetersäure behandelt, so löst es sich. Aus der Lösung schlägt Wasser ein amorphes, feines, weisses, sich dicht absetzendes Pulver nieder, das, gut gewaschen und über Schwefelsäure getrocknet, sich nicht in Wasser, Alkohol und Äther, wohl aber in Salzsäure und Kalilauge löst. In der sauren oder alkalischen Lösung entsteht bei Neutralisation ein weisser Niederschlag. Die Analyse dieses Körpers ergab 4·17 Percent Stickstoff.

0·3742 Grm. über Schwefelsäure getrocknet, und nach Dumas mit vorgelegtem Kupfer und Kupferoxyd verbrannt, gaben 13·4 CC. N bei 18·8° C. und 751 Mm. Barometerstand, entsprechend 0·01561 Grm. N.

Ein Körper von der Zusammensetzung $C_{12}H_{19}(NO_2)O_{10}$ verlangt 3·89 Perc. N.

Auch dieser Körper löst sich in Schwefelammon und liefert in gleicher Weise, wie Nitroglycogen behandelt, einen dextrinartigen Körper. Wird zu einer Auflösung von Nitroglycogen in concentrirter Salpetersäure concentrirte Schwefelsäure zugesetzt, so entsteht ein weisser Niederschlag, der nach seinen physikalischen Eigenschaften und seinem Verhalten gegen Lösungsmittel höchst wahrscheinlich wieder Nitroglycogen ist.

Wird Nitroglycogen mit concentrirter Salpetersäure erhitzt, so erfolgt unter Entwicklung von rothbraunen Dämpfen Lösung. Diese Lösung wird durch Verdünnen mit Wasser nicht getrübt und reducirt Fehling'sche Kupferlösung. Durch heisse Salpeter-

säure wird also das Nitroglycogen gespalten und das dabei entstehende Dextrin in Zucker übergeführt.

Auch Nitroamylum, das durch Salpeter-Schwefelsäure im oben angegebenen Verhältnisse aus durch 0·1%ige Kalilauge, Alkohol und Äther gereinigtem Amylum dargestellt wurde, löst sich theilweise in Schwefelammonium, und aus dieser Lösung erhält man durch die beim Nitroglycogen angegebene Behandlung ebenfalls einen dextrinartigen Körper. Die Identität oder Verschiedenheit dieser aus den genannten Nitroverbindungen dargestellten Dextrine müssen weitere Untersuchungen feststellen.

Das auffällige Entstehen von Dextrin aus Nitroglycogen kann auf zweierlei Weise erklärt werden, erstens dadurch, dass bei der Reduction des Nitroglycogens das freiwerdende Glycogen durch das Schwefelammonium in Dextrin übergeführt wird, oder zweitens dadurch, dass man annimmt, es entstehe beim Nitriren des Glycogens, vielleicht durch Spaltung seines gewiss sehr grossen Moleküles, aus diesem Dextrin. Bei dem Umstande nun, dass durch Einwirkung von Schwefelammonium auf Glycogen kein Dextrin erhalten wird, und dass ferner die Behandlung mit Schwefelammonium als ein leichter Eingriff bezeichnet werden muss, dessen Wirkung sich kaum über die Nitrogruppen hinaus erstrecken dürfte, erhält die letztere Deutung viel mehr Wahrscheinlichkeit, so dass wir in dem Nitroglycogen eigentlich einen Salpetersäure-ester des Dextrins vor uns hätten, der richtiger Nitro- oder Binitrodextrin genannt würde. Trotzdem wird es sich empfehlen, den Namen Nitroglycogen oder Binitroglycogen beizubehalten, um Verwechslungen mit dem zuerst von Bechamp¹ aus Dextrin dargestellten und anders beschaffenen Binitrodextrin zu vermeiden.

¹ Compt. rend. 51. Vol. 256.