

wiederholt, bis keine Wasserbildung mehr zu konstatieren war. Dann wurde mit Methylalkohol ausgezogen und in verd. Salzsäure einfiltriert. Es schied sich sofort das Chlorhydrat des Dehydro-cusparins in orangefarbenen Nadeln ab, die abgesaugt und im Vakuum getrocknet wurden. Schmp. des Chlorhydrates: 193—195° (im Vakuum). Die Ausbeute betrug 5.2 g. Zur Darstellung der freien Base wurde das Chlorhydrat in Alkohol gelöst und in Lauge einfiltriert. Die so abgeschiedene Base wurde abgesaugt. Sie schmolz bei 186°.

Zur Analyse wurde das Chlorhydrat nach dem Trocknen im Vakuum bei 100° in Wasser heiß gelöst, mit reinem Natriumcarbonat die Base gefällt, abfiltriert und im Filtrat nach dem Ansäuern mit Salzsäure das Halogen bestimmt.

0.3240 g Chlorhydrat: 0.1370 g AgCl.

$C_{19}H_{15}O_3N, HCl$. Ber. Cl 10.38. Gef. Cl 10.46.

1.8 g der Dehydrobase wurden mit 5 ccm Eisessig und 5 ccm Wasser versetzt und mit Palladium-Tierkohle katalytisch bis zur vollständigen Entfärbung der gelben Lösung reduziert. Dann wurde vom Katalysator abfiltriert, mit Lauge alkalisch gemacht und ausgeäthert. Das so erhaltene Produkt (1.55 g) wurde mit Wasser und Salzsäure bis zur vollständigen Lösung erhitzt und heiß filtriert. Beim Erkalten schied sich dann das Chlorhydrat in schönen, weißen Nadeln ab. Durch Lösen des Chlorhydrats in heißem Wasser und Fällern mit Lauge konnte die freie Base erhalten werden, die noch mehrmals aus Petroläther umgelöst wurde. So behandelt, schmolz der Körper bei 91.5—92°.

0.2745 g Chlorhydrat: 0.1140 g AgCl.

$C_{19}H_{17}O_3N, HCl$. Ber. Cl 10.32. Gef. Cl 10.27.

0.0679 g freie Base: 0.0516 g AgJ (nach Zeisel).

$C_{18}H_{14}(OCH_3)_2N$. Ber. CH_3O 10.10. Gef. CH_3O 10.05.

Nachstehende Tabelle zeigt die Identität dieser Verbindung mit natürlichem Cusparin auf Grund der Schmelzpunkte und Misch-Schmelzpunkte:

	Synthetisches Produkt	Natürliches Produkt	Misch-Schmp.
	o	o	o
Freie Base	91.5—92	91—92	91—92
Chlorhydrat { bei raschem Erhitzen	185—187	183—184	185—186
{ > langsamem >	193—194	189—191	190—193
Oxalat (unter Gasentwicklung) . .	152—156	155—158	153—158
Methyl-cusparin	193—194	190—191	192—193

248. Knut Sjöberg: Über einige neue Produkte der enzymatischen Spaltung der Stärke.

[Aus d. Chem. Laborat. d. Universität Stockholm.]

(Eingegangen am 4. Juni 1924.)

Bei der Hydrolyse der Stärke mit Malz-Amylase erhält man gewöhnlich nicht 100% Maltose, sondern die Spaltung hört früher auf, im allgemeinen wenn so viel Zucker gebildet worden ist, als 60—80% Maltose-Bildung entspricht. Dies ist eine alte Beobachtung; die Ursache ist mehrmals diskutiert worden, ohne daß die Frage ganz gelöst worden ist. In der Regel hat man sich vorgestellt, daß hier ein Gleichgewicht Mal-

tose \rightleftharpoons höhere Dextrine bestehe, welches z. B. nach links durch Fortschaffen der Maltose verschoben werden kann. Man findet auch in der Literatur verschiedene Angaben über die bei der Hydrolyse gebildeten Produkte und über den Verlauf der Spaltung. Ich möchte beispielsweise an die Ansicht von Lintner und Düll¹⁾ erinnern, nach welcher die zuerst gebildeten Dextrine in Isomaltose übergehen und diese dann in Maltose übergeführt werden. Auch Ling und Nanji²⁾ halten es für ganz wahrscheinlich, daß sie Isomaltose als Spaltungsprodukt bei der Hydrolyse von Amylopektin erhalten haben.

Bei der Behandlung des Amylopektins mit Malz-Amylase beobachteten sie, wenn die Reaktion so weit gegangen war, daß die Lösung nicht mehr von Jod gefärbt wurde, eine Zuckerart, die eine spez. Drehung $[\alpha]_D^{20} = +140^\circ$ und ein Reduktionsvermögen = 80 zeigte, wenn dasjenige der Maltose = 100 gesetzt wird. Dieselbe Drehungs-Konstante ist auch von Lintner und Düll angegeben, sie dürfte aber nach den Berechnungen von Hudson³⁾ falsch sein. Harrison⁴⁾, der Isomaltose nach der Vorschrift Fischers⁵⁾ hergestellt hat, fand für diesen Zucker $[\alpha]_D^{20} = 84.1^\circ$. Der Beweis für die Bildung von Isomaltose kann deshalb bisher nicht für ganz einwandfrei angesehen werden.

Die Frage, welche Produkte neben Maltose gebildet werden, ist von Lintner und Kirschner⁶⁾ behandelt worden, welche ein »Grenz-dextrin« isoliert haben, das $R = 22$ und $[\alpha]_D = 177.8^\circ$ zeigte. Auch Pringsheim und Fuchs⁷⁾ haben ein Produkt, das neben Stärke gebildet wurde, isoliert. Diese Substanz haben sie teils durch Dialyse, teils durch Gärung von Maltose getrennt. Sie zeigte ein Reduktionsvermögen $R = 6-9$ und $[\alpha]_D = 159-161^\circ$ und wurde nicht vom Jod gefärbt. Sie wurde nur sehr wenig von Malz-Amylase angegriffen; bei Behandlung der Substanz mit Malz-Auszug und getöteter Hefe erhielten sie jedoch Maltose in einer Ausbeute von 66-100%.

In einer vorhergehenden Mitteilung⁸⁾ habe ich ein Grenzdextrin beschrieben, welches bei der Hydrolyse mit Auszügen aus ungekeimter Gerste erhalten wurde. Dieses Produkt, das sich mit Jod blau färbt, ist noch ziemlich hochmolekular und enthält wenigstens 6 Hexosenreste im Molekül. In dieser Arbeit möchte ich einige Körper beschreiben, die bei der Hydrolyse mit Malz-Auszügen neben Maltose erhalten wurden, nachdem die Spaltung so weit fortgeschritten war, daß die Lösung nicht mehr von Jod gefärbt wurde. Hierbei wurden etwa 75% Maltose gebildet. Durch fraktionierte Fällung mit 80-proz. Alkohol konnten alle reduzierenden Substanzen abgetrennt werden, und man erhielt einige in Wasser sehr leicht lösliche Produkte, die jedoch in allen gewöhnlichen organischen Lösungsmitteln unlöslich waren.

Da eine Diamylose und eine Triamylose nach Pringsheim⁹⁾ die Grundkörper der »Amylose« und des Amylopektins bilden, und die oben genannten Produkte, da sie die Fehlingsche Lösung nicht reduzieren, zu den Amylosen in naher Beziehung stehen dürften, wurden die beiden Stärke-Komponenten jede für sich behandelt. Sie wurden nach der Methode von Gatin-Gruzewska¹⁰⁾ getrennt. Nach Pringsheim gibt diese Me-

¹⁾ B. 26, 2546 [1893]. ²⁾ Soc. 123, 2666 [1923]. ³⁾ Am. Soc. 31, 66 [1903].

⁴⁾ Am. Soc. 36, 586 [1914]. ⁵⁾ B. 23, 3687 [1890], 28, 3024 [1895].

⁶⁾ Z. Ang. 36, 119 [1923]. ⁷⁾ B. 56, 1762 [1923]. ⁸⁾ H. 131, 116 [1923].

⁹⁾ Die Polysaccharide, Berlin 1923. ¹⁰⁾ C. r. 146, 540 [1908].

thode freilich nicht ganz reine Präparate, aber auch falls die eine Komponente zu einigen Prozenten mit der anderen verunreinigt ist, so würde dies keinen nennenswerten Einfluß auf die Ergebnisse dieser Untersuchung haben.

Das Drehungsvermögen und die Molekulargewichte der erhaltenen Produkte wurden bestimmt. Es zeigte sich hierbei, daß aus den verschiedenen Ausgangspräparaten Produkte, die nicht identisch waren, gebildet wurden. Bei der Spaltung von »Amylose« wurde eine Substanz mit einem Molekulargewicht gleich dem einer Diamylose und mit einem spez. Drehungsvermögen $[\alpha]_{\text{H}_2\text{O}}^{18} = +155^\circ$ erhalten. Aus dem Amylopektin dagegen wurde ein Körper mit drei Hexosenresten im Molekül, eine Triamylose gebildet, welche eine Drehung $[\alpha]_{\text{H}_2\text{O}}^{18} = +163.5^\circ$ zeigte. Obgleich diese Körper nicht mit Pringsheims Di- und Triamylose identisch sind, bildet doch dieses Ergebnis eine Stütze für seine Annahme. Pictet¹¹⁾ hat durch Erhitzen der Stärke mit Glycerin einen Körper von der Größe einer Triamylose, den er Trihexosan nennt, gewonnen. Bei der Acetylierung der beiden Komponenten der Stärke erhielten Pringsheim und Wolfsohn¹²⁾ vor kurzem bei Behandlung der »Amylose« eine Substanz, die sie Dihexosan nennen, und bei Behandlung des Amylopektins das Trihexosan. Dieselben Ergebnisse wurden erzielt, wenn »Amylose« und Amylopektin nach der Methode Pictets mit Glycerin und Phosphorsäure depolymerisiert wurden. Die von mir erhaltenen Substanzen sind wahrscheinlich mit diesen Körpern identisch, und es ist höchst bemerkenswert, daß sie auch bei der enzymatischen Spaltung mit Malz-Auszügen gebildet werden, und dies in so großen Ausbeuten wie 20—25%.

Um die Eigenschaften der Präparate näher festzustellen, wurden sie in Acetyl- und Methylderivate übergeführt. Im ersten Fall wurden einige Substanzen mit drei Acetylgruppen pro Hexosenrest erhalten. Bei der Methylierung, die nur langsam verlief, konnten nicht mehr als zwei Methoxylgruppen pro Hexosenrest eingeführt werden. Bei der Hydrolyse des Tetramethyl-dihexosans wurde eine Dimethyl-glucose erhalten, die an den Kohlenstoffatomen 2 und 3 substituiert ist. Molekulargewichtsbestimmungen, die mit den Acetyl- und Methoxylderivaten nach der kryoskopischen Methode in verschiedenen organischen Lösungsmitteln ausgeführt wurden, gaben dieselben Ergebnisse wie die Bestimmungen mit den Grundkörpern.

Man erhält also bei der enzymatischen Spaltung der Stärke, sowohl bei der Hydrolyse der »Amylose« als auch des Amylopektins, teils Maltose in Ausbeute von 60—80%, teils eine andere, aus zwei resp. drei Hexosenresten aufgebaute Substanz, welche dem Amylose- oder Anhydrose-Typus entsprechen, da sie die Fehlingsche Lösung nicht reduzieren. Diese letzteren Substanzen werden von Malz-Amylase, auch wenn sie bereits isoliert sind, nicht gespalten. Es ist jedoch Pringsheim⁷⁾ gelungen, seinen obengenannten »Restkörper«, welcher voraussichtlich mit diesen identisch ist, durch Einwirkung von Malz-Auszügen und getöteter Hefe in Maltose überzuführen. Nach Pringsheim wird dies durch ein in der Hefe befindliches Komplement bewirkt, welches also Di- und Trihexosan zusammen mit der Amylase in Maltose überführen würde. Diese Erscheinung scheint jedoch nicht all-

11) Helv. 5, 640 [1922]

12) B. 57, 887 [1924]

gemein zu sein, da es Holmbergh¹³⁾ nicht gelungen ist, mit seinen Hefesorten eine Komplementwirkung zu erzielen.

Indessen dürfte die Maltose-Bildung nicht deshalb aufhören, bevor alle Stärke in diese Zuckerart überführt worden ist, weil hier etwa ein Gleichgewicht zwischen Maltose und höheren Spaltungsprodukten statthat, welches durch Fortschaffen der Maltose aus dem Reaktionsgemisch verschoben wird, denn ein Zusatz von Maltose zu der Lösung verändert die Größe der Maltose-Bildung nicht¹⁴⁾. Die von einigen Autoren gemachte Beobachtung, daß die gesamte Stärkemenge in Zucker übergeführt wird, wenn man die Maltose durch Dialyse fortschafft, ist dadurch erklärlich, daß sie die Kohlenhydrat-Konzentration in der inneren Lösung bestimmt. Wegen der relativ kleinen Molekulargröße des Di- und Trihexosans dialysieren diese Substanzen ebenso leicht durch Kollodiummembranen wie Maltose. Was die neuen Körper betrifft, so können diese entweder neben der Maltose als wirkliche Spaltungsprodukte der Stärke gebildet werden, oder man kann sich denken, daß sie als Produkte einer sekundären Reaktion aus Maltose entstehen. Doch ist das letztere kaum wahrscheinlich, da nie beobachtet wurde, daß bei Einwirkung von Amylase auf Maltose in den hier in Frage kommenden Konzentrationen Maltose verschwindet.

Beschreibung der Versuche.

Darstellung des Dihexosans.

10 g »Amylose« wurden in 500 ccm Wasser gelöst und mit 20 ccm einer undialysierten Malz-amylose-Lösung versetzt. Nach 24 Stdn. wurde die Flüssigkeit auf 50 ccm eingeeengt und dann mit so viel Alkohol gefällt, daß die Lösung 80% davon enthielt. Nach Absitzen der klebrigen Fällung wurde die Lösung dekantiert, der Rückstand in der kleinstmöglichen Menge Wasser gelöst und wieder mit Alkohol gefällt. Dies Verfahren wurde fünfmal wiederholt; dann wurde mit starkem Alkohol gefällt, die Fällung filtriert und mit Alkohol und Äther gewaschen. Schließlich wurde im Vakuum über Phosphorperoxyd bei 100° getrocknet.

Bestimmung der Drehung im 1-dm-Rohr (Wasser):

$$[\alpha]_{\text{Hg gelb}}^{18} = + \frac{100 \times 2.780}{1.779 \times 1.0039} = + 155.7^{\circ}; \quad [\alpha]_{\text{Hg gelb}}^{18} = + \frac{100 \times 1.008}{1.290 \times 1.0027} = + 154.5^{\circ}.$$

Bestimmung des Molekulargewichts nach der kryoskopischen Methode in Wasser: $M = E \times p/P \times \mathcal{A}$; $E = 1860$, $M \text{ ber.} = 324$. — 1. $p = 0.206 \text{ g}$, $P = 10 \text{ g}$, $\mathcal{A} = 0.110$, $M = 348$. — 2. $p = 0.905 \text{ g}$, $P = 25 \text{ g}$, $\mathcal{A} = 0.195$, $M = 345$. — 3. $p = 0.551 \text{ g}$, $P = 10 \text{ g}$, $\mathcal{A} = 0.317$, $M = 323$. — 4. $p = 0.191 \text{ g}$, $P = 10 \text{ g}$, $\mathcal{A} = 0.106$, $M = 335$.

Tetramethyl-dihexosan.

2.5 g Dihexosan wurden in 25 ccm Wasser gelöst und zusammen mit 15 g Silberoxyd und 5 g Methyljodid 2 Stdn. bei 65° erhitzt. Später wurden in 5 Sätzen je 3 g Methyljodid zugesetzt und das Ganze 2 Tage gekocht. Nach dieser Zeit wurde mit Chloroform ausgeschüttelt, das Chloroform verdampft und der Rückstand im Vakuum getrocknet.

Bestimmung der Drehung im 1-dm-Rohr (Wasser):

$$[\alpha]_{\text{Hg gelb}}^{18} = + \frac{100 \times 6.588}{4.560 \times 1.020} = + 144.9^{\circ}.$$

Bestimmung des Molekulargewichts in Wasser: $p = 0.4560 \text{ g}$, $P = 10 \text{ g}$, $\Delta = 0.253$, $M = 335$. $M \text{ ber.} = 380$.

¹³⁾ H. 134, 92 [1924].

¹⁴⁾ Sjöberg, H. 131, 116 [1923], Aug. [1924].

Bestimmung der Methoxylgruppen nach der Methode von Zeisel und Fanto¹⁵⁾:

0.0912 g Sbst. gaben 0.2158 g AgJ. — 0.0456 g Sbst. gaben 0.1117 g AgJ.
Ber. CH₃O 32.6. Gef. CH₃O 31.24, 32.63.

0.10 g Substanz wurden in 10 ccm gelöst, mit 0.5 ccm konz. Schwefelsäure versetzt und 4 Stdn. auf dem Wasserbade erhitzt. Die Lösung wurde mit BaCO₃ neutralisiert, eingedampft und der Rückstand getrocknet. Die so erhaltene Dimethyl-glucose erwies sich als β, γ-(2.3-)Dimethyl-glucose, wie untenstehende Tabelle zeigt:

	Schmp.	[α]
Mein Präparat	87—105°	62.8° ¹⁶⁾
β, γ-Dimethyl-glucose ¹⁷⁾	80—104°	64.4°

Hexaacetyl-dihexosan.

1 g Dihexosan wurde einen Tag mit 10 ccm Pyridin und 10 ccm Essigsäure-anhydrid auf dem Wasserbade erhitzt. Hierbei ging das Präparat in Lösung; das gebildete Acetylderivat wurde durch Ausgießen in Eiswasser gefällt. Die Lösung wurde filtriert, die Fällung gewaschen und im Vakuum-Exsiccator über Phosphorpentoxyd bei 100° getrocknet. Das Präparat wurde durch Umkrystallisation aus Toluol weiter gereinigt. Es ist in den meisten organischen Lösungsmitteln löslich, in Alkohol jedoch nur sehr wenig. Schmp. 150—165°.

Bestimmung der Acetylgruppen: 1. 0.0315 g Sbst. wurden mit 25.2 ccm 0.1091-n. alkohol. Kalilauge versetzt und 1 Stde. bei Zimmertemperatur verseift. Zur Neutralisation wurden 24.4 ccm 0.0993-n. HCl verbraucht. — 2. 0.0303 g Sbst.: 25.0 ccm KOH.

Ber. CH₃.CO 44.79. Gef. CH₃.CO 44.66, 43.35.

Bestimmung der Drehung im 1-dm-Rohr:

$$\text{In Essigsäure-anhydrid } [\alpha]_{\text{Hg}}^{18} \text{ gelb} = + \frac{100 \times 1.176}{0.944} = + 124.6^{\circ}$$

$$\text{In Pyridin } [\alpha]_{\text{Hg}}^{18} \text{ gelb} = + \frac{100 \times 2.326}{1.884} = + 123.5^{\circ}$$

Bestimmung des Molekulargewichts in Bromoform: E = 14400, p = 0.2655 g, P = 14.420 g, Δ = 0.494, M = 537; M ber. = 576.

Trihexosan.

Das Trihexosan selbst, wie auch seine Derivate wurden in analoger Weise, wie oben beschrieben ist, dargestellt; nur war das Ausgangsmaterial Amylopektin.

Bestimmung der Drehung im 1-dm-Rohr (Wasser):

$$[\alpha]_{\text{Hg}}^{18} \text{ gelb} = + \frac{100 \times 6.06}{3.673 \times 1.013} = + 162.9^{\circ}; [\alpha]_{\text{Hg}}^{18} \text{ gelb} = + \frac{100 \times 1.397}{0.851 \times 1.0013} = + 164.0^{\circ}$$

Bestimmung des Molekulargewichts in Wasser: 1. p = 0.6276 g, P = 10 g, Δ = 0.234, M = 498. — 2. p = 1.112 g, P = 25 g, Δ = 0.163, M = 508. — 3. p = 0.112 g, P = 10 g, Δ = 0.0442, M = 471. — M ber. = 486.

Nonaacetyl-trihexosan. Schmp. 156—165°.

Bestimmung der Acetylgruppen:

0.0525 g Sbst.: 25.0 ccm KOH, 22.0 ccm HCl.

Ber. CH₃.CO 44.79. Gef. CH₃.CO 44.68.

¹⁵⁾ Fr. 42, 1554 [1903]. ¹⁶⁾ nach der Mutarotation.

¹⁷⁾ Irvine and Scott, Soc. 103, 564, 575 [1913].

Bestimmung der Drehung im 1-dm-Rohr:

$$\text{In Essigsäure-anhydrid } [\alpha]_{\text{Hg gelb}}^{18} = + \frac{100 \times 1.856}{1.412} = + 131.4^{\circ}.$$

$$\text{In Pyridin } [\alpha]_{\text{Hg gelb}}^{18} = + \frac{100 \times 1.728}{1.300} = + 132.9^{\circ}.$$

Bestimmung des Molekulargewichts: Die kryoskopische Methode mit Bromoform oder Äthylendibromid als Lösungsmittel sowie die Methode von Rast¹⁸⁾ mit Campher versagten hier vollständig. Dagegen erwies sich Phenol (E = 7200) als ein geeignetes Lösungsmittel.

1. $p = 0.3922$ g, $P = 9.4752$ g, $d = 0.331$, $M = 900$. — 2. $p = 0.1423$ g, $P = 4.6836$ g, $d = 0.249$, $M = 878.5$. — M ber. = 864.

249. Karl Fuchs und Ernst Katscher: Über den Reaktionsverlauf zwischen α -Trioxymethylen und Sulfurylchlorid.

[Aus d. I. Chem. Universitätslaborat. Wien.]

(Eingegangen am 7. Juni 1924.)

Bei der Einwirkung von Sulfurylchlorid auf α -Trioxymethylen bei 170° erhielten wir in guter Ausbeute Monochlor-essigsäure. Eine Erklärung für diese Reaktion scheint uns auf folgende Weise möglich zu sein: Aus 2 Mol. Formaldehyd entsteht 1 Mol. Ameisensäure-methylester, der durch dasselbe Kondensationsmittel unter gleichzeitiger Chlorierung in Monochlor-essigsäure verwandelt wird. Diese Annahme wird dadurch gestützt, daß Dunlop¹⁾ Paraformaldehyd durch konz. Schwefelsäure oder wasserfreies Zinkchlorid bereits in Ameisensäure-methylester umlagern konnte. Hier bestünde allerdings immer noch die Möglichkeit, daß dieser Vorgang als einfache Cannizzarische Reaktion gedeutet werden kann, indem aus $[(\text{CH}_2\text{O})_2 + \text{H}_2\text{O}]$ Methylalkohol und Ameisensäure gebildet werden, die sich durch Wasseraustritt zu Methylformiat vereinigen, ein Reaktionsverlauf, den Dunlop ebenfalls als möglich bezeichnet hat. Um zwischen diesen beiden Annahmen eine Entscheidung zu treffen, versuchten wir, α -Trioxymethylen durch Zinkchlorid, Verbindungen, welche beide wasserfrei sind, zu Methylformiat umzulagern. Dieser positive Versuch spricht ebenfalls für eine direkte Kondensation von 2 Mol. Formaldehyd zu 1 Mol. Methylformiat. Einen weiteren Anhaltspunkt für den von uns angenommenen Reaktionsverlauf sehen wir darin, daß Trioxymethylen durch einen Zusatz von 2% Sulfurylchlorid bei gleichen Versuchsbedingungen ebenfalls Methylformiat in geringer Menge liefert.

Aus wasserfreier Ameisensäure und absol. Methylalkohol konnte auf gleichem Wege keine Monochlor-essigsäure erhalten werden, was ebenfalls unsere Annahme bestätigt, daß die Reaktion nur über den Ameisensäure-methylester verläuft.

Es gelang uns nicht, diese merkwürdige Reaktion auf die Ameisensäure-ester der übrigen Fettalkohole auszudehnen und auf diesem Wege die α -halogenierten Fettsäuren darzustellen. Bei einer ähnlichen Behandlung von Äthylformiat erhielten wir Chloralhydrat, wobei das hierzu notwendige Wasser wahrscheinlich durch Zersetzung des Esters in Alkohol, Kohlenoxyd und Wasser geliefert wird. Diese Annahme findet sich auch bereits in der Arbeit von Dunlop. Desgleichen gelang es uns bisher nicht,

¹⁸⁾ B. 55, 1051 [1922].

¹⁾ Dunlop, Soc. 105, 1155.