

Aus diesen Versuchen muß also die Schlußfolgerung gezogen werden, daß der Gesamt-Stickstoff der gereinigten Saccharase-Präparate zu demselben Betrag wie bei Eiweißstoffen als Amino- bzw. Peptid-Stickstoff vorhanden ist. Ein größerer Gehalt an Ring-Stickstoff als in natürlichen Proteinen ist nicht vorhanden.

#### Tryptophan-Bestimmungen.

Zum Nachweis des Tryptophans wurde auch jetzt die von Fürth und Nobel, sowie von Fürth und Lieben in quantitativer Hinsicht näher ausgearbeitete Methode von Voisenet benutzt, obwohl bei Anwendung von reinem Tryptophan als Standardsubstanz wegen der etwas abweichenden Farbennuance die Analysendaten nur als orientierend betrachtet werden dürfen.

Die Bestimmungen wurden in der früher beschriebenen Weise ausgeführt unter Anwendung des Bürkerschen Colorimeters und mit einer Schichtdicke der Vergleichslösung von 10 mm. Wir können uns auf die Angabe der gefundenen Tryptophanwerte der beiden Präparate beschränken:

Präparat If = 303: 6.5 % Tryptophan.  
 „ If = 320: 4.2 % „

#### Schwefelbestimmung.

Von dem aus Münchener Hefe dargestellten Präparat mit If = 303 stand eine so große Menge zur Verfügung, daß eine Mikro-Schwefelbestimmung nach Pregl ausgeführt werden konnte.

24.970 mg Präparat (If = 303) gaben nach Verbrennung nach Pregl 2.57 mg BaSO<sub>4</sub> und 1.418 mg Asche.

Gef. 1.4 % S, 5.7 % Asche.

Der Schwefelgehalt dieses Präparates wurde also noch etwas höher gefunden als bei den früher untersuchten Präparaten, für welche er zu 0.26—0.47 % bei den If-Werten 140—200 bestimmt wurde.

### 187. Hans Pringsheim und Sonja Kolodny: Über eine stabile $\gamma$ -Glucose.

[Aus d. Chem. Institut d. Universität Berlin.]

(Eingegangen am 7. April 1926.)

Als „ $\gamma$ -Zucker“ bezeichnet man, im Anschluß an das  $\gamma$ -Methylglucosid von Emil Fischer, Zucker mit einer von der normalen Lage abweichenden Sauerstoff-Brücke. Diese an sich unglückliche Nomenklatur, welche keine scharfe Abgrenzung der strukturisomeren  $\gamma$ -Formen gegenüber den räumlichen  $\alpha$ - und  $\beta$ -Isomerie-Formen bedeutet, ist nichtsdestoweniger bis zum heutigen Tage die meistgebräuchliche geblieben und findet vornehmlich in der englischen Literatur<sup>1)</sup> dauernde Anwendung.

In der letzten Zeit hat sich das Interesse für die  $\gamma$ -Zucker außerordentlich gesteigert, einmal, weil man sie als Konstituenten so wichtiger Polysaccharide,

<sup>1)</sup> vergl. besonders J. C. Irvine, Soc. **123**, 915 [1923]; Industr. and Engineer. Ch. **15**, 1162 [1924].

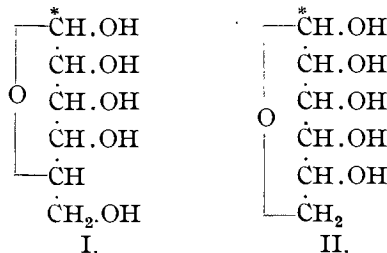
wie des Rohrzuckers<sup>2)</sup> und des Inulins<sup>3)</sup>, der Stärke<sup>4)</sup> und des Glykogens<sup>4)</sup> erkannt hat, und ferner wegen der Rolle, die man den  $\gamma$ -Zuckern mit labiler Sauerstoff-Brücke wegen ihrer besonderen Reaktionsfähigkeit im biologischen Geschehen zuschreibt, wobei besonders auf den Blutzucker<sup>5)</sup> hingewiesen sei. Diese beiderseitige Bedeutung der  $\gamma$ -Zucker steht in einer naturgemäßen Wechselbeziehung.

Im Hinblick auf diese Tatsachen hat man die vermeintliche Gärungs- und Glykolyse-Zwischenform der Glucose als Bioglucose<sup>6)</sup> bezeichnet, während andererseits die „andersgearteten“ Glucosen auch alloiomorphe, kurz *am*-Glucosen<sup>7)</sup>, oder auch Hetero-glucosen, *h*-Glucosen<sup>8)</sup>, genannt worden sind.

Die Schwierigkeit einer generellen Bezeichnung für derartige Zucker wird durch unsere Entdeckung einer relativ stabilen Form der Glucose mit von der normalen Lage abweichender Sauerstoff-Brücke vermehrt, weshalb wir fürs erste bei der historischen und unverbindlichen Bezeichnung  $\gamma$ -Glucose geblieben sind.

Den neuen Zucker erhielten wir bei der Einwirkung kalter konzentrierter Salzsäure auf das Lävoglucosan, das Glucose-anhydrid-(1.5)(1.6)<sup>9)</sup>.

Bei der Hydrolyse des Lävoglucosans muß, je nachdem Öffnung der einen oder der anderen Sauerstoff-Brücke erfolgt, entweder normale Glucose (I)<sup>10)</sup> oder die strukturisomere Form II gebildet werden.



Tatsächlich wandelt sich das Lävoglucosan etwa zur Hälfte in Glucose um; wird diese durch Vergärung mit Hefe entfernt, so verbleibt ein Körper der Zusammensetzung  $C_6H_{12}O_6$ , der also nicht vergärbar ist. Dieser Zucker

<sup>2)</sup> Haworth und Law, Soc. **109**, 1314 [1916]; Haworth, Soc. **117**, 199 [1920]; Armstrong und Hilditch, Soc. **117**, 1086 [1920]; Haworth und Linnell, Soc. **123**, 294 [1923]; Haworth und Mitchell, Soc. **123**, 301 [1923].

<sup>3)</sup> Irvine und Steele, Soc. **117**, 1474 [1920]; Irvine, Steele und Shannon, Soc. **121**, 1060 [1922].

<sup>4)</sup> H. Pringsheim, B. **57**, 1581 [1924]; Naturw. **13**, 1084 [1925].

<sup>5)</sup> H. Pringsheim, Bio. Z. **156**, 109 [1925]; Lundsgaard und Holboell, J. Biol. Ch. **65**, 323 [1925]; Barronscheen, Kahler und Hechl, Bio. Z. **167**, 77 [1926].

<sup>6)</sup> Euler und Myrbäck, Svensk Kem. Tidskr. **37**, 173 [1925]; C. **1925**, II 1875.

<sup>7)</sup> Neuberg und Kobel, Z. Ang. **38**, 761 [1925].

<sup>8)</sup> Schlubach und Rauchalles, B. **58**, 1842 [1925].

<sup>9)</sup> Pictet und Cramer, Helv. **3**, 640 [1920]; Irvine und Oldham, Soc. **119**, 1744 [1921].

<sup>10)</sup> Wir schließen uns der neuen, amylenoxydischen, von Haworth, Charlton und Peat, Soc. **129**, 89 [1926] und Hirst, Soc. **129**, 350 [1926], begründeten Formulierung der Glucose an.

ist in wäßriger Lösung beständig und zeigt eine Drehung von  $80-85^\circ$ , wandelt sich aber beim Kochen mit verd. Salzsäure leicht in Glucose um. Es handelt sich also um eine  $\gamma$ -Glucose, die jedenfalls unvergleichlich stabiler ist als die bei der Hydrolyse des  $\gamma$ -Methylglucosids entstehende Form, oder die bei der Hydrolyse des Rohrzuckers und Inulins primär entstehende  $\gamma$ -Fructose, wie auch die Bio-Glucosen, denen man bis jetzt begegnet ist.

Aus der Tatsache, daß unsere  $\gamma$ -Glucose durch Säuren in der Hitze in normale Glucose umgewandelt wird, ist die der Glucose eigentümliche Kohlenstoffkette und Konfiguration abzuleiten. Durch die Bildung eines Pentaacetates, welches verschieden von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Pentaacetylglucose ist, wurde die Anwesenheit von 5 Hydroxylen bewiesen.

Unser Zucker reduziert Fehlingsche Lösung sehr schwach, und zwar 14–15% der Glucose, was wir auf die Stabilität der Sauerstoff-Brücke zurückführen, welche den Übergang in die Aldehyd-Form erschwert; daher erklärt sich auch das Ausbleiben der Mutarotation und der Osazon-Reaktion. Die Bildung geringer Spuren eines Osazons und vielleicht auch die geringe Reduktionskraft kann auf die Umwandlung in Glucose oder möglicherweise auf eine durch Hefe nicht vergärbare Beimengung zurückgeführt werden, zumal wir unseren Zucker noch nicht krystallisiert gewonnen haben.

Aus der mangelnden Osazon-Reaktion darf nicht auf eine vermutlich sehr labile Äthylenoxyd-Sauerstoffbrücke geschlossen werden, sondern auf einen erschwerten Übergang in die Aldehyd-Form. Die Auffassung, daß es sich um eine hexylenoxydische Glucose (II) handelt, findet eine Stütze durch den Methylierungsversuch.

Dieser führte in einer für  $\gamma$ -Zucker charakteristischen Weise<sup>11)</sup> nur zu einer unvollkommenen Methylierung, welche weder mit Dimethylsulfat und Natronlauge, noch mit Jodmethyl und Silberoxyd über die Trimethylstufe hinaus zu bringen war. Beim Erhitzen mit verd. Salzsäure geht die so gewonnene Trimethyl- $\gamma$ -glucose in die bekannte 2,3,4-Trimethyl-glucose (I,5) von der entsprechenden Drehung<sup>12)</sup> und Reduktionskraft<sup>13)</sup> über. Bei der Methylierung ist trotz Anwesenheit eines freien 1-ständigen Hydroxyls keine Glucosidifizierung erfolgt. Trotzdem reduziert die Trimethyl- $\gamma$ -glucose Fehlingsche Lösung nicht, was durch die stabile Sauerstoff-Brücke erklärt werden kann, besonders wenn man das Verhalten zum Absinken der Reduktionskraft normaler Glucose durch die Methylierung und zur mangelnden Reduktionskraft der 2,3,5,6-Diaceton-mannose (I,4)<sup>14)</sup> in Vergleich setzt.

Durch die Verschiebung der Sauerstoff-Brücke bei der Umwandlung der Trimethyl- $\gamma$ -glucose in die 2,3,4-Trimethyl-glucose (I,5) von 6 nach 5 ist bewiesen, daß auch die 5-Stellung durch ein nicht methyliertes Hydroxyl besetzt war: Die 5 Hydroxylgruppen unserer  $\gamma$ -Glucose sind also auf die C-Atome 1–5 verteilt, die Sauerstoff-Brücke muß von 1 nach 6 gespannt sein.

Bei einer derartigen hexylenoxydischen  $\gamma$ -Glucose sind nicht nur 2, sondern 4 sterische Isomeren möglich, und zwar je eine  $\alpha$ - und eine  $\beta$ -Form eines Zuckers mit einer *cis*- oder *trans*-Lage der Sauerstoff-Brücke, bezogen auf ein beliebiges Hydroxyl

<sup>11)</sup> vergl. H. Pringsheim und A. Steingroever, B. 59, 1001 [1926].

<sup>12)</sup> Irvine und Oldham, Soc. 119, 1744 [1921].

<sup>13)</sup> Zemplén und Braun, B. 58, 2566 [1925].

<sup>14)</sup> Freudenberg und Wolf, B. 58, 300 [1925].

der Kohlenstoffkette<sup>16)</sup>; doch ist für unsere  $\gamma$ -Glucose zunächst dieselbe konfigurative Lage des Lactalringes anzunehmen, wie beim Lävoglucosan, nämlich die der  $\beta$ -Form entsprechende.

Die von uns aufgefundenene  $\gamma$ -Glucose, deren Cycloformel vor mehr als 40 Jahren (1883) von Tollens für den Traubenzucker gebraucht wurde, dürfte als die durch die Phosphorylierung bei der alkoholischen Gärung und der Glykolyse entstehende zerfallsbereite Modifikation<sup>16)</sup> der Glucose wegen ihrer Beständigkeit nicht mehr in Frage kommen. Auf die Bedeutung unseres Befundes für die Chemie der Stärke gehen wir noch ein.

Die weitere Bearbeitung nach den verschiedenen Richtungen hin behalten wir uns vor.

Hrn. Dr. J. Leibowitz und der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft danken wir für die gütige Unterstützung.

### Beschreibung der Versuche.

#### $\gamma$ -Glucose(I.6).

2 g reines Lävoglucosan (Schmp. 179<sup>0</sup>) wurden in einer kleinen Abdampfschale in 1 ccm konz. Salzsäure gelöst und der gebildete Sirup 2 Stdn. stehen gelassen, worauf wir die Salzsäure im Vakuum-Exsiccator über Kalihydrat im Laufe von 40 Stdn. verdunsten ließen. Dann wurde in 50 ccm Wasser gelöst, die Salzsäure durch Schütteln mit Silbercarbonat, das gelöste Silber mit Schwefelwasserstoff entfernt und zum Sirup verdunstet. Beim Verreiben mit absol. Alkohol ging Glucose in Lösung, während ein weißes Pulver von der spez. Drehung +110<sup>0</sup> (mit 41.9% C und 7.1% H und etwa 25% der Reduktionskraft der Glucose) zurückblieb; durch Auskochen mit Alkohol war an diesen analytischen Daten nichts mehr zu ändern. Die Analyse, wie auch die Molekulargewichts-Bestimmung deuteten auf die Anwesenheit eines Mehrzuckers hin; deshalb schien der Weg der Vergärung mit Hefe angezeigt, um gleichzeitig auch von vornherein alle Glucose zu entfernen. Er führte zum Ziele.

Die Vergärung wurde nach dem Entfernen der Salzsäure mit 1.5 g Bäckerhefe je 1 g verarbeiteten Lävoglucosans in 20 ccm Wasser bei 30<sup>0</sup> durchgeführt und war in 2 Tagen vollendet. Dann saugten wir die Hefe über einem mit Kieselgur gedichteten Filter ab, entweißten die Lösung mit kolloidalem Eisenhydroxyd und verdampften sie auf dem Wasserbade zum Sirup, der sich auf Alkohol-Zusatz in ein weißes Pulver verwandelte, ohne daß der Alkohol Zucker aufnahm. Der Körper wurde im Vakuum-Exsiccator getrocknet. I und II sind Produkte verschiedener Darstellungen.

I. 0.1484 g Sbst.: 0.2191 g CO<sub>2</sub>, 0.0931 g H<sub>2</sub>O. — II. 0.1262 g Sbst.: 0.1844 g CO<sub>2</sub>, 0.0760 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub> (180.13). Ber. C 40.0, H 6.7.

Gef. „ 40.2 (I), 39.9 (II), „ 7.0 (I), 6.8 (II).

Molekulargewichts-Bestimmung. I. 10 ccm Wasser. a) 0.0928 g Sbst., b) 0.1968 g Sbst.:  $\Delta$  0.098<sup>0</sup>, 0.200<sup>0</sup>. — II. 10 ccm Wasser. a) 0.1126 g Sbst., b) 0.1727 g Sbst.:  $\Delta$  0.120<sup>0</sup>, 0.175<sup>0</sup>.

C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub> (180.13). Gef. Mol.-Gew. Ia) 176, Ib) 183; IIa) 174, IIb) 183.

<sup>16)</sup> vergl. die analoge Überlegung für das Glucose-anhydrid-(I.6), Irvine und Oldham, Soc. 119, 1744 [1921].

<sup>16)</sup> vergl. C. Neuberg bei C. Oppenheimer, Handbuch der Biochemie, Bd. II, S. 458 (Jena 1925).

I.  $[\alpha]_D^{20} = (0.77^\circ \times 5) : (1 \times 0.0452) = +85.2^\circ$  (Wasser). — II.  $[\alpha]_D^{20} = (0.81^\circ \times 5) : (1 \times 0.0520) = +77.9^\circ$  (Wasser).

Reduktionsbestimmung nach Bertrand: I. 0.0421 g Sbst. Gef. 12.2 mg Cu = 15 % der Glucose. — II. 0.0390 g Sbst. Gef. 10.6 mg Cu = 14 % der Glucose.

#### Umwandlung in Glucose(I.5).

0.0669 g Substanz wurden in 5-proz. Salzsäure 2 Stdn. auf dem Wasserbad erhitzt und die erkaltete Lösung auf 10 ccm aufgefüllt.

$[\alpha]_D^{20} = (0.35^\circ \times 10) : (1 \times 0.0669) = 52^\circ$  (Wasser).

0.0133 g Sbst. verbrauchten nach der Verkochung mit 5-proz. Salzsäure 4.0 ccm  $n_{10}$ -KMnO<sub>4</sub>, entspr. 0.0126 g Glucose. Gef. 95 % der Theorie.

Je 50 mg  $\alpha$ -Methylglucosid (I), Lävoglucosan (II) und  $\gamma$ -Glucose (III) wurden mit 3 ccm 2-proz. HCl 15 Min. im siedenden Wasserbad erhitzt und hierauf nach Bertrand titriert.

mg Cu . . . . .	I 11.2	II 21.4	III 31.2
% Spaltung . . . . .	I 12	II 19	III 21

#### $\gamma$ -Glucose(I.6)-pentaacetat.

0.5 g Substanz wurden mit einem Gemisch von 5 ccm Essigsäureanhydrid und 5 ccm wasserfreiem Pyridin übergossen und bis zur Lösung bei 37° aufbewahrt, wozu 26 Stdn. nötig waren. Nach dem Eingießen in Wasser, Waschen und Trocknen lösten wir in Chloroform und fällten wieder mit Petroläther aus.

0.1154 g Sbst.: 0.2093 g CO<sub>2</sub>, 0.0616 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>O<sub>6</sub>(COCH<sub>3</sub>)<sub>5</sub> (390.26). Ber. C 49.2, H 5.67. Gef. C 49.5, H 5.97.

Molekulargewichts-Bestimmung. 10 g Phenol: a) 0.0850 g Sbst., b) 0.1210 g Sbst.:  $\Delta$  0.148°, 0.210°. Gef. Mol.-Gew. a) 413, b) 415.

I.  $[\alpha]_D^{20} = (0.70^\circ \times 5) : (1 \times 0.0392) = 88.0^\circ$  (in Chloroform). — II.  $[\alpha]_D^{20} = (0.87^\circ \times 5) : (1 \times 0.0495) = 87.9^\circ$  (in Chloroform).

Zur Bestimmung der Acetylgruppen wurde die Lösung der Substanz 20 Stdn. bei Zimmertemperatur mit überschüssiger  $n_{10}$ -Natronlauge aufbewahrt und dann mit Salzsäure zurücktitriert.

I. 0.0865 g Sbst. verbrauchten 10.92 ccm  $n_{10}$ -NaOH. — II. 0.0712 g Sbst. verbrauchten 8.79 ccm  $n_{10}$ -NaOH.

C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>O<sub>6</sub>(CO.CH<sub>3</sub>)<sub>5</sub> (390.26). Ber. CH<sub>3</sub>.CO 55.1. Gef. CH<sub>3</sub>.CO 54.1 (I), 53.1 (II).

#### Methylierung der $\gamma$ -Glucose(I.6).

3 g des Zuckers wurden mit wenig Wasser befeuchtet, zuerst 4.7 ccm Dimethylsulfat hinzugefügt und unter Kühlung 5.5 ccm 35-proz. Natronlauge so langsam eingetropfelt, daß die Temperatur während der Reaktion 30° nicht überschritt. Dieses Gemisch wurde bei Zimmertemperatur über Nacht aufbewahrt. Dann wurde die Hauptmethylierung unter Eintauchen des Reaktionsgefäßes in ein Wasserbad von 70° und Zutropfen von 19.4 ccm Dimethylsulfat und 20.5 ccm 35-proz. Natronlauge aus zwei Trichtern vorgenommen, wozu 1½ Stdn. nötig waren. Das Reaktionsprodukt wurde mit Chloroform extrahiert und hinterließ nach dem Abdampfen des mit Wasser gewaschenen und mit Chlorcalcium getrockneten Lösungsmittels in Gestalt eines Sirups, der sich beim Verreiben mit Petroläther in ein weißes Pulver verwandelte. Ausbeute 50–60 % des Zuckers.

Methoxylbestimmung: 0.0762 g Sbst.: 10.1 ccm  $n_{10}$ -AgNO<sub>3</sub> (nach Kirpal-Bühn).

$C_6H_9O_6(OCH_3)_3$  (222.19). Ber. CH<sub>3</sub>O 41.8. Gef. CH<sub>3</sub>O 41.1.

$$[\alpha]_D^{20} = (0.62^0 \times 5) : (1 \times 0.0352) = 88.1^0 \text{ (in Wasser).}$$

Bei nochmaliger Methylierung mit Dimethylsulfat und Natronlauge wurde ein Produkt des gleichen Methoxylgehalts und der gleichen Drehung zurückgewonnen.

0.0833 g Sbst.: 10.96 ccm  $n_{10}$ -AgNO<sub>3</sub>. Gef. CH<sub>3</sub>O 40.8.

$$[\alpha]_D^{20} = (0.93^0 \times 5) : (1 \times 0.0502) = 92.6^0 \text{ (in Wasser).}$$

Bei der Nachmethylierung mit Jodmethyl und Silberoxyd (durch 16-stdg. Kochen mit dem 5-fachen der theoretischen Menge) blieb der Methoxylgehalt gleichfalls unverändert.

0.0693 g Sbst.: 9.08 ccm  $n_{10}$ -AgNO<sub>3</sub>. Gef. CH<sub>3</sub>O 40.6.

Verkochung der Trimethyl- $\gamma$ -glucose(1.6) mit Salzsäure.

500 mg des methylierten Zuckers wurden in 8-proz. Salzsäure 5 Stdn. auf dem Wasserbade erhitzt und nach der Neutralisation mit Bariumcarbonat dem eingedampften Rückstand ein alkohollösliches Reaktionsprodukt entzogen, welches einen unveränderten Methoxylgehalt hatte.

0.0426 g Sbst.: 5.68 ccm  $n_{10}$ -AgNO<sub>3</sub>.

$C_6H_9O_6(OCH_3)_3$  (222.19). Ber. CH<sub>3</sub>O 41.8. Gef. CH<sub>3</sub>O 41.4.

Zur Bestimmung der Drehung und Reduktionskraft der durch Umlagerung der Sauerstoff-Brücke entstandenen 2,3,4-Trimethyl-glucose(1.5) wurde in einem Vorversuche mit 2,5-proz. Salzsäure in derselben Weise erwärmt und eine Drehung von +74<sup>0</sup> in Wasser und 8% Reduktionskraft der Glucose gefunden. Die Hauptversuche ergaben die folgenden übereinstimmenden Werte:

$$[\alpha]_D^{20} = (0.78^0 \times 10) : (1 \times 0.1050) = 74^0 \text{ (in Wasser).}$$

Reduktionsbestimmung nach Bertrand: 0.1051 g Sbst.: Gef. 16.9 mg Cu = 9.05 % der Reduktionskraft der Glucose.

Mikro-Analyse: 5.131 mg Sbst. (getrocknet über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> bei 100<sup>0</sup>): 9.360 mg CO<sub>2</sub>, 3.580 mg H<sub>2</sub>O.

$C_9H_{18}O_6$  (222.2). Ber. C 48.6, H 8.1. Gef. C 49.7, H 7.8.

Der zu hohe C-Gehalt und zu niedrige H-Wert erklären sich wohl durch einen teilweisen Übergang der 2,3,5-Trimethyl-glucose in ihr Anhydrid beim Trocknen, wie ihn auch Irvine und Oldham<sup>12)</sup> beobachtet haben.