

Filtrats mit Alkohol einen Niederschlag von glykuronsaurem Barium. Das Salz kann durch Tierkohle und durch mehrmaliges Umfällen mit Alkohol gereinigt, mit Schwefelsäure zerlegt und in das Cinchonin-Salz der Glykuronsäure (Schmp. 204⁰) übergeführt werden.

**261. Percy Brigl und Helmut Keppler: Kohlenhydrate, IV.¹⁾:
Zur Synthese von α -Glucosiden.**

[Aus d. Landes-Versuchsanstalt für landw. Chemie an d. Landw. Hochschule Hohenheim.]
(Eingegangen am 11. Juni 1926.)

H. H. Schlubach²⁾ beschrieb kürzlich eine neue, linksdrehende Aceto-chlor-glucose, die er, unter Zugrundelegung der Berechnungsweise von Hudson³⁾, als die eigentliche β -Form der Aceto-chlor-glucose wohl sicher mit Recht ansprach, während der schon viel länger bekannten, stark rechts drehenden Form die α -Konfiguration zuzuteilen ist, wie ja schon Hudson hervorgehoben hat. Leider läuft die letztere ebenso wie die entsprechende Bromverbindung in der Literatur auf Grund der Tatsache, daß man aus ihr bei der Umsetzung mit Alkoholen reine β -Glucoside erhält, als β -Aceto-chlor-glucose. Die von Schlubach vorgeschlagene Umbenennung wird sich jetzt nach der Auffindung der wirklichen β -Form nicht länger vermeiden lassen.

Um Mißverständnisse zu vermeiden, ob alte oder neue Bezeichnung gemeint ist, empfiehlt es sich vielleicht, in den nächsten Jahren von der β' -Aceto-chlor-glucose zu sprechen, wenn die wirkliche β -Form gemeint ist, und von der α' -Form, wenn die schon länger bekannte gemeint ist.

An die geglückte Synthese der β' -Aceto-chlor-glucose knüpft nun Schlubach die Hoffnung, dadurch zu einer neuen, naturgemäß für viele Zwecke brauchbaren Methode zum Aufbau von α -Glucosiden zu kommen. Die Aussichten sind aber wohl deshalb äußerst gering, weil die neue Chlor-glucose unter ganz milden Bedingungen in die α -Form umklappt. Erhalten wurde sie durch Umsatz von Aceto-brom-glucose in siedendem Äther mit Chlorsilber, wobei aber erhebliche Vorsichtsmaßregeln nötig waren, damit nicht die α -Form entstand. Nicht erwähnt wird von Schlubach, daß schon ähnliche Versuche von Brigl⁴⁾ vorliegen, wobei Aceto-brom-glucose in siedendem Benzol mit Quecksilberchlorid umgesetzt wurde. Hierbei, wo die Bedingungen etwas energischer gewählt waren, bildete sich nur die α -Form. Die Tendenz zur Bildung der α -Form ist so groß, daß wahrscheinlich auch bei der Synthese von Glucosiden die Umlagerung der Chlor-glucose dem Eintritt des Methoxyls vorangehen wird.

Nun sind aber von P. Brigl⁵⁾ zwei Substanzen beschrieben worden, die offensichtlich Derivate der β' -Chlor-glucose sind, bei deren einer die Aussichten, sie zur Synthese von α -Glucosiden verwenden zu können, viel größer sind. Schlubach erwähnt, daß die sogenannte Triaceto-chlor-glucose von Brigl, die 1-Chlor-3.5.6-triacetyl-glucose, mit Schlubachs Körper

¹⁾ I.—III. Mitteilung: H. **116**, 1 [1921], **122**, 245 [1922], **126**, 120 [1923].

²⁾ B. **59**, 840 [1925].

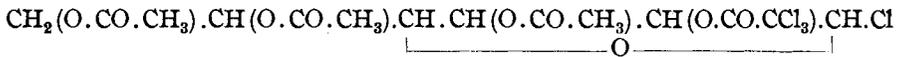
³⁾ Am. Soc. **46**, 475 [1924].

⁴⁾ H. **116**, 50 [1921].

⁵⁾ H. **116**, 39 und 20 [1921].

in eine Reihe gehört, sicherlich mit Recht. Jedoch ist diese Substanz für eine Glucosid-Synthese nicht stabil genug, auch sie neigt noch zum Umklappen in die α -Form, wie aus dem Bestehen einer Mutarotation selbst in Essigester sich ergibt. Es wurde ja auch schon früher gezeigt⁶⁾, daß man von ihr auf dem Umweg über ein α -Glucose-anhydrid, zu reinem β -Glucosid kommt.

Dagegen erwähnt Schlubach nicht die zweite Substanz, in der auch ein Derivat der β -Glucose anzunehmen ist⁷⁾, den sogenannten Tetrachlor-Körper, die 1-Chlor-2-[trichlor-acetyl]-3.5.6-triacetyl-glucose:



Bei dieser Substanz sind die Aussichten, sie zu weiteren Synthesen verwenden zu können, deshalb viel größer, weil hier die β -Konfiguration die begünstigte ist. Andeutungen für Mutarotation waren, wenigstens in indifferenten Lösungsmitteln, nicht vorhanden. Es ist dies auch theoretisch gut verständlich. Man darf ja mit Böeseken⁸⁾ annehmen, daß in der β -Glucose die Hydroxyle am Kohlenstoff 1 und 2 die *trans*-Stellung einnehmen, und es sitzen im Tetrachlor-Körper Chlor und Trichlor-acetyl in der *trans*-Stellung, weil die beiden stark negativen Reste sich abstoßen. Tritt nun beim Übergang in das Glucosid Waldensche Umkehrung ein, so erhält man aus dem Tetrachlor-Körper α -Glucoside.

Das ist nun in der Tat der Fall. Man braucht nur den Tetrachlor-Körper in absolut-methylalkoholischer Lösung mit Silbercarbonat zu behandeln, um nach Abspaltung der Acyle reines α -Methyl-glucosid isolieren zu können. Daneben bildet sich, wie aus der Drehung des Rohproduktes hervorgeht, auch ein gewisser Anteil an β -Glucosid. Um die Beimengung von β -Form auf das geringste Maß herabzudrücken (etwa 25%), ist es notwendig, die Umsetzung des Chlor-Körpers rasch in der Siedehitze vorzunehmen. Arbeitet man bei Zimmertemperatur, wobei man wegen der langsamen Reaktion des Chlors 2–3 Tage schütteln muß, so ist der Prozentsatz an β -Glucosid höher, bis zu 46%. Die Erklärung liegt wohl darin, daß unter diesen Bedingungen das Trichlor-acetyl in der 2-Stellung teilweise als Methyl ester schon vor der Glucosid-Bildung abgelöst wird, wodurch der viel labilere Monochlor-Körper entsteht.

Beschreibung der Versuche.

Es sei zunächst die Versuchsanordnung geschildert, die zur Isolierung von reinem α -Methyl-glucosid führt: 6 g Tetrachlor-Körper wurden mit 60 ccm wasserfreiem Methylalkohol nach Zugabe von 7.5 g frisch gefälltem Silbercarbonat 30 Min. sieden gelassen. Nach 20 Min. ließ die anfänglich

⁶⁾ II. Mitteilung: H. 122, 245 [1922].

⁷⁾ Daß es ein β -Derivat ist, ergibt die spez. Drehung von nur +3°. Daß nicht die Trichlor-essigsäure in der 2-Stellung die geringe Drehung verursacht, ergibt sich aus der Existenz einer α - und β -Form der 1.3.5.6-Tetraacetyl-2-trichloracetyl-glucose, von denen die erstere +101.5°, die zweite +28.9° dreht. Daraus ergibt sich, nach Hudsons Berechnungsart, daß die Kohlenstoffe 2—6 eine Drehung von +65.2° bedingen. Die Anordnung am Kohlenstoff 1 muß also im Tetrachlor-Körper die linksdrehende β -Form sein. Eine genauere Durchrechnung der Verhältnisse soll, im Einvernehmen mit C. S. Hudson, später erfolgen, sobald eine Neubestimmung der Polarisation in einem geeigneten, für alle Körper gemeinsamen Lösungsmittel erfolgt ist.

⁸⁾ B. 46, 2612 [1913].

lebhaftes Kohlensäure-Entwickeln nach, und in einem filtrierten Anteil ergab eine Probe auf leicht abspaltbares Chlor mit Silbernitrat in schwach salpetersaurer Lösung nurmehr eine leichte Trübung. Die von den ziemlich dunkel gefärbten Silbersalzen abfiltrierte Lösung wurde zur Abspaltung der Säuregruppen bei 10^0 mit Ammoniakgas gesättigt, 24 Stdn. bei Zimmertemperatur gehalten — stets unter Feuchtigkeits-Ausschluß — und dann im Vakuum der Wasserstrahl-Pumpe bei $35-40^0$ stark eingeeengt. Der kaum gefärbte Sirup, in $15-20$ ccm absol. Alkohol gelöst und mit dem gleichen Vol. Äther versetzt, verwandelt sich in gut ausgebildete Krystalle, deren Menge nach 12-stdg. Stehen 1.2 g beträgt. Ausbeute 48% der Theorie.

Es handelt sich um fast reines α -Methylglucosid. Schmelzpunkt noch etwas unscharf $155-158^0$, $[\alpha]_D^{20} = +129^0$, während reines α -Glucosid erfordert Schmp. $165-166^0$ und $[\alpha]_D^{20} = +158^0$, β -Glucosid dagegen, das mit Krystallwasser krystallisiert, Schmp. 108^0 und $[\alpha]_D = -32^0$ (aq.-frei). Zur Reinigung wurde einmal aus Äthylalkohol, einmal aus wenig Methylalkohol umkrystallisiert. Der Schmelzpunkt war jetzt $163-164^0$, die spez. Drehung $+155.5^0$.

0.1230 g Sbst., in Wasser zu 25 ccm gelöst, im 2-dm-Rohr $[\alpha]_D^{19} = +1.53^0$. Auch die Analyse ergab das Vorliegen von α -Methylglucosid.

0.1126 g Sbst.: 0.1788 g CO_2 , 0.0749 g H_2O . — 4.841 mg Sbst.: 7.675 mg CO_2 , 3.19 mg H_2O .

$\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_6$. Ber. C 43.28, H 7.27. Gef. C 43.30, 43.24, H 7.44, 7.37.

Um einen Überblick zu gewinnen, wieweit man es in dem Rohprodukt mit reinem α -Glucosid oder einem Gemisch mit β -Glucosid zu tun hatte, wurden 3 g Tetrachlor-Körper genau wie oben mit Methylalkohol und Silbercarbonat zur Reaktion gebracht, wieder mit Ammoniak verseift, dann aber nach dem Verdampfen des Hauptteils des Methylalkohols bei 15 mm und 40^0 noch 3-4 Min. bei 0.2 mm Druck bei $80-90^0$ gehalten. Der größtenteils krystallinische Kolben-Inhalt wurde mit Wasser quantitativ in einen 100-ccm-Kolben übergespült und bis zur Marke aufgefüllt. Die kaum gefärbte und getrübe Lösung ergab beim Aufkochen mit Fehlingscher Lösung keine Reduktion. Sie reagierte alkalisch gegen Methylrot, gegen Phenolphthalein aber sauer.

Die Drehung der Lösung im 2-dcm-Rohr betrug $[\alpha]_D^{15} = +2.54 \pm 0.01^0$. Da aus 3 g angewandten Tetrachlor-Körpers bei verlustfreiem Arbeiten sich 1.24 g Methylglucosid gebildet haben würden, läßt sich ausrechnen, daß diese beobachtete Drehung bei Ausschluß jeden Verlustes bedingt wäre durch eine Mischung von 0.88 g α -Methylglucosid mit 0.36 g β -Glucosid, oder einen Gehalt der Mischung an α -Glucosid von 71%.

Nun ist die errechnete Ausbeute an α -Glucosid aber sicher zu niedrig, weil in der polarisierten Flüssigkeit nicht mehr die gesamten 1.24 g Glucosid vorhanden waren, sondern weniger, da beispielsweise in der großen Menge an Silber-Niederschlag ein gewisser Prozentsatz an Reaktionsprodukten verblieben war. Die Größe dieses Verlustes läßt sich schätzen aus der Bestimmung des Stickstoff-Gehalts der Lösung. Bei der Verseifung der Acylgruppen mit Ammoniak haben sich auf 1 Mol. Glucosid 3 Mol. Acetamid und 1 Mol. Trichlor-acetamid gebildet, also sind 4 Atome Stickstoff auf 1 Mol. Glucosid vorhanden. Jene 3 g Tetrachlor-Körper sollten 0.3577 g Stickstoff in die Lösung hineinbringen, während bei einer Bestimmung nach Kjeldahl 0.3049 g, d. h. nur 85.2% d. Th. gefunden wurden. Nimmt man beim Glucosid die gleichen Verluste an, legt man als Gewicht des Glucosid-Gemisches statt jener 1.24 g nur 85.2% oder 1.057 g zugrunde,

so errechnet sich aus obiger Drehung eine Ausbeute an α -Methyl-glucosid von 81 %. Diese Zahl wird aber etwas zu günstig sein, da infolge der Flüchtigkeit der Amide beim Eindampfen der Lösung etwas verlorengegangen sein kann. Der wirkliche Wert der Ausbeute wird also zwischen 71 % und 81 % liegen; er ist als ungefährer Mittelwert mit 75 % angenommen.

Einem Einwand mußte bei dieser Berechnungsart der Ausbeute aus der Drehung noch begegnet werden, nämlich dem, daß die spez. Drehung von Methyl-glucosid eine andere ist, wenn drei Mol. Acetamid und ein Mol. Trichlor-acetamid in der wäßrigen Lösung zugegen sind. Ein entsprechender Versuch mit einem künstlich hergestellten Gemisch von reinem α -Methyl-glucosid mit obigen Mengen an Amidem ergab, daß diese Befürchtung unzutreffend ist. Die spez. Drehung war innerhalb der Fehlergrenzen identisch mit der von reinem α -Glucosid allein.

Schließlich wurden noch Versuche angestellt, wie die Temperatur bei der Umsetzung des Tetrachlor-Körpers mit Methylalkohol und Silbercarbonat die Ausbeute an α -Glucosid beeinflusst. Es wurde im Gegensatz zu den anderen Versuchen bei Zimmer-Temperatur gearbeitet.

2.82 g Tetrachlor-Körper wurden in 80 ccm wasserfreiem Äther gelöst, 120 ccm Methylalkohol und 5 g Silbercarbonat zugegeben und etwa 60 Stdn. bei Zimmer-Temperatur geschüttelt. Von Vorversuchen war bekannt, daß die Umsetzung etwa 50 Stdn. erfordert. Nach dieser Zeit wurde im Vakuum auf die Hälfte eingedunstet, um den Äther zu vertreiben, dann mit Ammoniak verseift und nach 24-stdg. Stehen ganz eingedampft. Der Rückstand löste sich in Wasser nur unvollständig, unter Abscheidung einer Flüssigkeit, die auf Grund der starken Isonitril-Reaktion und des hohen Chlorgehalts wohl im wesentlichen Trichlor-essigsäure-methylester war. Da die Trübung durch Filtrieren nur teilweise fortzuschaffen war, mußte in einem Gemisch von Wasser und Aceton polarisiert werden. Auf 250 ccm aufgefüllt, wurde im 2-dcm-Rohr eine Drehung von $+0.66 \pm 0.01^0$ gefunden. Unter Vernachlässigung etwaiger Verluste berechnet sich ein Gehalt an α -Methyl-glucosid von 54 %.

In einem Kontrollversuch wurde noch festgestellt, daß weder die Gegenwart von Aceton, noch die der Säureamide die spez. Drehung wesentlich beeinflusst.

Das Arbeiten in der Siedehitze ist bei weitem vorteilhafter und gestattet einen viel größeren Anteil des Tetrachlor-Körpers in α -Glucosid zu verwandeln.

Daß die Versuche bei dem Interesse, das die Synthese von α -Glucosiden beanspruchen kann, fortgesetzt werden, bedarf wohl keiner besonderen Betonung.

252. Richard Willstätter: Zur Frage der protein-artigen Natur der Saccharase.

(Eingegangen am 15. Juni 1926.)

Hinsichtlich der Schlußfolgerungen, die sich aus den Analysen zahlreicher und verschiedenartiger Präparate von Saccharase ziehen lassen, suchen die an der Arbeit beteiligten Forscher, wie die Mitteilung „Saccharase (VI.)“ von H. v. Euler und K. Josephson¹⁾ zeigt, Übereinstimmung zu erzielen.

¹⁾ B. 59, 1129 [1926].