

Titration, tatsächlich in den Hintergrund treten, und daß ferner bei der Verbrennung mit dem Platin-Kontakt zur Aufnahme störender Verbrennungsprodukte doch wieder sekundäre Hilfsmittel erforderlich werden, die ihrerseits ähnliche Fehlerquellen aufweisen werden. Im übrigen verliert diese besondere Frage auch dadurch an Bedeutung, daß fehlerhafte Wirkungen ähnlicher Art auch noch in anderen Teilen der Verbrennungs-Apparatur zur Geltung kommen.

Innsbruck, März 1930.

### 139. H. Bredereck: Zur Konstitution der Trehalose.

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

(Eingegangen am 12. März 1930.)

Die von Hudson<sup>1)</sup> berechneten Drehungswerte der Trehalose haben ergeben, daß die Trehalose als eine ( $\alpha, \alpha$ )-Glucosido-glucose aufgefaßt werden kann. Mit dieser Annahme der Konfiguration stehen jedoch die Spaltungsversuche von Weidenhagen<sup>2)</sup> mit  $\alpha$ - und  $\beta$ -Glucosidase in gewissem Widerspruch; als Ursache hierfür konnte man unbekannte, konstitutive Verhältnisse der Trehalose annehmen. Im Gegensatz hierzu stimmte mit der bisherigen Konstitution der Befund von Schlubach<sup>3)</sup> überein, der auf Grund der Drehung der Hydrolysen-Flüssigkeit von Oktamethyl-trehalose die Bildung von zwei Mol. *n*-2.3.4.6-Tetramethyl-glucose annimmt. Die Trityl-Methode von Helferich<sup>4)</sup> und die damit ermöglichte Darstellung eines neuen Anhydro-zuckers<sup>5)</sup> gab nun die Möglichkeit, die Frage nach der Konstitution der Trehalose einer erneuten Untersuchung zu unterziehen.

Die Behandlung von wasser-freier Trehalose mit Tritylchlorid,  $(C_6H_5)_3C.Cl$ , in Pyridin führte zur 6.6'-Ditrityl-trehalose (I), die Acetylierung dieser Substanz mit Essigsäure-anhydrid in Pyridin zu einer Hexacetyl-6.6'-ditrityl-trehalose (II). Durch Behandlung einer Lösung dieser Verbindung in Eisessig mit einer Lösung von Bromwasserstoff in Eisessig<sup>5)</sup> konnten die beiden Tritylreste abgespalten und eine 2.3.4.2'.3'.4'-Hexacetyl-trehalose (III) isoliert werden, die durch Acetylierung mit Essigsäure-anhydrid in Pyridin in die vollacetylierte Oktacetyl-trehalose übergeführt werden konnte. Mit *p*-Toluol-sulfochlorid in Pyridin konnte aus der Hexacetyl-trehalose der Di-*p*-toluol-sulfonsäure-ester der Hexacetyl-trehalose (IV) und daraus durch Erhitzen der Substanz im Bombenrohr mit Jodnatrium und Aceton Hexacetyl-trehalose-6.6'-dijodhydrin (V) dargestellt werden. Aus dem Dijodhydrin ließen sich, entsprechend wie bei der Glucose<sup>6)</sup>, durch Schütteln mit Silberfluorid in Pyridin 2 Mol. Jodwasserstoff abspalten und eine ungesättigte Verbindung, das Hexacetyl-trehalosedien (VI) isolieren. Die Verbindung

<sup>1)</sup> Journ. Amer. chem. Soc. **38**, 1566.

<sup>2)</sup> Ztschr. Ver. Dtsch. Zuckerind. **79**, techn. Teil, März-Heft.

<sup>3)</sup> B. **58**, 1178—1184 [1925].

<sup>4)</sup> A. **440**, 1—18.

<sup>5)</sup> Helferich u. Klein, A. **450**, 222.

<sup>6)</sup> Helferich u. Himmen, B. **61**, 1830 [1928].



Kochen in der alkalischen Lösung nur sehr langsam die Acetyle abgespalten werden, wurden zunächst nach der Zemplénschen Methode die Acetyle abgespalten. Auch das freie Trehalosedien, das bisher nur als Sirup vorlag, ergab ebenfalls keine Reduktion Fehlingscher Lösung. Es müssen mithin in beiden Glucose-Resten Pyran-Ringe vorliegen. In 1-n. Salzsäure-Lösung war die Disaccharid-Bindung bei Zimmer-Temperatur bereits nach 2 Min. gespalten, mit Fehlingscher Lösung trat bereits in der Kälte starke Reduktion ein. Trehalosedien wird durch Säuren bei Zimmer-Temperatur in kurzer Zeit in Iso-rhamnonose<sup>8)</sup> (VII) gespalten, die durch Darstellung des Bis-[*p*-nitrophenyl-hydrazons] als solche identifiziert werden konnte.

Sämtliche Substanzen, mit Ausnahme des Trehalosediens, konnten in krystalliner Form gewonnen werden.

Da nach den bisherigen Untersuchungen von Helferich<sup>9)</sup> und Josephson<sup>10)</sup> nur primäre Hydroxyle mit Tritylchlorid in Reaktion treten, können wir auch im Falle der Trehalose auf Grund der Darstellung einer Ditrityl-trehalose zwei endständige Hydroxylgruppen annehmen. Die Bildung eines Fehlingsche Lösung nicht reduzierenden Trehalosediens zeigt, daß in den beiden Glucose-Resten der Trehalose Pyran-Ringe vorliegen.

Die vorliegende Arbeit bringt keine Entscheidung über die Konfiguration am 1- bzw. 1'-Kohlenstoffatom.

Für die Ergebnisse der Spaltungsversuche von Weidenhagen mit  $\alpha$ - und  $\beta$ -Glucosidase müssen mithin andere als konstitutive Verhältnisse verantwortlich gemacht werden.

Hrn. Prof. Helferich bin ich für die wertvollen Ratschläge und das Interesse, das er jederzeit der Arbeit entgegenbrachte, zu größtem Dank verpflichtet. Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft danke ich für die mir durch die Vermittlung von Hrn. Prof. Helferich zur Verfügung gestellten Mittel.

### Beschreibung der Versuche.

#### 6.6'-Ditrityl-trehalose.

13.5 g getrocknete, wasser-freie Trehalose (1 Mol.) und 23 g Tritylchlorid (2 Mol.) werden in 70 ccm über Bariumoxyd getrocknetem Pyridin gelöst. Die klare, gelbbraune Lösung wird 24 Stdn. bei Zimmer-Temperatur aufbewahrt, dann unter Rühren in etwa 100 ccm Eiswasser eingetroppt. Der dabei entstandene, amorphe Niederschlag wird abgesaugt, mit Wasser ausgewaschen und an der Luft getrocknet. Ausbeute an luft-trocknem Rohprodukt: 30 g.

Das Rohprodukt kann direkt zur folgenden Acetylierung verwandt werden. Krystallin erhält man die Substanz durch Lösen des Rohproduktes in 100 Volum-Tln. absol. Alkohol in der Wärme. Nach 3-maligem Umkrystallisieren aus absol. Alkohol zeigt die Substanz den Schmp. 278—281° (korr.).

Zur Entfernung von Krystall-Alkohol (2.5 Mol.) wird die Substanz bei 12 mm und 136° bis zur Konstanz getrocknet.

4.702 mg Sbst.: 12.290 mg CO<sub>2</sub>, 2.59 mg H<sub>2</sub>O.

C<sub>50</sub>H<sub>60</sub>O<sub>11</sub> (826.4). Ber. C 72.6, H 6.1. Gef. C 71.3, H 6.16.

<sup>8)</sup> Helferich u. Himmen, B. 62, 2136—2141 [1929].

<sup>9)</sup> Z. B. A. 440, 1—18; B. 58, 872—886 [1925], 59, 79—85 [1926].

<sup>10)</sup> A. 472, 230.

Der zu niedrige Wert für Kohlenstoff kann wohl, wie auch bei den übrigen freien Trityl-zuckern, durch hartnäckiges Anhaften von Krystall-Lösungsmittel erklärt werden.

Die Bestimmung der Drehung wurde ausgeführt in Pyridin.

$$1. [\alpha]_D^{19} = +1.19^{\circ} \times 0.995 / 0.0259 \times 0.5 \times 1.471 = +62.2^{\circ}.$$

$$2. [\alpha]_D^{19} = +1.30^{\circ} \times 0.9773 / 0.0275 \times 0.5 \times 1.471 = +62.8^{\circ}.$$

Die Substanz löst sich leicht in Pyridin; in Alkohol, Methanol, Chloroform, Aceton, Eisessig, Äther, Ligroin, Petroläther ist wie schwer bis unlöslich.

#### Hexacetyl-6.6'-ditrityl-trehalose.

30 g Ditrityl-trehalose (Rohprodukt) werden in 150 ccm über Bariumoxyd getrocknetem Pyridin gelöst. Zur Lösung werden unter Kühlung 60 ccm Essigsäure-anhydrid zugegeben. Die bis zur Trübung mit Wasser versetzte Lösung wird unter Rühren in etwa 2 l Eiswasser eingegossen. Das Rohprodukt wird abgesaugt, mit Wasser ausgewaschen und an der Luft getrocknet. Ausbeute an luft-trockner Substanz: 42.5 g.

Das Rohprodukt wird in 100 ccm absol. Alkohol auf dem Wasserbade erwärmt. Noch bevor es restlos in Lösung gegangen ist, beginnt die Substanz, sich bereits in krystalliner Form abzuscheiden. Ausbeute = 23.7 g, Schmp. 235–238° (korr.).

Ohne weitere Reinigung kann die Substanz zum folgenden Versuch verwandt werden. Zur Analyse wurde noch 2-mal aus absol. Alkohol umkrystallisiert. Schmp. 245–247° (korr.).

4.877 mg Sbst.: 12.310 mg CO<sub>2</sub>, 2.55 mg H<sub>2</sub>O.

C<sub>62</sub>H<sub>82</sub>O<sub>17</sub> (1078.5). Ber. C 68.98, H 5.8. Gef. C 68.84, H 5.85.

Die Bestimmung der Drehung wurde in Chloroform ausgeführt.

$$1. [\alpha]_D^{21} = +2.51^{\circ} \times 1.5166 / 0.0456 \times 0.5 \times 1.470 = +113.6^{\circ};$$

$$2. [\alpha]_D^{19} = +2.10^{\circ} \times 1.3332 / 0.0329 \times 0.5 \times 1.471 = +115.7^{\circ}.$$

Die Löslichkeiten der Substanz in organischen Lösungsmitteln entsprechen denen einer Trityl-acetyl-hexose. In Chloroform, Aceton, Pyridin, Eisessig ist sie leicht löslich, schwerer in Alkohol, Methanol, unlöslich in Wasser, Ligroin und Petroläther.

#### 2.3.4.2'.3'.4'-Hexacetyl-trehalose.

24 g Ditrityl-hexacetyl-trehalose (Schmp. 235–238°) werden auf dem Wasserbade in 160 ccm Eisessig gelöst. Die auf 5° abgekühlte Lösung wird zu 17 ccm einer auf 0° abgekühlten Lösung von Bromwasserstoff in Eisessig zugegeben. Das ausfallende Tritylbromid wird abgesaugt, die Eisessig-Lösung in Wasser gegossen und mit Chloroform ausgeschüttelt. Die Chloroform-Lösung wird mit Wasser, dann mit Kaliumbicarbonat-Lösung und schließlich nochmals mit Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum bei 30° zum Sirup eingedampft. Der Rückstand wird in 40 ccm heißem absol. Alkohol aufgenommen. Das beim Erkalten auskrystallisierende Produkt wird abgesaugt. Aus der Mutterlauge kann durch Versetzen mit Petroläther noch mehr Substanz gewonnen werden. Ausbeute: 6.4 g = 48% d. Th. Schmp. 91–94° (korr.). Zur Analyse wurde noch 2-mal umkrystallisiert, durch Lösen in Alkohol und Fällen mit Petroläther. Schmp. 93–96° (korr.).

4.727 mg Sbst.: 8.315 mg CO<sub>2</sub>, 2.15 mg H<sub>2</sub>O.

C<sub>24</sub>H<sub>34</sub>O<sub>17</sub> (594.27). Ber. C 48.46, H 5.77. Gef. C 48.00, H 5.10.

Die Bestimmung der Drehung wurde in Chloroform ausgeführt.

$$1. [\alpha]_D^{19} = +2.08^{\circ} \times 1.5857/0.0283 \times 0.5 \times 1.472 = +158.3^{\circ};$$

$$2. [\alpha]_D^{19} = +2.36^{\circ} \times 1.6051/0.0323 \times 0.5 \times 1.472 = +159.3^{\circ}.$$

Die Substanz löst sich leicht in Aceton, Chloroform, Pyridin, schwerer in Alkohol und Äther. In den übrigen organischen Lösungsmitteln, wie Ligroin, Petroläther, ist sie unlöslich.

Nach mehrtägigem Stehen schied sich aus der Mutterlauge der Alkohol-Petroläther-Fällung ein zweites Produkt aus. Schmp. nach 3-maligem Umkrystallisieren aus Alkohol-Petroläther 118–121° (korr.); Ausbeute = 1.4 g. Misch-Schmp. mit der Substanz vom Schmp. 93–96° ergab keine Depression (105–110°, unscharf).

$$1. [\alpha]_D^{20} = +6.40^{\circ} \times 1.0900/0.0612 \times 0.5 \times 1.465 = +155.6^{\circ} \text{ (in Chloroform).}$$

Es liegt anscheinend ein Krystall-Isomeres zum erstbeschriebenen Produkt (Schmp. 93–96°) vor.

Die Hexacetyl-trehalose läßt sich durch Acetylieren mit Essigsäure-anhydrid in Pyridin in die bekannte Oktacetyl-trehalose überführen. Diese läßt sich, außer auf dem in der Literatur<sup>11)</sup> beschriebenen Wege der Acetylierung mit Essigsäure-anhydrid und Zinkchlorid ebensogut durch Acetylieren mit Essigsäure-anhydrid und Pyridin bzw. mit Essigsäure-anhydrid und Natriumacetat darstellen. Der Schmp. der 2-mal aus Alkohol umkrystallisierten Oktacetyl-trehalose beträgt 70–75°; nach dem Trocknen bei 61° und 12 mm liegt er bei 100–102° (korr.). Nach Maquenne<sup>11)</sup> Schmp. 97–98°.

Durch Tritylierung läßt sich die Hexacetyl-trehalose (Schmp. 93–96°) wieder in die Ditrityl-hexacetyl-trehalose überführen. Schmp. 244–246° (korr.). Misch-Schmp. mit der oben beschriebenen Ditrityl-hexacetyl-trehalose 245° (korr.).

#### Hexacetyl-trehalose-6.6'-di-*p*-toluol-sulfonsäure-ester.

1.5 g Hexacetyl-trehalose (Schmp. 91–94°) (1 Mol.) und 1.8 g *p*-Toluol-sulfonsäure-chlorid (4 Mol.) werden in 8 ccm über Bariumoxyd getrocknetem Pyridin gelöst. Nach 12-stdg. Aufbewahren bei Zimmer-Temperatur haben sich meist große Mengen an salzsauren Salzen abgeschieden, die bei Zusatz von Aceton in Lösung gehen. Die Lösung wird in Wasser eingerührt, der entstehende Niederschlag abgesaugt, getrocknet und aus 40 ccm absol. Alkohol umkrystallisiert. Ausbeute: 1.8 g = 79% d. Th. Schmp. 159–172° (korr.). Zur Analyse wurde noch 2-mal aus absol. Alkohol umkrystallisiert: Schmp. 170–172° (korr.).

4.791 mg Sbst.: 8.86 mg CO<sub>2</sub>, 2.20 mg H<sub>2</sub>O. — 10.931 mg Sbst.: 5.32 mg BaSO<sub>4</sub>. C<sub>38</sub>H<sub>46</sub>O<sub>21</sub>S<sub>2</sub> (902.51). Ber. C 50.52, H 5.14, S 7.1. Gef. C 50.43, H 5.14, S 6.17.

Die Drehung wurde in Chloroform bestimmt.

$$1. [\alpha]_D^{20} = +2.32^{\circ} \times 1.0269/0.0238 \times 0.5 \times 1.471 = +136.1^{\circ};$$

$$2. [\alpha]_D^{20} = +2.58^{\circ} \times 1.2852/0.0338 \times 0.5 \times 1.471 = +133.4^{\circ}.$$

Die Substanz löst sich leicht in Chloroform, Aceton, Pyridin, Eisessig, schwerer in Äther, Alkohol, Methanol; unlöslich ist sie in Wasser, Ligroin und Petroläther.

<sup>11)</sup> Maquenne, B. 24, Ref. 554 [1891]; Compt. rend. Acad. Sciences 112, 947 [1891].

## Hexacetyl-trehalose-6.6'-dijodhydrin.

7.6 g Hexacetyl-trehalose-6.6'-di-*p*-toluol-sulfonsäure-ester und 7.6 g entwässertes Natriumjodid werden in 35 ccm Aceton 24 Stdn. im Einschlußrohr auf 130° erhitzt. Die Aceton-Lösung wird zusammen mit dem ausgeschiedenen toluol-sulfonsauren Natrium in etwa 1 l Wasser eingerührt. Der Niederschlag wird abgesaugt, getrocknet und aus 80 ccm absol. Alkohol umkrystallisiert. Schmp. 187–191° (korr.). Ausbeute: 6.1 g = 89% d. Th. Zur Analyse wurde nochmals aus absol. Alkohol umkrystallisiert: Schmp. 191–193° (korr.).

4.299 mg Subst.: 5.635 mg CO<sub>2</sub>, 1.58 mg H<sub>2</sub>O.

C<sub>24</sub>H<sub>32</sub>O<sub>11</sub>J<sub>2</sub> (814.1). Ber. C 35.38, H 3.96.

Die Bestimmung der Drehung wurde in Chloroform ausgeführt.

$$1. [\alpha]_D^{195} = +1.93^{\circ} \times 1.3229 / 0.038 \times 0.5 \times 1.470 = +92.1^{\circ};$$

$$2. [\alpha]_D^{195} = +1.81^{\circ} \times 1.1596 / 0.031 \times 0.5 \times 1.471 = +92.3^{\circ}.$$

Die Substanz löst sich leicht in Chloroform, Pyridin, Aceton, Eisessig, schwerer in Äther; in Alkohol und Methanol ist sie schwer löslich, unlöslich in Ligroin und Petroläther.

## Hexacetyl-trehalosedien.

1.2 g getrocknetes Hexacetyl-trehalose-dijodhydrin und 1.2 g über Schwefelsäure getrocknetes Silberfluorid werden in 9 ccm über Bariumoxyd getrocknetem Pyridin 48 Stdn. geschüttelt. Die Pyridin-Lösung wird in etwa 300 ccm Wasser gegossen, sodann mehrmals mit insgesamt 300 ccm Äther extrahiert. Die ätherische Lösung wird mit Kaliumbisulfat-Lösung, dann nochmals mit Wasser gewaschen, mit Tierkohle geklärt und im Vakuum bei 30–35° eingedampft. Der teilweise kristalline Rückstand wird in der Wärme in 15 ccm Alkohol gelöst, das auskrystallisierte Produkt wird abgesaugt und getrocknet. Ausbeute: 0.2 g = 24.3% d. Th. Schmp. 191–200° (korr.). Zur Analyse wurde noch 2-mal aus absol. Alkohol umkrystallisiert: Schmp. 205–207° (korr.).

4.320 mg Subst.: 8.140 mg CO<sub>2</sub>, 2.08 mg H<sub>2</sub>O.

C<sub>24</sub>H<sub>30</sub>O<sub>18</sub> (558.24). Ber. C 51.59, H 5.42. Gef. C 51.39, H 5.39.

Die Drehung wurde in Chloroform bestimmt.

$$1. [\alpha]_D^{211} = +2.14^{\circ} \times 1.0665 / 0.0289 \times 0.5 \times 1.471 = +107.4^{\circ};$$

$$2. [\alpha]_D^{211} = +2.93^{\circ} \times 1.1048 / 0.041 \times 0.5 \times 1.471 = +107.5^{\circ}.$$

Die Substanz löst sich leicht in Chloroform, Aceton, Pyridin, Eisessig, schwerer in Äther. Schwerlöslich ist sie in Alkohol und Methanol, unlöslich in Ligroin und Petroläther. Fehlingsche Lösung wird auch bei längerem Kochen nicht reduziert.

## Verseifung des Hexacetyl-trehalosediens (nach Zemplén).

0.2 g Hexacetyl-trehalosedien werden in 0.7 ccm über Chlorcalcium getrocknetem Chloroform und 0.3 ccm einer 1-proz. Natrium-methylat-Lösung 1 Stde. bei 0°, dann 3 Stdn. bei Zimmer-Temperatur aufbewahrt. Die gelatinös erstarrte Masse wird mit 2 ccm Chloroform und 5 ccm Wasser versetzt, die wäßrige Schicht abgetrennt und im Vakuum bei 30–35° eingedampft. Krystallisations-Versuche mit dem zurückbleibenden Sirup waren ergebnislos. Fehlingsche Lösung wurde auch beim

Kochen nicht reduziert. Nach 2 Min. langer Hydrolyse mit  $n/1$ -Salzsäure bei Zimmer-Temperatur wurde Fehlingsche Lösung bereits in der Kälte stark reduziert.

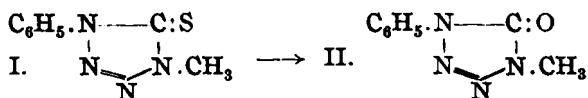
Bis- $[p$ -nitrophenyl-hydraxon] der Iso-rhamnonose.

0.1 g Trehalosedien wird in 1 ccm  $n/10$ -Schwefelsäure gelöst und die Lösung  $1\frac{1}{2}$  Stdn. bei Zimmer-Temperatur aufbewahrt. Sodann wird die Lösung mit einer eingestellten Baryt-Lösung genau neutralisiert, vom ausgefallenen Bariumsulfat abfiltriert und im Vakuum auf 0.5 ccm eingengt. Der Rückstand wird mit einer Lösung von 0.4 g  $[p$ -Nitro-phenyl]-hydrazin in 5 ccm Eisessig versetzt; sodann werden etwa 20 ccm Wasser hinzugegeben. Nach einigen Tagen wird der rotbraune, krystalline Niederschlag abgesaugt und nochmals umkrystallisiert durch Lösen in Alkohol und Fällen mit Wasser: Schmp.  $116-118^{\circ}$  (korr.). Misch-Schmp. mit dem früher dargestellten Bis- $[p$ -nitrophenyl-hydraxon] der Iso-rhamnonose:  $117-119^{\circ}$  (korr.).

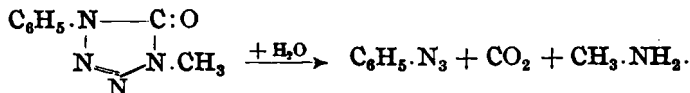
#### 140. R. Stollé, F. Pollecoff und Fr. Henke-Stark: Über Tetrazol-dihydrid-Abkömmlinge.

(Eingegangen am 13. März 1930.)

Um die Konstitution des von R. Stollé und H. Perrey<sup>1)</sup> bei der reduktiven Spaltung von Bis- $[$ phenyl- $1$ -thio- $5$ -dihydro- $4,5$ -tetrazolyl- $4$ - $]$ -methans<sup>2)</sup> erhaltenen Phenyl- $1$ -methyl- $4$ -thio- $5$ -tetrazol-dihydrids- $4,5$  (I) zu beweisen, wurde letzteres zunächst in die Oxoverbindung (II) übergeführt,



diese dann, wenn auch nicht quantitativ, durch Behandeln mit starker Natronlauge im Phenylazid, Kohlensäure und Methylamin gespalten<sup>3)</sup>:



<sup>1)</sup> B. 63, 670 [1930].

<sup>2)</sup> B. 62, 1113 [1929].

<sup>3)</sup> Nach einer Mitteilung von Hrn. Prof. Dr. K. Fr. Schmidt hat im wissenschaftlichen Laboratorium der Firma Knoll A.-G. Hr. Dr. Wolf einen Abkömmling des Tetrazol-dihydrids durch Einwirkung von feuchtem Silberoxyd auf das Anlagerungsprodukt von Jodmethyl an Cardiazol (Pentamethylen-tetrazol) gewonnen. Dasselbe spaltet bei der Einwirkung von Alkali Methylazid unter Bildung von  $\epsilon$ -Leucin-lactam ab:

