

nachgewiesen. 0.2988 g Sbst. in Wasser gelöst, die Hälfte des Wassers abdestilliert und der Rest im Vakuum-Exsiccator eingeengt. Glycerin-Bestimmung nach Zeisel und Fanto gab 0.1014 g AgJ, 0.0398 g oder 13.3 % Glycerin entsprechend. Nach Abziehen der für Alkohol und Glycerin berechneten Gefrierpunkts-Depressionen bleibt für das Inulin eine Depression übrig, die einem Molekulargewicht von ungefähr 3000 entspricht. Die Drehung, umgerechnet auf alkohol- und glycerin-freie Substanz, ist  $[\alpha]_D^{20} = -39.1^\circ$ .

#### Neuer Versuch nach Vogel und Pictet.

10 g Inulin (B. D. H.) und 15 g im Vakuum frisch destilliertes Glycerin wurden 3 Stdn. im Vakuum auf  $120^\circ$  erhitzt und nach dem Abkühlen in Methylalkohol gelöst. Diese Lösung wurde in 2 Teile (a und b) geteilt, die wie unten angegeben behandelt wurden.

a) Auf Zusatz von wasser-freiem Äther fiel eine zähe Substanz aus. Sie wurde mehrmals und gründlich in einem Mörser mit absol. Alkohol verrieben, wobei sie in ein weißes Pulver überging, das auf dem Filter gut mit absol. Alkohol gewaschen und dann im Vakuum bei  $56^\circ$  getrocknet wurde. Leicht löslich in kaltem Wasser.

0.622 g Sbst. in 40 g Wasser:  $\Delta = 0.056^\circ$ , Molgew. = 528,  $[\alpha]_D^{20} = -35.0^\circ$ . Verdünnt mit 40 ml Wasser und destilliert: Destillat 40 ml:  $\Delta = 0.0425^\circ$ . Alkohol nachgewiesen. Im Rest nach Einengen Glycerin-Bestimmung: 0.0275 g AgJ = 0.0108 g oder 1.8 % Glycerin.

Berechnet Gefrierpunkts-Depression für Glycerin:  $\Delta = 0.0055^\circ$  + Depress. für Alkohol (+ Methylalkohol):  $\Delta = 0.0425^\circ = 0.048^\circ$ ; gef.  $\Delta = 0.056^\circ$ , Diff. =  $0.008^\circ$ , was einem Mol.-Gew. des Inulins von 3700 entspricht. Die Drehung, auf alkohol- und glycerin-freie Substanz umgerechnet, ist  $[\alpha]_D^{20} = -38.2^\circ$ .

b) Das Inulin wurde durch Zusatz von absol. Alkohol gefällt. Nach dem Filtrieren und Waschen wurde in Wasser gelöst und mit Alkohol gefällt. Der Niederschlag wurde noch einmal in Wasser gelöst, mit Alkohol gefällt, filtriert, mit Alkohol gewaschen und 2 Stdn. im Hochvakuum bei  $111^\circ$  über  $P_2O_5$  getrocknet. Das in dieser Weise zurückgewonnene Inulin enthielt noch etwas Alkohol und Glycerin adsorbiert, wie die folgende Analyse zeigt:

0.663 g Sbst. in 40 g Wasser:  $\Delta = 0.020^\circ$ , Molgew. 1570. Verdünnt und destilliert: 40 ml Destillat:  $\Delta = 0.0125^\circ$ . Im Rest 0.3 % Glycerin.  $[\alpha]_D^{20} = -39.1^\circ$ .

Dem Statens Videnskabelige Forskningsfond in Oslo bin ich für die Unterstützung dieser Arbeit zu Dank verpflichtet.

### 126. A. Windaus und A. Lüttringhaus: Über das Verhalten des Ergosterins und einiger seiner Derivate gegenüber Maleinsäure-anhydrid.

[Aus d. Allgem. Chem. Univ.-Laborat. Göttingen.]

(Eingegangen am 7. Februar 1931.)

Mit Einverständnis von Hrn. Prof. O. Diels und Hrn. Dr. Alder haben wir ihre Methode zum Nachweis konjugierter Doppelbindungen mittels Maleinsäure-anhydrids auf Ergosterin und seine Derivate übertragen.

Je nach ihrem Verhalten zu diesem Reagens lassen sich die Ergosterin-Abkömmlinge in drei Gruppen einteilen: Die erste Gruppe enthält diejenigen Derivate, die bereits nach mehrtägigem Stehen bei Zimmer-Tempe-

ratur oder nach mehrstündigem Erhitzen auf 80° eine weitgehende Kondensation mit Maleinsäure-anhydrid eingehen. Hierzu gehören das Dehydroergosterin<sup>1)</sup>, C<sub>27</sub>H<sub>40</sub>O, ferner eines der drei Iso-ergosterine<sup>2)</sup>, die bei der Einwirkung von Mineralsäuren auf Ergosterin entstehen, und schließlich gewisse Bestrahlungsprodukte des Ergosterins.

Eine zweite Gruppe umfaßt diejenigen Derivate des Ergosterins, die bei Zimmer-Temperatur praktisch gar nicht, bei 80° nur langsam, dagegen bei 135° im Laufe einiger Stunden sehr weitgehend mit Maleinsäure-anhydrid reagieren. Zu dieser Gruppe zählt das Ergosterin selbst. Der Umstand, daß sich das Ergosterin bei niedriger Temperatur nicht mit Maleinsäure-anhydrid verbindet, hat Windaus seinerzeit zu der irrigen Annahme veranlaßt, daß Ergosterin und Maleinsäure-anhydrid keine Additionsverbindung liefern<sup>3)</sup>.

Zu einer dritten Gruppe gehören diejenigen Ergosterin-Derivate, die bei Zimmer-Temperatur und bei 80° gar nicht und bei 135° innerhalb von Stunden nur wenig oder gar nicht mit Maleinsäure-anhydrid reagieren. In diese dritte Gruppe gehören zwei der durch Säuren gebildeten Iso-ergosterine, ferner Ergosterin D<sup>4)</sup>, Ergosterin F<sup>5)</sup>, Dihydroergosterin<sup>6)</sup> und endlich die Überbestrahlungsprodukte des Ergosterins, das Suprasterin I und II<sup>7)</sup>.

Während wir es für wahrscheinlich halten, daß die Vertreter der ersten und zweiten Gruppe, entsprechend den Anschauungen von Diels und Alder, ein System konjugierter Doppelbindungen besitzen, ist uns dies für die dritte Gruppe zweifelhaft; es scheint vielmehr nicht ausgeschlossen, daß die hier eintretende geringe Reaktion durch ein bei der hohen Temperatur gebildetes Umlagerungsprodukt bedingt ist.

Um den Grad der Kondensation quantitativ zu bestimmen, sind wir folgendermaßen verfahren: Nachdem das Ergosterin-Derivat und das Maleinsäure-anhydrid miteinander in Berührung geblieben waren, wurde das angewandte Lösungsmittel abdestilliert und der Rückstand 2 Stdn. mit 10-proz. methylalkohol. Kalilauge erwärmt, damit ein evtl. gebildeter Maleinsäure-ester verseift würde. Dann wurde die alkohol. Lösung mit Wasser verdünnt und mehrmals mit Petroläther ausgeschüttelt; hierbei ging der neutrale, nicht in Reaktion gebrachte Anteil in den Petroläther und wurde nach dem Trocknen und Verdampfen der petrolätherischen Lösung zur Wägung gebracht. Aus der alkalischen Lösung wurde der saure Anteil durch Ansäuern mit Salzsäure abgeschieden und in Äther aufgenommen; nach dem Abdampfen des Äthers wurde die Säure in verd. Kalilauge gelöst, mit Salzsäure wieder ausgefällt und nach dem Trocknen im Hochvakuum zur Wägung gebracht<sup>8)</sup>.

## I. Ergosterin und Maleinsäure-anhydrid.

1. Ergosterin und Maleinsäure-anhydrid blieben in benzolischer Lösung 26 Stdn. bei +6° stehen; der nicht kondensierte Anteil betrug 99.8%. — 2. dasselbe, Zeit 42 Tage, 6°, Lösungsmittel Äther; nicht kondensiert 99.68%. — 3. Ergosterylacetat und

<sup>1)</sup> A. 465, 157 [1928].

<sup>2)</sup> unveröffentlicht.

<sup>3)</sup> Nachr. Ges. Wiss. Göttingen, 1929, 159.

<sup>4)</sup> A. 472, 191 [1929].

<sup>5)</sup> A. 477, 271 [1930].

<sup>6)</sup> A. 460, 231 [1928].

<sup>7)</sup> A. 488, 20 [1930].

<sup>8)</sup> Es liegt auf der Hand, daß das hier beschriebene Verfahren mannigfaltigen präparativen Zwecken dienstbar gemacht werden kann.

Maleinsäure-anhydrid, 22 Tage, +6°; nicht kondensiert 99.79%. — 4. Ergosterin und Maleinsäure-anhydrid, 2½ Stdn., 80°, Lösungsmittel Benzol; nicht kondensiert 86.3%. — 5. dasselbe, nicht kondensiert 87.1%. — 6. Ergosterin und Maleinsäure-anhydrid, 5 Stdn., 135°, Lösungsmittel Xylol; nicht kondensiert 11%.

Auf Grund dieser Vorversuche haben wir die Kondensation zwischen Maleinsäure-anhydrid und Ergosterin bzw. Ergosterylacetat in folgender Weise vorgenommen: 7 g Ergosterylacetat wurden mit 3 g Maleinsäure-anhydrid und 20 ccm Xylol 8 Stdn. in einer Druckflasche auf 135° erhitzt; das Xylol wurde dann im Vakuum abgedampft und der Rückstand mit 5 g Kaliumhydroxyd in 60 ccm Methylalkohol 2½ Stdn. erwärmt; nach Zugabe von Wasser wurde die alkalische Lösung 3-mal mit Petroläther ausgeschüttelt, die Petroläther-Auszüge wurden mit Wasser gewaschen, getrocknet und hinterließen dann beim Eindampfen 80 mg eines Rückstandes, der nach dem Krystallisieren aus Alkohol bei 173–174° schmolz und für  $[\alpha]_D$  die Drehung  $-17.5^\circ$  zeigte (Lösungsmittel Chloroform); er gab mit Dihydro-ergosterin keine Depression und lieferte ein Acetat, das sich durch Schmp., Misch-Schmp. und spez. Drehung als Dihydro-ergosterylacetat erwies<sup>9)</sup>. Aus der alkalischen Lösung wurde die „Ergosterin-Maleinsäure“ durch Ansäuern mit verd. Salzsäure ausgefällt und mit Äther aufgenommen. Die ätherische Lösung wurde mit Wasser gewaschen, mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und eingeengt. Nach Zugabe von Petroläther schied sich im Laufe einiger Tage eine krystalline Masse aus, die wiederholt aus Essigester-Petroläther und aus Chloroform-Äther umkrystallisiert wurde; sie bildet dann feine Nadeln, die bei 202–206° unt. Zers. schmelzen.

3.344, 3.306 mg Sbst.: 9.159, 9.056 mg CO<sub>2</sub>, 2.850, 2.795 mg H<sub>2</sub>O.

C<sub>31</sub>H<sub>46</sub>O<sub>5</sub>. Ber. C 74.64, H 9.30.

Gef. „ 74.71, 74.71, „ 9.54, 9.46.

14.9 mg Sbst., 2 ccm Aceton, l = 1 dm,  $\alpha = -1.33^\circ$ ;  $[\alpha]_D^{19} = -178.5^\circ$ .

Die Säure ist gut löslich in Methylalkohol, löslich in Äther, weniger leicht löslich in Aceton, schwer löslich in Chloroform und Essigester, sehr wenig löslich in Petroläther.

„Acetyl-Derivat des Ergosterin-Maleinsäure-anhydrids“: 1 g der Dicarbonsäure wurde mit 5 ccm Essigsäure-anhydrid 3 Stdn. auf dem Wasserbade erwärmt. Nach dem Einengen im Vakuum schied sich ein Brei von Krystallen ab, die aus Petroläther umgelöst wurden; sie bilden prächtige Nadeln vom Schmp. 200–201°, sind leicht löslich in Chloroform und Äther, schwerer löslich in Eisessig und ziemlich schwer löslich in Petroläther.

3.127, 3.133 mg Sbst.: 8.720, 9.260 mg CO<sub>2</sub>, 2.605, 2.700 mg H<sub>2</sub>O.

C<sub>33</sub>H<sub>46</sub>O<sub>5</sub>. Ber. C 75.81, H 8.88. Gef. C 76.05, 76.23, H 9.32, 9.12.

13.1 mg Sbst., 2 ccm Chloroform, l = 1 dm,  $\alpha = -0.955^\circ$ ;  $[\alpha]_D^{18} = -147.4^\circ$ .

Beim Erwärmen mit methylalkohol. Kalilauge liefert das Acetylderivat des „Ergosterin-Maleinsäure-anhydrids“ die Ergosterin-Maleinsäure zurück.

Bei der Hochvakuum-Destillation des „Ergosterylacetat-Maleinsäure-anhydrids“ wird Maleinsäure-anhydrid und merkwürdigerweise auch Bernsteinsäure-anhydrid abgespalten und ein Teil

<sup>9)</sup> Dieser Befund beweist in Übereinstimmung mit den Beobachtungen englischer und amerikanischer Forscher, daß dem Ergosterin ein gewisser Prozentsatz an Dihydro-ergosterin beigemischt ist (s. auch A. 488, 18, Anmerk. 4).

(des verwendeten Ergosterylacetats zurückgewonnen. Die Zurückgewinnung von Ergosterylacetat aus dem Kondensationsprodukt macht es außerordentlich wahrscheinlich, daß sich letzteres tatsächlich vom Ergosterylacetat und nicht etwa von einem Isomeren ableitet.

Hochvakuum-Destillation: 1.2 g „Ergosterylacetat-Maleinsäure-anhydrid“ wurden in 3 Portionen bei 0.005 mm Quecksilber-Druck und bei einer Temperatur zwischen 190–220° destilliert. Zwischen Destillations-Retorte und Vorlage war ein U-Rohr geschaltet, das in einer Kältemischung gekühlt wurde; in dem U-Rohr wurden insgesamt 0.032 g Maleinsäure-anhydrid aufgefangen, das durch Schmp. und Misch-Schmp. identifiziert wurde. In der Vorlage hatten sich 0.012 g derber Krystalle abgeschieden, die bei 119° schmolzen und aus Bernsteinsäure-anhydrid bestanden; sie wurden in Bernsteinsäure vom Schmp. 181° übergeführt und gaben mit reiner Bernsteinsäure keine Schmelzpunkts-Depression.

Der schwerflüchtige Anteil des Destillats war im Rohr der Retorte krystallin erstarrt; er wog 0.170 g und wurde mehrmals aus Methylalkohol umkrystallisiert; er schmolz unscharf und zeigte für  $[\alpha]_D$  den Wert  $-85.5^\circ$  in Chloroform, während reines Ergosterylacetat für  $[\alpha]_D$  die Drehung von  $-93^\circ$  liefert. Durch Verseifen mit methylalkohol. Kalilauge wurde das Acetylderivat in den entsprechenden Alkohol übergeführt, der nach dem Umkrystallisieren aus Petroläther bei 153–157° schmolz und für  $[\alpha]_D$  den Wert  $-118.2^\circ$  in Chloroform lieferte. Wenn die Werte für den Schmelzpunkt und die Drehung auch ein wenig niedriger liegen als für Ergosterin, so unterliegt es doch keinem Zweifel, daß der Stoff im wesentlichen aus Ergosterin bestand; er war mit Digitonin fällbar, lieferte die typischen Farbreaktionen mit Antimontrichlorid, Trichlor-essigsäure und Chloral-Hydrat; vor allem aber ergab er ein Spektrum, das qualitativ und quantitativ mit dem Spektrum des Ergosterins übereinstimmte. Zur weiteren Identifizierung wurde er über das Peroxyd in das Ergostadienatriol<sup>10)</sup> übergeführt, das sich durch Schmelzpunkt und Drehung, sowie durch seine sehr geringe Löslichkeit in Äther und durch Farbreaktionen besonders gut charakterisieren läßt. Hier ergab der Vergleich völlige Identität. Auf Grund dieser Ergebnisse halten wir es für sichergestellt, daß das Ergosterin ein System konjugierter Doppelbindungen enthält. Die Tatsache, daß das Ergosterin mit Natrium und Äthylalkohol in Dihydro-ergosterin überführbar ist, und daß es eine charakteristische Absorptionsbande bei 280  $\mu$  besitzt, sprechen ebenfalls für das Vorhandensein konjugierter Doppelbindungen.

## II. Dehydro-ergosterin und Maleinsäure-anhydrid<sup>11)</sup>.

3 g Dehydro-ergosterylacetat wurden mit 1.5 g Maleinsäure-anhydrid und einigen Kubikzentimetern Benzol 4 Stdn. auf dem Wasserbade erwärmt. Die Lösung, die anfangs gelb gefärbt war, hellte sich dabei langsam auf; nunmehr wurde das Benzol im Vakuum abdestilliert und der Rückstand wiederholt aus Essigsäure-anhydrid umkrystallisiert; hierbei erhält man lange, verfilzte Nadeln, die bei 205° schmelzen; sie lösen sich leicht in Chloroform und Äther und lassen sich auch aus Aceton-Wasser oder aus

<sup>10)</sup> A. 472, 199 [1929].

<sup>11)</sup> Dieser Versuch wurde von Hrn. cand. chem. Murke durchgeführt.

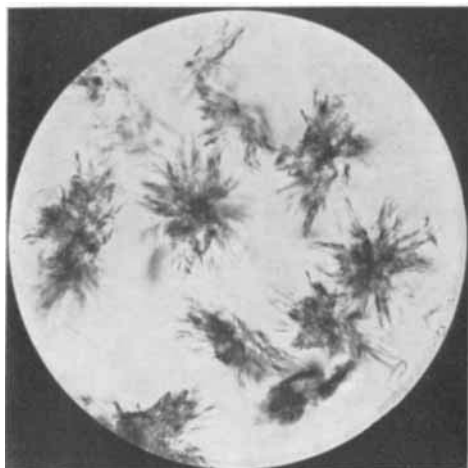


Fig. 1. Cellotriose (aus Alkohol).  
200-fach

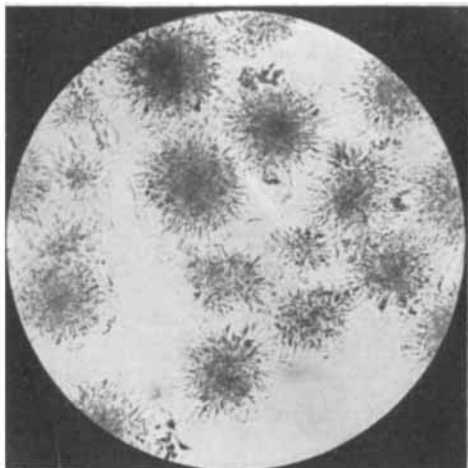


Fig. 2. Cellotetraose (aus verd. Alkohol).  
300-fach

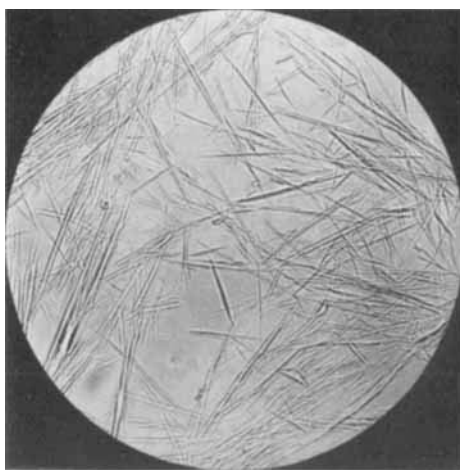


Fig. 3. Acetat der Cellotriose  
(aus Chloroform-Äther).  
150-fach



Fig. 4. Acetat der Cellotetraose  
(aus Chloroform-Äther).  
150-fach

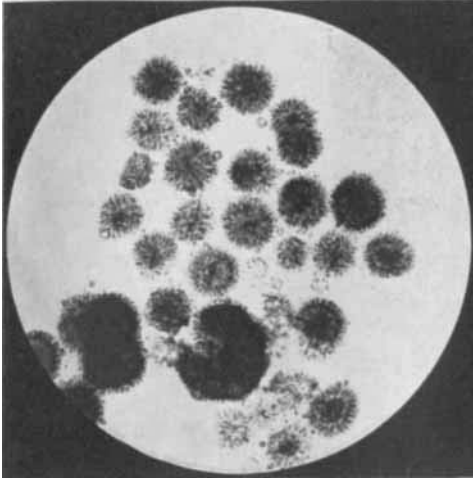


Fig. 5. Osazon der Cellotriöse (aus Wasser).  
150-fach

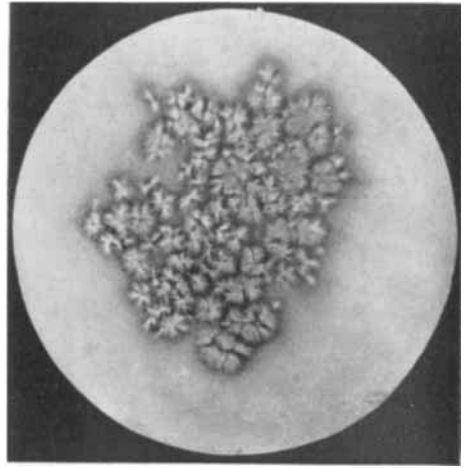


Fig. 6. Cellohexaose (aus verd. Alkohol).  
800-fach

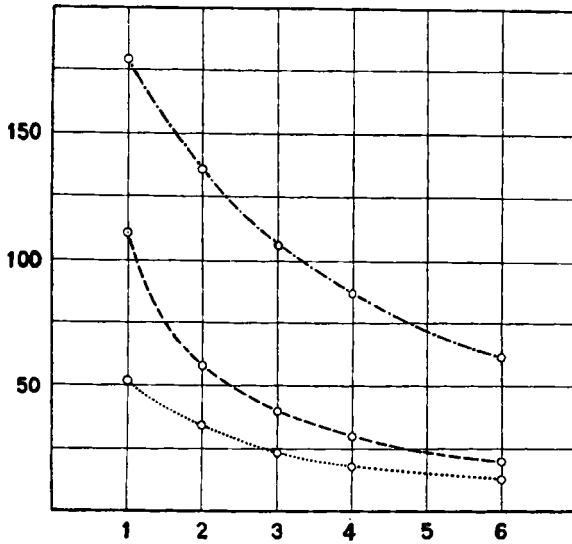


Fig. 7.

Konstanten von Oligosacchariden aus Cellulose, in Abhängigkeit von der Kettenlänge (Abszisse: Anzahl der Glucose-Reste. Strichpunktiert: Kupfer-Zahlen  $\times 100$ ; gestrichelt: Jod-Zahlen; punktiert: Enddrehungen in Wasser).

Essigsäure umkrystallisieren. Mit Antimontrichlorid gibt das Kondensationsprodukt keine Farbenreaktion.

4.991 mg Sbst.: 13.965 mg CO<sub>2</sub>, 3.86 mg H<sub>2</sub>O.

C<sub>33</sub>H<sub>44</sub>O<sub>5</sub>. Ber. C 76.10, H 8.52. Gef. C 76.31, H 8.65.

3.2 mg Sbst., 2 ccm Chloroform, l = 1 dm, α = +1.29°; [α]<sub>D</sub><sup>17</sup> = +69.35°.

Bemerkenswert ist es, daß im Gegensatz zum Dehydro-ergosterin, das seine Hauptbande bei 320 mμ besitzt, das Kondensationsprodukt erst unter 250 mμ eine Absorption zeigt. Durch Verseifung mit alkohol. Kalilauge läßt sich das „Dehydro-ergosterylacetat-Maleinsäure-anhydrid“ in die „Dehydro-ergosterin-Maleinsäure“ überführen. Diese schmilzt bei 170–175° unt. Zers. und liefert für [α]<sub>D</sub><sup>17</sup> den Wert von +66.01°. Beim Erwärmen mit Essigsäure-anhydrid wird sie wieder in das „Dehydro-ergosterylacetat-Maleinsäure-anhydrid“ vom Schmp. 205° zurückverwandelt.

Der I.-G. Farbenindustrie A.-G., Werk Elberfeld, und der Firma E. Merck-Darmstadt danken wir für das uns zur Verfügung gestellte Ergosterin. Der Forschungs-Gemeinschaft der Deutschen Wissenschaft sprechen wir für die Unterstützung unserer Arbeiten unseren Dank aus.

**127. L. Zechmeister und G. Tóth: Zur Kenntnis der Hydrolyse von Cellulose und der dabei auftretenden Zwischenprodukte. (III. Mitteil. in der von R. Willstätter und L. Zechmeister begonnenen Reihe.)**

[Aus d. Chem. Institut d. Universität Pécs, Ungarn<sup>1)</sup>].

(Eingegangen am 29. Januar 1931.)

Das hydrolytisch zerfallende Cellulose-Molekül muß eine Reihe von zusammengesetzten Zuckern durchlaufen, von denen lange Zeit hindurch nur der niedrigste Vertreter, die Cellobiose, bekannt war und auch diese nur auf indirektem Wege erhalten werden konnte. R. Willstätter und der eine von uns haben daher, sobald die lösende und glatt abbauende Wirkung von hochkonzentrierten Salzsäuren beobachtet und studiert worden war<sup>2)</sup>, Versuche unternommen, zur Gewinnung von wohldefinierten Oligosacchariden, ausgehend von jenem komplizierten Kohlenhydrat-Gemisch, das bei der vorzeitigen Unterbrechung der Reaktion vorliegt. Aus äußeren Gründen wurde diese Arbeit 1914 in unfertigem Zustand abgebrochen und das bishin Erreichte erst 15 Jahre später kurz veröffentlicht<sup>3)</sup>, um die mehrfach angezweifelte klassische Auffassung der Cellulose als einen hochmolekularen, durch Hauptvalenz-Bindungen gebildeten Körper, auch durch rein organisch-chemische Argumente zu stützen.

In jener Notiz wurde die Beschreibung von zwei krystallisierten Zuckern: Cellotriose, C<sub>18</sub>H<sub>32</sub>O<sub>16</sub>, und Cellotetraose, C<sub>24</sub>H<sub>42</sub>O<sub>21</sub>, unter Vorbehalt gegeben. Im Einverständnis mit Hrn. R. Willstätter haben wir in den letzten 2 Jahren einige Zwischenstufen der Cellulose-Hydrolyse eingehender

<sup>1)</sup> Vorgelegt in der Sitzung der III. Klasse der Ungarischen Akademie der Wissenschaften am 16. Februar 1931.

<sup>2)</sup> B. 46, 2401 [1913].

<sup>3)</sup> B. 62, 722 [1929].