

Essigsäure umkrystallisieren. Mit Antimontrichlorid gibt das Kondensationsprodukt keine Farbenreaktion.

4.991 mg Sbst.: 13.965 mg CO₂, 3.86 mg H₂O.

C₃₃H₄₄O₅. 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]_D¹⁷ = +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]_D¹⁷ 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, Ungarn¹⁾].

(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 war²⁾, 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 veröffentlicht³⁾, um die mehrfach angezeifelte 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, C₁₈H₃₂O₁₆, und Cellotetraose, C₂₄H₄₂O₂₁, unter Vorbehalt gegeben. Im Einverständnis mit Hrn. R. Willstätter haben wir in den letzten 2 Jahren einige Zwischenstufen der Cellulose-Hydrolyse eingehender

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

²⁾ B. 46, 2401 [1913].

³⁾ B. 62, 722 [1929].

untersucht. Das Ziel war, die alten Versuchsdaten nachzuprüfen, sie nötigenfalls zu verbessern, die genannten Oligosaccharide sicherzustellen und sie durch Darstellung von kristallisierten Derivaten näher zu kennzeichnen. Gleichzeitig fahndeten wir nach größeren Spaltstücken der Cellulose.

In den letzten Jahren, zum Teil erst seit Beginn dieser Neubearbeitung, hat sich der Gegenstand der Diskussion auf dem umstrittenen Gebiete der Polyosen-Struktur wesentlich verschoben, da die Argumente, die zugunsten von ganz kleinen Grundbausteinen zu sprechen schienen, allmählich in den Hintergrund treten mußten. Aus neuen Forschungen von H. Staudinger, K. Freudenberg, K. H. Meyer und H. Mark, M. Bergmann und ihren Mitarbeitern⁴⁾ ist ersichtlich, daß heute die Frage aktuell ist, ob die Größenordnung des Polymerisationsgrades der Glucose-Reste 100 oder 1000 in der Hauptvalenz-Kette beträgt. Dennoch verliert die genauere chemische Kenntnis von kristallisierten Oligosacchariden, die auch als Zwischenprodukte der natürlichen Cellulose-Synthese eine Rolle spielen können, nicht an Interesse. Ihre Existenz, wie auch andere Beobachtungen der vorliegenden Arbeit deuten mit Bestimmtheit auf lange Ketten hin. Sind die gefaßten Bruchstücke derselben nur klein, so beruht dies nicht auf prinzipiellen, sondern auf methodischen Gründen, auf der beschränkten Anwendbarkeit des Fraktionierverfahrens und auf der amorphen Beschaffenheit der in Gemischen vorliegenden höhermolekularen Spaltprodukte.

Gang und Hilfsmittel der Fraktionierung.

Der Grundgedanke war, den Angriff der kalten, hochkonzentrierten Salzsäure nach 3–4 Stdn. zu unterbrechen, das Wasserlösliche von Unlöslichem zu trennen und die Lösung mit Hilfe von Äthylalkohol weiter zu verarbeiten. Höhere Abbauprodukte aus Baumwolle, die in Wasser gerade noch löslich sind, werden schon durch Einstellen einer mittleren Alkohol-Konzentration sofort niedergeschlagen; geht man aber schrittweise zu niedrigeren Zuckern über, so erhöht sich der zum Fällen erforderliche Alkohol-Gehalt. Die nur aus ganz wenigen Glucose-Resten aufgebauten Saccharide geben meist keine festen Niederschläge mehr, sondern nur sirupöse Substanzen. Ihnen kommt aber die Eigenschaft zu, allmählich, unter Umständen nur sehr langsam, Krystalle zu bilden, falls die Zusammensetzung des Mediums richtig getroffen wird. In manchen Fällen fügt man den Alkohol zweckmäßig nur anteilweise, nämlich in dem Maße zu, wie die Krystallisation fortschreitet, und vermeidet dadurch sirup-artige Abscheidungen.

Eine Voraussetzung ist die analytische Kontrolle und Leitung der Arbeit. Die verwickelten Verhältnisse im Roh-Hydrolysat, das alle Stufen vom Dextrin

⁴⁾ H. Staudinger, K. Frey, R. Signer, W. Starck u. G. Widmer, B. 63, 2308 [1930]. — H. Staudinger u. H. Freudenberg, B. 63, 2331 [1930]. — H. Staudinger u. O. Schweitzer, B. 63, 2317 [1930]. — H. Staudinger, Kolloid-Ztschr. 53, 19 [1930]. — K. H. Meyer u. H. Mark, Der Aufbau der hochpolymeren organischen Naturstoffe, Leipzig [1930], ferner Ztschr. physikal. Chem. (B) 2, 128 [1929], Ztschr. angew. Chem. 41, 935 [1929], Naturwiss. 16, 892 [1928], B. 61, 593 [1928]. — K. Freudenberg u. E. Braun, A. 460, 288 [1928]. — K. Freudenberg, W. Kuhn, W. Dürr, F. Bolz u. G. Steinbrunn, B. 63, 1510 [1930]. — M. Bergmann u. H. Machemer, B. 63, 316 [1930]. — Diese Zusammenstellung erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit.

bis zum Traubenzucker umfaßt und die gegenseitige Löslichkeits-Beeinflussung der Komponenten führen dazu, daß man nicht einmal Parallel-Ansätze vollkommen gleichartig verarbeiten kann. Die Kennzahlen der Fraktionen ermöglichen es aber stets, den Versuch in richtige Bahnen zu lenken. In diesem Sinne möge die Vorschrift aufgefaßt werden, die weiter unten für den partiellen Abbau von 400 g Cellulose gegeben wird.

Zu Beginn zeigten sich recht unklare Verhältnisse in bezug auf die gefundenen Molekulargrößen, denn wiederholt erhielten wir Präparate, deren Drehungs- und Reduktionsvermögen mit dem kryoskopisch ermittelten Molekulargewicht nicht in Einklang zu bringen war (z. B. Reduktionskraft eines Trisaccharids, scheinbares Mol.-Gew. 200). Als Ursache dieser Störungen wurde vor allem ein Alkohol-Gehalt der meisten Präparate erkannt, welcher von den Oligosacchariden hartnäckig zurückgehalten wird und nicht einmal bei 110° und 20 mm zuverlässig entweicht. Solche Erscheinungen sind schon von E. Berner⁵⁾ beobachtet worden, allerdings an dem viel höhermolekularen Inulin. Bei der Kryoskopie in Wasser stört Äthylalkohol natürlich weit mehr, als ein geringer Feuchtigkeits-Gehalt, der sich doch nur proportional seiner Menge auswirken kann und das Ergebnis der Bestimmung innerhalb der üblichen Fehlergrenzen beläßt. Trocknen im Hochvakuum, bei mäßig erhöhter Temperatur hätte wohl ausgereicht, da uns aber eine entsprechende Pumpe nicht zur Verfügung stand, dampften wir die Substanzen vor der Analyse mehrere Male völlig mit Wasser ab und nahmen erst dann die endgültige Trocknung vor. In den ersten Anteilen der Destillate ließ sich Alkohol als Jodoform oder Aldehyd nachweisen. Derartig vorbehandelte und auch sonst reine Präparate zeigten die richtige Molekulargröße.

Eine zweite Störung, deren Wesen weniger klar liegt und die teilweise auf Verzögerung der Krystallisation zurückzuführen sein wird, besteht darin, daß in Anwesenheit von niedrigmolekularen Zuckern als Verunreinigung, Δ unverhältnismäßig groß wird⁶⁾. Selbst nach sorgfältiger Ausschaltung des Alkohols kam es vor, daß das gemessene (scheinbare) Molekulargewicht einer Gesamtfraktion mit dem Durchschnitt der Molegewichte ihrer Teilfraktionen arithmetisch nicht übereinstimmte. Diese Verhältnisse machen sich während der Fraktionierung unangenehm bemerkbar, andererseits gaben sie uns aber ein Hilfsmittel für die Beurteilung der Endprodukte in die Hand, denn die Anomalien bleiben nur nach erreichter Einheitlichkeit des Zuckers aus. Die Kryoskopie bietet in vielen Fällen eine empfindlichere Kontrolle als die Bestimmung der Reduktionskraft. Der experimentelle Teil enthält ein typisches Beispiel dafür, daß bei wiederholtem Umfällen einer Rohfraktion die Kupfer-Zahl nurmehr wenig variiert, während sich die Werte für Δ viel stärker in der Richtung zur theoretischen Zahl verschieben.

Die Ermittlung der Kupfer-Zahl, auf die sich die Fraktionierung vor 17 Jahren größtenteils stützen mußte, besitzt in Hinblick auf die komplizierten Verhältnisse, die bei der Fehlingschen Reaktion obwalten, den Nachteil, daß a priori nicht vorauszusehen ist, welche Reduktionskraft einem

⁵⁾ B. 63, 1356 [1930].

⁶⁾ Ähnliche Beobachtungen hat schon K. Freudenberg gemacht.

unbekannten Oligosaccharid theoretisch zukommt⁷⁾. Wir betrachteten daher immer die allerdings mit Vorbehalt veröffentlichten Kupfer-Zahlen als unbefriedigend. Bei den neuen Versuchen stand bereits die Methode von R. Willstätter und G. Schudel⁸⁾ zur Verfügung. Die Jod-Zahlen, die sich vorausberechnen lassen, ermöglichen eine willkommene Kritik der reinsten Produkte, um so mehr, als die Elementaranalyse nur wenig aussagt. Es sei hierauf nicht näher eingegangen, denn inzwischen haben schon M. Bergmann und H. Machemer⁹⁾ diese jodometrische Methode ausgebaut und einem breiten Gebiete nutzbar gemacht. Die Bestimmung der Kettenlänge auf Grund der Titration der Endgruppen nach Willstätter und Schudel ist auch nach unseren Erfahrungen ein, selbst auf Gemische anwendbares, einfaches Hilfsmittel.

Ergebnisse.

Die Existenz von Cellotriose, $C_{18}H_{32}O_{16}$, und Cellotetraose, $C_{24}H_{42}O_{21}$, wird bestätigt, allerdings müssen einige Konstanten verbessert, vor allem die Kupfer-Zahlen der älteren Arbeit erhöht werden. Beide Zucker krystallisieren schön (Figg. 1 und 2 der Tafel) und wurden wiederholt grammweise rein gewonnen. In ihrem Verhalten schließen sie sich der im Hydrolysat ebenfalls anwesenden Cellobiose an und konnten, wie jene, durch Darstellung von Osazonen und Acetaten charakterisiert werden. Aus schwerer löslichen Anteilen unseres letzten Großversuches erhielten wir außerdem, als höchstes, bisher isoliertes Spaltstück, eine Cellohexaose, $C_{36}H_{62}O_{31}$. Sie krystallisiert in sehr kleinen, aber einheitlichen, zu Sternen gruppierten Nadeln (s. die Fig. 6 der Tafel), die bei 300-facher Vergrößerung deutlich sichtbar sind¹⁰⁾. Das Acetat ist noch nicht krystallisiert erhalten, zeigt aber in Bromoform¹¹⁾ genau die berechnete Molekulargröße (gef. 1801, statt 1831). Das Molekulargewicht des freien Zuckers wurde zu 957 bzw. 918 (ber. 990) in Wasser bestimmt, die Jod-Zahl betrug 20.6 bzw. 20.8, statt ber. 20.2. Wenn auch das Hexasaccharid weniger gut charakterisiert ist als die Tri- und Tetraose, da krystallisierte Derivate noch fehlen, so kann ihre Existenz auf Grund der weiter unten mitgeteilten Daten nicht bezweifelt werden. Man ist hier allerdings in die Nähe der Leistungsfähigkeit der Fraktioniermethode gelangt und muß auf kleinere Korrekturen in der Beschreibung gefaßt sein.

Glucose, Cellobiose, Cellotriose, Cellotetraose und Cellohexaose bilden die Anfangsglieder einer langen Kondensationsreihe. Ihre Eigenschaften verschoben sich stetig, in der Richtung zu den Cellodextrinen und der Polyose selbst. Die Löslichkeit in Wasser und in Alkohol sinkt mit zunehmender Kettenlänge, ebenso die spez. Drehung, deren Werte rund $+52.5^{\circ}$, 33.5° , 23° , 18° und 13° betragen. Eigentümliche Verhältnisse zeigten sich in bezug auf die Mutarotation. Bekanntlich vermindert die frisch bereitete Traubenzucker-Lösung ihre Drehung, während sich Cellobiose gerade umgekehrt verhält. Diese Beobachtungen finden eine Ergänzung, indem sich Cellotriose wie Glucose, die Tetra- und Hexaose wie die Biose verhalten. Bei dem Hexa-

⁷⁾ Auf die Unzulänglichkeit der Kupfer-Methode haben neuerdings K. Freudenberg, W. Kuhn, W. Dürr, F. Bolz u. G. Steinbrunn, B. 63, 1510, u. zw. 1512 [1930], aufmerksam gemacht.; vergl. auch K. H. Meyer, H. Hopff u. H. Mark, ebenda, S. 1531, Anm. ⁸⁾ B. 51, 780 [1918]. ⁹⁾ B. 63, 316, 2304 [1930].

¹⁰⁾ Leider hat unsere Apparatur nicht ausgereicht, um die zarten Nadelchen schöner zu photographieren, als auf der Tafel ersichtlich.

¹¹⁾ K. H. Meyer u. H. Hopff, B. 63, 790 [1930].

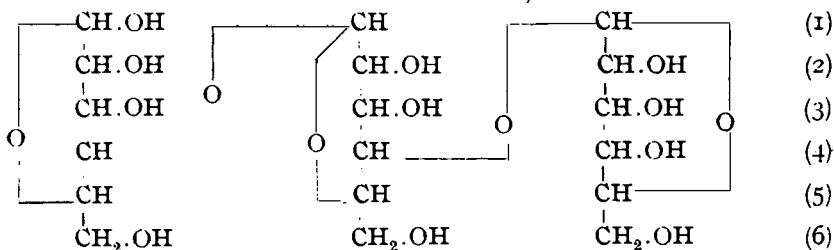
saccharid ist das Ausmaß der Mutarotation sehr klein, noch eben mit Sicherheit nachweisbar. Daß an Triose- und Tetraose-Präparaten früher keine Mutarotation beobachtet wurde, könnte auf einer Beimengung beruhen. Denn auch jetzt sind wir krystallisierten Zwischenfraktionen begegnet, die ihr Drehvermögen (fast) nicht veränderten. Sie erwiesen sich aber als Gemische. Gegenwärtig gilt also die Regel, daß die zu einer paaren Anzahl von Glucose-Molekülen spaltbaren Glieder dieser Reihe nach oben, die übrigen nach unten rotarieren.

Osazone: Es ist bekannt, daß das Osazon des Traubenzuckers schon in der Wärme auskrystallisiert, während das Cellobiose-Derivat erst beim Erkalten erscheint. Bei den höheren Cellosacchariden steigt die Löslichkeit der Osazone noch mehr, und dem entspricht die Verminderung der Krystallisationskraft. Cellotriosazon (s. die Fig. 5 der Tafel) verhält sich noch ungefähr wie das Biose-Derivat, während die sehr wahrscheinlich krystallinische Struktur des, in rundlichen Aggregaten abgeschiedenen Tetraose-Osazons nicht einwandfrei feststeht. Die Cellohexaose lieferte bisher kein Phenylosazon. Die Osazone der Triose und Tetraose lassen sich aus Wasser umkrystallisieren und zeigen den erwarteten Stickstoff-Gehalt.

Acetate: Diese Zucker liefern mit Essigsäure-anhydrid in Pyridin schöne Acetate, die durch Zusammensetzung, Acetyl-Zahl und Molekulargewichts-Bestimmung identifiziert wurden. Die Acetylverbindungen der Triose und Tetraose bilden gut ausgebildete Krystalle, namentlich aus heißem Alkohol oder aus Chloroform-Äther (s. die Figg. 3 und 4 der Tafel). Durch Behandlung mit Natriummethylat, nach der Vorschrift von G. Zemplén¹²⁾, erhält man krystallisierte Zucker-Präparate zurück.

Die Fig. 7 der Tafel zeigt, wie sich die Kennzahlen der Oligosaccharide allmählich verschieben. — Die röntgenometrische Prüfung haben die HHrn. H. Mark und G. v. Susich (Ludwigshafen) freundlichst übernommen.

Um die Konstitution nachzuprüfen, haben wir die Cellotriose mit Essigsäure-anhydrid und Schwefelsäure acetolytisch abgebaut und erhielten gut krystallisierte Octaacetyl-cellobiose. Die Triose ist also, wie erwartet, eine Cellobiosido-glucose. Zieht man die bekannte Struktur der Biose¹³⁾, sowie die Einheitlichkeit der (β -) Bindungen im Cellulose-Molekül¹⁴⁾, besonders nach den Arbeiten von K. Freudenberg, in Betracht, so ergibt sich die untenstehende Konstitution für Cellotriose (die Procellose-Formel von G. Bertrand und S. Benoist¹⁵⁾ ist heute schon überholt:



¹²⁾ B. 59, 1254 [1926].

¹³⁾ W. Charlton, W. N. Haworth u. St. Peat, Journ. chem. Soc. London 129, 89 [1926]; E. L. Hirst, ebenda 129, 350 [1926]; G. Zemplén, B. 59, 1254 (1926).

¹⁴⁾ H. Mark u. K. H. Meyer, Ztschr. physikal. Chem. (B) 2, 115 [1929]; K. H. Meyer, H. Hopff u. H. Mark, B. 62, 1103 [1929]. — K. Freudenberg, W. Kuhn, W. Dürr, P. Bolz u. G. Steinbrunn gaben eine abschließende Behandlung der Frage (l. c.). ¹⁵⁾ Compt. rend. Acad. Sciences 176, 1583 [1923], 177, 85 [1923].

Die räumliche Anordnung wird dem Schema von K. Freudenberg^{15a)} über die Cellulose-Struktur entsprechen.

Für die höheren Oligosaccharide ist noch die Ausbeute an Octaacetylcellobiose zu ermitteln.

Vergleich mit einigen Literatur-Angaben.

Zum Schlusse sei versucht, das Verhältnis unserer Präparate zu einigen früher beschriebenen, soweit möglich, zu klären. G. Bertrand und S. Benoist¹⁵⁾ haben Filtrierpapier acetolytisch abgebaut und durch Verseifen der Cellobiose-octaacetat-Mutterlaugen ein sirupöses Zucker-Gemisch erhalten. Dieses Material lieferte, bei der Extraktion mit verd. Alkohol, ein in Sphärökrystallen herauskommendes Trisaccharid, Procellose genannt. Die Identität unserer Triose mit dieser Verbindung erscheint auf Grund der folgenden Daten als wahrscheinlich:

	$[\alpha]_D$	Zusammensetzung:	N-Gehalt des Osazons:	Molgew. gef.:	Reduktions- Vermögen:
Procellose	+22.8 ^o	C 42.74, H 6.49	8.12	473	50% (bezogen auf Glucose)
Cellotriose	+23.2 ^o	C 42.61, H 6.51	8.27, 8.49	474, 486	Cu-Zahl 1.05

Vor kurzem haben K. Freudenberg, C. C. Andersen, Y. Go, K. Friedrich und N. W. Richtmyer¹⁶⁾ ein schön krystallisiertes Dekamethyl- β -methylcellotriosid entdeckt, das sie aus den Produkten der Acetolyse durch Methylierung erhielten. K. Freudenberg und K. Friedrich¹⁷⁾ isolierten eine methylierte Tetraose auf dem gleichen Wege. Es liegt keine Veranlassung vor, die Identität der zugrunde liegenden Zucker mit unserer Cellotriose bzw. Cellotetraose anzuzweifeln. Hingegen bestehen wesentliche Unterschiede zwischen einem Cellotriose-Präparat von H. Ost¹⁸⁾ und der weiter unten beschriebenen Triose.

Trotz übereinstimmender Analysen-Zahlen ist eine Identifizierung hier nicht möglich, da jener (der Acetolyse entstammende) Zucker: 1) nicht einmal halb so stark dreht wie unsere Präparate ($[\alpha]_D = \text{ca.} +10^0$), 2) auch diesen Endwert durch eine nach oben gerichtete Mutarotation erreicht und 3) sich während der Osazon-Probe kaum gelb färbt und beim Erkalten nur geringe Mengen schleimiger Substanz abscheidet.

Ein neues Disaccharid hat sich bei dem Abbau mit Salzsäure nicht auffinden lassen, und die primäre Bildung eines solchen Zuckers in nennenswerten Mengen ist besonders durch die Forschungen von K. Freudenberg (l. c.) unwahrscheinlich geworden. Ebenso wenig scheint die Iso-cellobiose von H. Ost¹⁹⁾ in unseren Hydrolysaten vorzukommen, welche von G. Bertrand und S. Benoist²⁰⁾ für ein Gemisch von Procellose und Cellobiose, von

^{15a)} A. 461, 130 [1928].

¹⁶⁾ B. 63, 1961 [1930]. — Ältere Versuche, die nicht zu einheitlichen Präparaten führten: J. C. Irvine u. G. J. Robertson, Journ. chem. Soc. London 1926, 1488.

¹⁷⁾ Naturwiss. 18, 1114 [1930]. ¹⁸⁾ Ztschr. angew. Chem. 39, 1117 [1926].

¹⁹⁾ H. Ost u. R. Prosiegel; Ztschr. angew. Chem. 33, 100 [1920], 39, 1117 [1926]. R. Prosiegel, Dissertat., Hannover [1920]; G. Knoth, Dissertat., Hannover [1921]. Vergl. hierzu K. Hess, Die Chemie der Cellulose, S. 502 u. 509, Leipzig [1928].

²⁰⁾ Compt. rend. Acad. Sciences 177, 85 [1923].

W. Weltzien und R. Singer²¹⁾ für ein einheitliches, normales Produkt der Acetolyse gehalten wird.

Die Versuche über die partielle Hydrolyse von Polyosen mit kalter Salzsäure haben wir auf Lichenin ausgedehnt.

Beschreibung der Versuche.

I. Zur Methodik.

Bereitung des Roh-Hydrolysates: Als Ausgangsmaterial diente Cellulose reinst, entfettet, von Kahlbaum, die 4–5 Stdn. bei 110° getrocknet wurde. Der Abbau ließ sich zweckmäßig in einer enghalsigen, starkwandigen Stöpselflasche vornehmen. Man füllte chemisch reine, konz. Salzsäure bis zur Hälfte ein und brachte dieselbe durch Einleiten von Chlorwasserstoff bei 0° auf das spez. Gewicht 1.21 (15°). Nach Erwärmung auf 15° haben wir die Baumwolle in kleinen Portionen mit Hilfe eines Glasstabes eingefüllt, was 10–15 Min. für 0.4 kg Material erfordert. Ein Teil der Cellulose nimmt den Luftraum ein und wird durch vorsichtiges Schwenken der verschlossenen Flasche mit der Säure in Berührung gebracht. Zunächst entsteht ein hochviscoses Gel, dann sinkt die Viscosität rasch; nach 10 Min. langem Schwenken sind die Fasern in Lösung gegangen, und die Flüssigkeit hat die Konsistenz von Paraffinöl erreicht.

Wir bewahrten das Reaktionsgefäß in einem Bad von 19.5° auf, saugten nach dem Ablauf der beabsichtigten Zeit $\frac{1}{4}$ Stde. mit der Wasserstrahlpumpe (um später an Silber zu sparen) und gossen die dünnflüssige Lösung langsam, unter Rühren, auf Eis. Als Reaktionsdauer (160–235 Min.) wird die vom Abschlusse des Schwenkens (Eintritt der Lösung) bis zum Verdünnen reichende Zeitspanne bezeichnet. Die mit einem kleinen Überschuß von Silbercarbonat-Schlamm, im Verlaufe von $\frac{1}{2}$ Stde. unter Kühlung neutralisierte Flüssigkeit haben wir filtriert und die mit den Waschwässern vereinigte klare Lösung, wie unter II. angegeben, verarbeitet. Die zusammen mit dem Chlorsilber in reichlicher Menge ausfallende, hochmolekulare, organische Substanz ist nicht näher untersucht worden. Mit Salzsäure liefert sie Glucose²²⁾.

Analytische Hilfsmittel der Fraktionierung: Die Bestimmung der Kupfer-Zahl (CuZ = die von 1 g Substanz in Form von Cu₂O ausgeschiedene Cu-Menge in g) geschah nach Bertrand, für die Ermittlung der Jod-Zahl (JZ = die von 1 g Substanz verbrauchte 0.1 n. Jodlösung in ccm) war die Vorschrift von R. Willstätter und G. Schudel (l. c.) maß-

²¹⁾ A. 443, 71 [1925].

²²⁾ Regenerierung des Silbers: Den AgCl-Schlamm (bei der Verarbeitung von 0.4 kg Cellulose rund 5 kg Silber enthaltend) haben wir mit einem Überschuß von reinem, granuliertem Zink versetzt, die Masse mit 1–2 l 10-proz. Schwefelsäure zu einer Paste verknetet und diese, unter gelegentlichem Rühren, mehrere Tage lang sich selbst überlassen, bis der gelbliche, lehmartig-pulvrige Niederschlag in graues, schwammiges Silber verwandelt war. Nachdem stark verdünnt und wiederholt dekantiert worden war, ließ sich der Überschuß an Zink durch mehrmaliges Auskochen mit verd. Schwefelsäure entfernen. Der abgenutzte und sulfat-frei gewaschene Niederschlag wurde in reinsten konz. Salpetersäure gelöst und nach mäßigem Verdünnen mit reiner Soda gefällt. Das völlig nitrat-frei gewaschene Silbercarbonat war nun in Form einer dünnen Paste wieder verwendbar.

gebend. Angewandt wurden: 0.10—0.15 g (CuZ) bzw. 0.15—0.20 g (JZ) Substanz.

Störende Einflüsse auf die kryoskopische Molekulargewichts-Bestimmung.

Die mit Hilfe von Alkohol gefällten Fraktionen mußten von hartnäckig zurückgehaltenem Lösungsmittel befreit werden. Nachstehend seien Beispiele dafür angeführt, daß unter dem Einfluß des Alkohol-Gehaltes falsche (scheinbare) Molekulargrößen gefunden werden, während sich Kupfer- und Jod-Zahl viel weniger verschieben.

a) Eine mit höheren Produkten verunreinigte Tetraosen-Fraktion ergab: Bei 75° und 20 mm zur Konstanz getrocknet: 0.3184 g Stbst. in 11.71 g Wasser: $\Delta = 0.212^{\circ}$. Gef. Molgew. 238. — Dasselbe Präparat im Vakuum, bei 110° gewichtskonstant: 0.4088 g Stbst. in 11.71 g Wasser: $\Delta = 0.209^{\circ}$. Gef. Molgew. 310. — Trocknungs-Temp. bei 125° (20 mm). Nach erreichter Konstanz: 0.4358 g Stbst. in 11.71 g Wasser: $\Delta = 0.168^{\circ}$. Gef. Molgew. 412. — Temperatur 135°, Gewichtskonstanz: 0.4923 g Stbst. in 11.71 g Wasser: $\Delta = 0.157^{\circ}$. Gef. Molgew. 498. Cu-Zahl = 0.75, Jod-Zahl 25.0.

Daß tatsächlich Alkohol (qualitativ nachgewiesen) entwich, und daß das Präparat durch die hohe Temperatur nicht gelitten hat, geht aus folgendem hervor: Eine Probe des überhaupt nicht erhitzten Ausgangsmaterials haben wir am Wasserbade mit der 20-fachen Wassermenge 3-mal abgedampft und den Rückstand im Vakuum, zwischen 105—110°, bis zur Konstanz getrocknet. In diesem Zustand wurde das Molekulargewicht noch höher gefunden als bei dem stärker erhitzten Präparat: 0.3415 g Stbst. in 11.71 g Wasser: $\Delta = 0.099^{\circ}$. Gef. Molgew. 548 (Cu-Zahl 0.78, Jod-Zahl 29.0).

b) Eine bei 110°, im Vakuum konstante Triosen-Fraktion ergab: 0.4327 g Stbst. in 11.71 g Wasser: $\Delta = 0.159^{\circ}$. Gef. Molgew. 432. Nach 3-maligem Abdampfen und Trocknen bei 110° (20 mm) wurde ein um 10% höherer Wert gefunden, nämlich: 0.3428 g Stbst. in 11.71 g Wasser: $\Delta = 0.115^{\circ}$. Gef. Molgew. 474 (ber. 504). Auch hier wurde Alkohol nachgewiesen.

c) Ganz grobe Fehler können entstehen, wenn man nur im Vakuum-Exsiccator über Phosphorpentoxyd trocknet. So ergab eine unreine Tetraose: 0.3198 g Stbst. in 11.71 g Wasser: $\Delta = 0.251^{\circ}$. Gef. Molgew. 202. 3-mal mit Wasser abgedampft und bei 120° und 20 mm getrocknet: 0.4111 g Stbst. in 11.71 g Wasser: $\Delta = 0.111^{\circ}$. Gef. Molgew. 588. Beim Erhitzen verminderte sich das Gewicht um 15%, dem entsprach eine Steigerung der Kupfer-Zahl von 0.68 auf 0.79, während das gefundene Molekulargewicht um fast 200% anstieg. Die Alkohol-Probe war positiv.

Einfluß von niedrigmolekularen Verunreinigungen auf die Gefrierpunkts-Depression. Das folgende Beispiel soll zeigen, daß eine kleine Beimengung der bezeichneten Art, welche die Kupfer- und Jod-Zahlen nur wenig beeinflußt, völlig falsche Molekulargrößen vortäuschen kann.

Eine Tetraosen-Fraktion wurde durch Umfällen gereinigt und jedesmal in alkohol-freiem Zustand analysiert:

Ohne Umfällung:	Cu-Zahl	0.84,	Jod-Zahl	29.1.	Gef. Molgew.	517.
1-mal umgefällt:	„	0.83,	„	28.4.	„	584.
2-mal	„	0.83,	„	28.8.	„	645.
3-mal	„	0.82(5),	„	28.7.	„	648 (ber. 666).

Belege: 0.4815 g Stbst. in 11.71 g Wasser: $\Delta = 0.148^{\circ}$. — 0.5070 g Stbst. in 11.71 g Wasser: $\Delta = 0.138^{\circ}$. — 0.5100 g Stbst. in 14.56 g Wasser: $\Delta = 0.101^{\circ}$. — 0.5279 g Stbst. in 14.56 g Wasser: $\Delta = 0.104^{\circ}$.

II. Trennung des Hydrolysates in Hauptfraktionen.

Aus einer Versuchsreihe sei folgender Ansatz angeführt: 400 g Baumwolle wurden in 4 kg Säure ($d = 1.21$) gelöst und nach einer Einwirkungsdauer von 190 Min. (19.5⁰), wie beschrieben, auf den wasser-löslichen Anteil verarbeitet. Das Volumen des Filtrates vom AgCl-Schlamm betrug inkl. Waschwasser (3×4 l) rund 30 l. Ein kleiner Silber-Gehalt dieser Lösung ließ sich mit 75 ccm 2-n. Salzsäure wegtitrieren. Die filtrierte Flüssigkeit haben wir im Vakuum auf 1800 ccm eingeengt und mit 2 Vol. 96-proz. Alkohol versetzt. Sofort entstand ein amorpher Niederschlag, der nach halbtägigem Stehen abgesaugt und mit 60-proz. Weingeist nachgewaschen wurde (Fraktion A, 53 g).

Diese Fällung enthält Produkte mit sehr verschiedenen Kettenlängen, von amorphen Cellodextrinen bis hinunter zur Hexaosen-Stufe und darüber hinaus. Das dextrin-artig aussehende Präparat ist an der Luft hornartig geworden und löste sich dann nur zum geringen Teile in kaltem Wasser. Bei wiederholtem Auskochen gingen etwa $\frac{3}{4}$ Tle. in Lösung.

Der Alkohol-Gehalt des Filtrates von A wurde durch Zusatz von 8 l 96-proz. Weingeist auf rund 85% erhöht. Allmählich schied sich im Verlaufe eines Tages, ein von A völlig verschieden aussehendes, körniges, teils sphärokrystallinisches Produkt ab (Fraktion B, 25 g). Es war gleichfalls recht uneinheitlich, doch bedeutend ärmer an höheren Dextrinen als A. Die zusammengesetzte Natur dieser Fraktion äußerte sich auch darin, daß das gemessene (mittlere) Molekulargewicht mit den Kupfer- und Jod-Zahlen nicht übereinstimmte (CuZ 0.64, JZ 23.0). Die spez. Drehung lag zwischen 18 und 20⁰.

Das Filtrat von B wurde im Vakuum bis zu 350–400 g eingeengt, der süße Sirup mit 150 ccm absol. Alkohol verdünnt und in dünnem Strahle, unter starkem Turbinieren, in 6 l wasserfreien Alkohol einfließen gelassen (Alkohol-Konzentration 96%). Die sofort entstandene Fällung haben wir nach 2-stündigem Rühren abgenutscht, mit 96-proz. Alkohol nachgewaschen und getrocknet (Fraktion C, ca. 75 g). In diesem Präparat sind Cellotriose und Tetraose, mit niedrigeren und höheren Produkten vermengt, enthalten (CuZ 0.95, JZ 40.0).

Das Filtrat von C gab mit absol. Alkohol keinen Niederschlag mehr. Es wurde im luft-verdünnten Raume bis zu 500 ccm eingeengt, wobei sich allmählich ein klebriger Sirup (Fraktion D 20 g, wasser-haltig) ausschied, der Cellotriose, Biose und Traubenzucker enthält. Die obenstehende Lösung ließ sich abgießen und wurde gesondert verarbeitet (Fraktion E)²³⁾.

III. Zerlegung der Hauptfraktionen.

Fraktionierung von A: Dieses Produkt enthielt beträchtliche Mengen von wasser-unlöslicher Substanz. Es wurde daher zerrieben, mit 500 ccm

²³⁾ Bevor man die Hauptfraktionen weiter zerlegt, ist es ratsam, auf Asche zu prüfen. Alle weiter unten analysierten Präparate waren asche-frei. Ein etwaiger Chlorgehalt kann mit Hilfe von Silbercarbonat-Schlamm entfernt werden. Es ist aber auch vorgekommen, daß die Hauptfraktionen zink-haltig waren. Dann wurde die wäßrige Lösung derselben mit Barytwasser versetzt, Kohlendioxyd eingeleitet, einige Tropfen Soda zugefügt und das Filtrat mit Essigsäure schwach angesäuert. Beim Versetzen mit viel Alkohol fielen die Kohlenhydrate frei von Asche aus.

heißem Wasser behandelt und nach 1-tägigem Stehen bei 20° durch ein Faltenfilter dekantiert. Hierauf folgten zwei ähnliche, aber kürzere Behandlungen mit je 100 ccm lauwarmem Wasser. Die Filtration war langwierig, es blieb eine dextrin-artig klebrige Masse auf dem Papier (A 1, ca. $\frac{1}{3}$ von A). Aus der klaren Lösung fällte 1 Vol. 91-proz. Alkohol einen voluminösen Niederschlag, der auch niedere Zucker zurückhielt und am nächsten Tage abgesaugt, sodann 3-mal aus je 70 ccm Wasser und 250 ccm 96-proz. Alkohol umgefällt wurde (A 2, 7 g). Dieses Substanz-Gemisch ist ein Vertreter der eben noch in Wasser löslichen Abbauprodukte. Das Filtrat von A 2 haben wir mit 2 Vol. 96-proz. Weingeist gefällt und den bereits staubförmigen Niederschlag 1 Tag später genutscht (A 3, ca. 10 g). Als Orientierung seien folgende Zahlen angeführt:

Frakt. A 2: Cu-Zahl 0.45, Jod-Zahl 14.0, Molgew. 913, $[\alpha]_D = 10.3^\circ$.

Frakt. A 3: Cu-Zahl 0.61, Jod-Zahl 20.7, Molgew. 800, $[\alpha]_D = 16.0^\circ$.

Fraktionierung von B: 100 ccm lauwarmes Wasser haben auch diese Fraktion nicht vollständig zu lösen vermocht, sondern es hinterließ ein amorphes Material (B 1, 10% von B). Der Auszug gab mit 400 ccm 96-proz. Alkohol einen körnigen Niederschlag, der nach 1-stdg. Stehen leicht abgesaugt werden konnte (B 2, rund 9 g). Aus dem Filtrat haben wir mit 2 Vol. 97.5-proz. Weingeist die körnige Fraktion B 3 (3 g) gewonnen, und schließlich lieferte noch die auf 20 ccm im Vakuum eingeeengte Lösung mit 300 ccm 98.5-proz. Alkohol die Fraktion B 4 (5 g).

Frakt. B 2: Cu-Zahl 0.63, Jod-Zahl 21.8, Molgew. 646, $[\alpha]_D = 14.0^\circ$.

Frakt. B 3: „ 0.72, „ 23.8,

Frakt. B 4: Cu-Zahl 0.77, „ 28.2, „ 600, $[\alpha]_D = 16.4^\circ$.

Fraktionierung von C: Dieses Präparat war klar wasser-löslich. Man hat 700 ccm Wasser (bei anderen Versuchen viel weniger) angewandt und in die Lösung in dünnem Strahle 2 l 98.5-proz. Alkohol einfließen gelassen. Dabei schied sich ein klebriger Sirup an den Glaswandungen aus (C 1). Der Rückstand der abgegossenen und vollends eingedampften Lösung wurde in 400 ccm Wasser aufgenommen und lieferte mit 3 l absol. Alkohol wiederum einen Sirup (C 2). Die Aufarbeitung dieser Produkte, besonders von C 1, ist kaum lohnend. Die dekantierte, klare Lösung haben wir mit weiteren 2 l absol. Alkohol vermengt. Zunächst blieb die Flüssigkeit klar, im Verlauf von 2–3 Tagen krystallisierte dann rohe Tetraose in kleinen, aus Nadeln bestehenden Warzen aus (C 3, 13 g). Das auf 50 ccm konzentrierte Filtrat wurde nun erwärmt und mit $\frac{1}{2}$ l heißem, wasser-freiem Alkohol verrührt. Solche Ansätze bleiben in der Wärme klar, beim Erkalten trennt sich gewöhnlich ein dicker Sirup ab, hauptsächlich aus Tetra- und Triose bestehend (C 4). Nachdem wir die abgehobene Lösung im Vakuum möglichst weitgehend eingedampft und mit absol. Alkohol bis zur beginnenden Trübung in der Kälte vermischt hatten, erschien im Verlauf 1 Woche (oder nach mehreren Wochen) rohe Cellotriose, in Form von deutlich erkennbaren Krystallen (C 5).

Frakt. C 3: Cu-Zahl 0.89, Jod-Zahl 31.7, Molgew. 349 (!), $[\alpha]_D = 16.8^\circ$.

Frakt. C 5: Cu-Zahl 0.95, Jod-Zahl 35.3, $[\alpha]_D = 25.0^\circ$.

IV. Cellohexaose.

Präparate, deren Jod-Zahlen in der Nähe des für ein Hexasaccharid berechneten Wertes liegen, kommen in den am leichtesten löslichen Anteilen von A, in den mittleren von B und in den am schwersten löslichen Unterfraktionen von C vor. Daher wurden A 3, B 2 und B 3 vereinigt, 13 g dieses Materials in 50 ccm heißem Wasser gelöst und mit 250 ccm heißem, 96-proz. Alkohol versetzt. Bereits nach wenigen Minuten begann die klare Lösung Sphärökrystalle abzuscheiden, niedrige Zucker-Arten blieben größtenteils in Lösung. Der Rest wurde durch 5-maliges Umfällen so gut wie entfernt.

2-mal umkryst.: Cu-Zahl 0.62, Jod-Zahl 21.1, Molgew. 820. $[\alpha]_D = 15.4^\circ$; 5-mal umkryst.: Molgew. 860.

Zur Ausschaltung von etwas Höhermolekularem hat man die Substanz (8 g) in 55 ccm Wasser gelöst und einen schwerer löslichen Anteil mit 130 ccm 96-proz. Alkohol abgeschieden. Der Niederschlag wurde nochmals in der gleichen Weise behandelt und dann noch 2-mal, unter Anwendung von je 40 ccm Wasser und 100 ccm 96-proz. Alkohol, umgefällt. Den amorphen Niederschlag haben wir verworfen und die vereinigten Mutterlaugen im Vakuum zur Trockne verdampft, schließlich den Rückstand in 40 ccm Wasser aufgenommen und mit Hilfe von 2 Vol. 96-proz. Alkohol zum Krystallisieren gebracht. Die so erhaltene Hexaose wog nach 2 weiteren Umkrystallisationen 2 g und ergab:

Cu-Zahl 0.65. — 0.1909 g Sbst. verbrauchten 3.95 ccm 0.1-n. Jod-Lösg.

$C_{36}H_{62}O_{31}$. Ber. Jod-Zahl 20.2. Gef. Jod-Zahl 20.7.

Die auch sonst schwache Mutarotation ist nicht von Anfang an meßbar, da die Auflösung beträchtliche Zeit erfordert.

Nach ca. 15 Min.: $[\alpha]_D^{15} = (100 \times 0.47^\circ) : (2 \times 1.909) = +12.3^\circ$.

Endwert (4 Stdn.): $[\alpha]_D^{15} = (100 \times 0.50^\circ) : (2 \times 1.909) = +13.1^\circ$.

Zwei weitere Umkrystallisationen aus je 40 ccm Wasser und 160 ccm Alkohol lieferten 1.5 g eines schönen Präparates mit folgenden Kennzahlen:

Cu-Zahl: 0.63(5). — 0.2382 g Sbst. verbrauchten 4.96 ccm 0.1-n. Jod-Lösung. — 0.5953 g Sbst. in 11.71 g Wasser: $\Delta = 0.103^\circ$.

$C_{36}H_{62}O_{31}$. Ber. Jod-Zahl 20.2, Molgew. 990. Gef. Jod-Zahl 20.8, Molgew. 918.

Nach ca. 15 Min.: $[\alpha]_D^{15} = (100 \times 0.34^\circ) : (2 \times 1.492) = +11.4^\circ$ (in Wasser).

Endwert: $[\alpha]_D^{15} = (100 \times 0.38^\circ) : (2 \times 1.492) = +12.7^\circ$ (in Wasser).

Bei etwas höherer Konzentration wurde als Enddrehung gefunden:

$[\alpha]_D^{20} = (100 \times 0.60^\circ) : (2 \times 2.381) = +12.6^\circ$.

Umkrystallisieren hat diese Werte nur wenig verschoben:

0.1466 g Sbst. (bei 105° , 20 mm konstant): 0.2336 g CO_2 , 0.0839 g H_2O .

$C_{36}H_{62}O_{31}$. Ber. C 43.61, H 6.31. Gef. C 43.46, H 6.40.

Cu-Zahl 0.61. — 0.5161 g Sbst. in 16.71 g Wasser: $\Delta = 0.060^\circ$. — 0.1545 g Sbst. verbrauchten 3.19 ccm 0.1-n. Jod-Lösg.

$C_{36}H_{62}O_{31}$. Ber. Molgew. 990, Jod-Zahl 20.2. Gef. Molgew. 957, Jod-Zahl 20.6.

$[\alpha]_D^{20} = (100 \times 0.86^\circ) : (2 \times 3.090) = +13.9^\circ$ (in Wasser).

Cellohexaose bildet ein farbloses, leichtes, kaum mehr süß schmeckendes Pulver. Bei 300-facher Vergrößerung erkennt man Nadelchen, die konzentrisch zu Warzen gruppiert sind. Einzelkrystalle haben wir bisher nicht beobachtet. Ein schönes Bild ergibt sich erst bei 800-facher Vergrößerung. Schmp. 266° (korr.), unter Braunfärbung und Schäumen.

Die Hexaose löst sich in ca. 20 Tln. kaltem Wasser, wenn auch langsam, klar auf, rascher und reichlicher in der Wärme. Beim Erkalten erfolgt keine Krystallisation. Eine 5-proz. Lösung wird momentan gefällt, wenn eine Alkohol-Konzentration von 65% eingestellt ist. Beim langen Stehen kann der Zucker auch in Gegenwart von bedeutend weniger Alkohol krystallisieren. Das Osazon ist so leicht löslich, daß es sich bisher nicht isolieren ließ.

Acetylierung: 1.2 g Hexaose wurden in ein Gemisch von 35 ccm Pyridin und ebensoviel Acetanhydrid eingetragen. Es trat allmählich Lösung ein. Man dekantierte am nächsten Tage vom Rückstand, der bei der Behandlung mit je 15 ccm Pyridin und Anhydrid in weiteren 2 Tagen größtenteils verschwand. Ein geringer Rest ließ sich schließlich klar in Lösung bringen. Die vereinigte Flüssigkeit wurde in Eiswasser gegossen und die entstandene Fällung nach einigen Stunden abgesaugt. Leichtes, langsam filtrierbares, farbloses Pulver, das selbst unter dem Mikroskop keine krystallinische Struktur verrät. Es wurde in Chloroform aufgenommen, die Lösung wiederholt mit Wasser geschüttelt, getrocknet und mit Petroläther gefällt. Bei der Behandlung mit heißem 96-proz. Alkohol ging das Acetat in Lösung und schied sich bei langsamem Erkalten größtenteils wieder ab (0.7 g; aus den alkohol. Mutterlaugen kann noch ziemlich viel Material gewonnen werden). Die Beschaffenheit der gereinigten Acetylverbindung ist körnig, eine deutliche Krystallstruktur konnte aber auch hier nicht erkannt werden.

Molekulargewicht: 0.3551 g Sbst. in 23.86 g Bromoform ($k = 14.4$): $\Delta = 0.119^{\circ}$.

$C_{76}H_{102}O_{51}$. Ber. Molgew. 1831. Gef. Molgew. 1801.

$[\alpha]_D^{18} = -(100 \times 0.22^{\circ}) : (2 \times 1.445) = -7.6^{\circ}$ (in Chloroform).

Die Abspaltung der Acetylgruppen mit Natriummethylat nach G. Zemplén (l. c.) führte zur krystallisierten Hexaose zurück (1-mal umkrystallisiert, Cu-Zahl 0.61, $[\alpha]_D^{18} = 11.5^{\circ}$, nach erfolgter Mutarotation).

V. Cellotetraose.

Isolierung: Fraktion C 3 läßt sich unter Verwerfung der am schwersten und am leichtesten löslichen Bestandteile auf folgendem (noch zu vereinfachendem) Wege auf Tetraose verarbeiten: Die Lösung in 40 ccm Wasser wurde mit heißem absol. Alkohol gerade bis zur beginnenden, schwachen Trübung versetzt. Beim Erkalten erschienen kleine Warzen, die sich allmählich vermehrten. Ohne diese abzufiltrieren, haben wir die Alkoholmenge stufenweise, vorsichtig auf 250 ccm gesteigert und die Krystalle erst dann isoliert. Es folgten 3 weitere, ähnlich ausgeführte Umkrystallisationen aus je 30 ccm Wasser und schließlich 150 ccm Weingeist (die analytischen Daten sind unter I. „Störender Einfluß usw.“ angeführt). Durch diese Behandlung wurden die niedermolekularen Beimengungen, sowie ein namhafter Teil der Tetraose in Lösung gebracht, während das feste Tetraosen-Präparat noch eine Spur höher molekularer Stoffe enthielt.

Zur Isolierung des Tetrasaccharids aus der Lösung verdampfte man die vereinigten alkohol. Mutterlaugen im Vakuum bis auf 45 ccm und setzte 500 ccm heißen absol. Alkohol zur warmen Lösung. Beim Erkalten schied sich ein wenig Sirup ab, sodann erschienen in der dekantierten, klaren Flüssigkeit allmählich Krystalle von reiner Tetraose, deren Menge im Verlauf 1 Woche auf 4.2 g stieg. Die Einheitlichkeit dieses Präparates (CuZ 0.86) geht aus folgendem hervor: Wir lösten die Substanz in 12 ccm Wasser und versetzten sie mit 120 ccm heißem absol. Alkohol. Erst nach einigen Minuten

begann der Zucker zu krystallisieren. Nach 1-stdg. Stehen wurde filtriert und die Behandlung wiederholt; dabei wurde der Versuch so geleitet, daß insgesamt die Hälfte des Zuckers in Form von schönen Krystallen vorlag. Die andere Hälfte konnte durch Zusatz von heißem Alkohol zur weitgehend eingegangenen Mutterlauge größtenteils, und zwar gut krystallisiert, isoliert werden. Beide Hälften zeigten dieselben Eigenschaften und das gleiche Reduktionsvermögen wie das Präparat vor der Zerteilung.

Unabhängig von diesem Versuch, ergab die sirupöse Fraktion C 4 eine geringere Menge an reiner Cellotetraose: Wir haben die Lösung in 40 ccm Wasser mit kaltem absol. Alkohol bis fast zur bleibenden Trübung vermengt und stellten sie bei 20° zum Krystallisieren auf. Im Verlauf einiger Wochen sammelte sich ein noch klebriges Produkt an, das in 15 ccm Wasser aufgenommen und mit 300 ccm absol. Alkohol versetzt wurde. Alsbald erschien ein leichter Niederschlag, der deutlich krystallinisch war und nach 2-maligem Umkrystallisieren 0.5 g reine Cellotetraose lieferte.

Die Tetraose ist ein weißer, süßlich schmeckender Körper, der bei 300-facher Vergrößerung aus Nadeln bestehende, einheitlich aussehende dichte Büschel bzw. Warzen bildet (s. Fig. 2 der Tafel). Die Nadeln sind bedeutend größer als die der Hexaose, kommen aber, wie jene, in der Regel nicht vereinzelt vor. Cellotetraose löst sich in ca. 8 Tln. Wasser in der Kälte auf und wird durch Zusatz von 6 Vol. 96-proz. Alkohol, also bei einem Alkohol-Gehalt von rund 80%, sofort gefällt. Schmp. 251° (korr., unt. Zers. und Braunfärbung).

Vor der Analyse wurde der Alkohol-Gehalt, wie beschrieben, durch Abdampfen entfernt und das Präparat im Vakuum bei 110° zur Konstanz gebracht. Kontrollversuche zeigten, daß diese Temperatur gut vertragen wird, und daß nicht einmal das Drehvermögen nennenswert zurückgeht.

0.1456 g Sbst.: 0.2307 g CO₂, 0.0863 g H₂O.

C₂₄H₄₂O₂₁. Ber. C 43.22, H 6.35. Gef. C 43.21; H 6.63.

Zur Bestimmung des Molekulargewichtes dienten 4 verschiedene, voneinander unabhängig bereite Präparate. 0.5131 g Sbst. in 11.71 g Wasser: Δ = 0.123°. — 0.5007 g Sbst. in 11.71 g Wasser: Δ = 0.122°. — 0.4864 g Sbst. in 14.56 g Wasser: Δ = 0.097°. — 0.5279 g Sbst. in 14.56 g Wasser: Δ = 0.104°. — 0.5100 g Sbst. in 14.56 g Wasser: Δ = 0.101°.

C₂₄H₄₂O₂₁. Ber. Molgew. 666. Gef. Molgew. 663, 652, 641, 648, 645, im Mittel 650.

Die Kupfer-Zahl betrug bei den besten Präparaten 0.86, 0.87(5) und 0.87 und kann für ca. 120 mg Sbst. in 20 ccm Wasser mit 0.87 angegeben werden.

Jod-Zahl: 0.1014 g Sbst. verbrauchten 3.02 ccm 0.1-n. Jod-Lösung. — 0.2028 g Sbst. verbrauchten 6.08 ccm, 0.1945 g eines andern Präparates 5.85 ccm.

C₂₄H₄₂O₂₁. Ber. Jod-Zahl 30.0. Gef. Jod-Zahl 29.8, 30.0, 30.1.

Cellotetraose mutarotiert und erhöht dabei ihre Drehung:

Frische Lösung: $[\alpha]_D^{20} = (100 \times 0.44^\circ) : (2 \times 1.945) = +11.3^\circ$ (in Wasser).

Endwert (7 Stdn.): $[\alpha]_D^{20} = (100 \times 0.66^\circ) : (2 \times 1.945) = +17.0^\circ$ „ „

Ein anderes Präparat drehte: $[\alpha]_D = (100 \times 0.72^\circ) : (2 \times 2.028) = +17.8^\circ$.

Phenylosazon der Cellotetraose: 1 g reiner Zucker wurde, zusammen mit 1 g Phenyl-hydrazin-Chlorhydrat und 2 g Natriumacetat, in 30 ccm Wasser gelöst und die Flüssigkeit $\frac{1}{4}$ Stdn. am Wasserbade erwärmt. Man beobachtet bald eine gelbe Farbe, eine Abscheidung zeigt sich aber in der Hitze nicht. Die im Eisschrank aufbewahrte Lösung schied im Verlauf von einigen Stunden das Osazon aus, das abgenutzt, in 30 ccm heißem

Wasser gelöst und aus der filtrierten Flüssigkeit durch Abkühlen wiedergewonnen wurde (0.25 g). Hellgelbes Pulver; beim Eintrocknen größerer Stücke zeigt sich eine merklich dunklere Oberfläche. Durch Zerreiben wird die heller gelbe Farbe wiederhergestellt. Unter dem Mikroskop erblickt man flache, rundliche Gebilde (Kreisumriß, mit rundlichen Ausbuchtungen); eine krystallinische Struktur ist sehr wahrscheinlich. Zers.-Pkt. 228° (korr., unter Aufschäumen). Das Osazon löst sich leicht in Alkohol und in warmem Wasser.

0.2075 g Subst.: 11.80 ccm N (20°, 752.5 mm, korr. 739 mm).

$C_{36}H_{52}O_{19}N_4$. Ber. N 6.64. Gef. N 6.44.

$[\alpha]_D^{20} = -(100 \times 0.12^\circ) : (2 \times 0.147) = -41^\circ$ (in absol. Äthylalkohol).

Acetat der Cellotetraose: 1.2 g wurden mit einem Gemisch von je 15 ccm Pyridin und Acetanhydrid behandelt und innerhalb 1 Tages in der Kälte vollständig gelöst. Wir gossen dann in $\frac{1}{2}$ l Eiswasser ein und saugten das sofort ausgefallene, noch amorph aussehende Roh-Acetat ab. Es wurde in Chloroform aufgenommen, aus der wiederholt mit Wasser gewaschenen und getrockneten Lösung mit niedrig siedendem Petroläther gefällt, schließlich 2-mal aus heißem 96-proz. Alkohol umkrystallisiert. Die Verbindung (0.65 g) ist nun krystallinisch, und auch durch Umscheiden aus Chloroform-Äther können schöne, flache Prismen bzw. Nadeln erhalten werden, die sich typisch gruppieren (s. Fig. 4 der Tafel). Schmp. 225° (korr.).

0.2006 g Subst. (im Vakuum, bei 70—80° konstant): 0.3749 g CO_2 , 0.1049 g H_2O .
 $C_{62}H_{70}O_{35}$. Ber. C 49.72, H 5.62. Gef. C 49.63, H 5.70.

Molekulargewicht. 0.3430 g Subst. in 31.91 g Bromoform ($k = 14.4$): $\Delta = 0.125^\circ$.
 $C_{62}H_{70}O_{35}$. Ber. Molgew. 1255. Gef. Molgew. 1238.

Das Acetat dreht nach links: $[\alpha]_D^{20} = -(100 \times 0.65^\circ) : (2 \times 2.081) = -15.6^\circ$ (in Chloroform).

Zur Acetyl-Bestimmung wurden 0.4—0.5 g in 10 ccm heißem Alkohol gelöst und mit 5 Vol. 0.2-n. Kali über Nacht stehen gelassen. Die unverbrauchte Lauge ließ sich auf Phenol-phthalein zurücktitrieren. Gleichzeitig lief, nach dem Vorschlag von B. Helferich und W. Klein²⁴), ein blinder Versuch, um den Laugen-Verbrauch des freien Zuckers zu ermitteln. Bei den nachstehenden Zahlen ist diese Korrektur (0.13 ccm) schon berücksichtigt.

0.4231 g Subst. verbrauchten 23.84 ccm 0.2-n. Kalilauge.

$C_{24}H_{28}O_{21}(CO.CH_3)_{14}$. Ber. $CH_3.CO$ 48.0. Gef. $CH_3.CO$ 48.5.

Die präparative Abspaltung der Acetylene mit Natriummethylat nach G. Zemp-lén (l. c.) lieferte in guter Ausbeute krystallisierte Tetraose zurück. (0.25 g aus 0.6 g, Cu-Zahl 0.87 (5)). Das Regenerat drehte:

Nach 5 Min.: $[\alpha]_D^{20} = (100 \times 0.53^\circ) : (4 \times 1.135) = +11.7^\circ$ (in Wasser),

Endwert (7 Stdn.): $[\alpha]_D^{20} = (100 \times 0.77^\circ) : (4 \times 1.135) = +17.0^\circ$ „ „

VI. Cellotriose.

Isolierung: Für die Abscheidung dieses Zuckers kamen die Fraktionen C 4, C 5, D und E in Betracht. In Abschnitt III ist bereits angegeben, daß die Unterfraktion C 5 eine krystallisierte, rohe Triose ist (1.7 g). Aus C 4 haben wir die Gewinnung von 0.5 g Cellotetraose oben beschrieben; die Mutterlauge schieden bei 20°, im Verlauf von einigen Tagen, schön krystallisierte Triose ab (0.7 g, CuZ 1.02).

²⁴) A. 450, 219, u. zw. 224 [1026].

Die sirupöse Fraktion D, hauptsächlich aus Tetra-, Tri- und Biose bestehend, ließ sich durch rasche Ausfällungen nicht mehr zerlegen, da immer nur dicke Sirupe herauskamen. Zwecks Isolierung der Triose haben wir sie in 30 ccm Wasser gelöst, mit 60 ccm absol. Alkohol verrieben und unter Turbinieren in 1 l absol. Alkohol eingeührt. Das ausgefallene, klebrige, sehr hygroskopische Material (auch Tetraose enthaltend) wurde vernachlässigt, wodurch der Rest viel günstigere Eigenschaften annahm. Den Rückstand der völlig abgedampften Mutterlauge nahmen wir in 15 ccm Wasser auf. Nach Zusatz von 60 ccm absol. Alkohol blieb die Lösung zunächst klar, sie begann jedoch einige Tage später, Krystalle abzuscheiden. Wir ließen sie bei 20° ruhig stehen und erhöhten den Alkohol-Gehalt stufenweise sehr vorsichtig, nur in dem Maße, wie die Krystall-Bildung fortschritt. Zum Schluß waren etwa 250–300 ccm absol. Alkohol zugegen, und die nun abgeseugte Substanz wog 4 g (CuZ 1.03, JZ 40.4). 1 Monat später konnte noch ein unreineres Triose-Präparat isoliert werden (3 g, CuZ 0.95).

Aus E ließ sich sowohl Triose als auch Cellobiose auf folgendem Wege gewinnen: Wir haben die wäßrige Lösung (30 ccm) im Verlauf von 2 Monaten sukzessive mit Alkohol versetzt, die abgeschiedenen Krystalle portionenweise zu 5 verschiedenen Zeitpunkten abfiltriert und untersucht²⁵⁾:

a) 1.3 g, Cu-Zahl 1.03, Jod-Zahl 38.0, mutarotiert nach unten (rohe Triose);
 b) 0.8 g, Cu-Zahl 1.19, Jod-Zahl 48.0, kleine Mutarotation nach oben (Triose, mit Cellobiose);

c) 3.0 g, Cu-Zahl, 1.23, Jod-Zahl 55.0, mutarotiert nach oben (mit Triose verunreinigte Cellobiose);

d) 1.8 g, Cu-Zahl 1.26, Jod-Zahl 53.6, mutarotiert stärker nach oben; gef. Molgew. 300 (rohe Cellobiose);

e) 0.9 g, Cu-Zahl 1.32, Jod-Zahl 56.1, mutarotiert, wie d); gef. Molgew. 305 (rohe Cellobiose).

d) und e) wurden auf die Biose verarbeitet (3- bzw. 1-maliges Umkrystallisieren aus Wasser-Alkohol war ausreichend). Die Fraktion a) ergab Cellotriose auf dem üblichen Wege.

Reinigung und Beschreibung: Die verschiedenen Roh-Triosen haben wir vereinigt, 7 g davon, gemeinsam mit ebensoviel Material aus einem anderen Versuch, in 35 ccm Wasser gelöst und mit 500 ccm absol. Alkohol versetzt. Bald schied sich etwas Sirup ab, später erschienen die ersten Krystalle. Nach 2½ Tagen, als bereits eine namhafte Menge von Krystallen sich dem Sirup zugesellte, wurde die überstehende, klare Lösung abgegossen. Im Verlauf 1 Woche schied sie 4 g Cellotriose ab. Die letztere war so rein, daß sirupöse Produkte nicht einmal mehr bei raschen Umscheidungen auftraten. Wir haben zu der mit 20 ccm Wasser bereiteten Lösung 300 ccm heißen absol. Weingeist gefügt und die beim Erkalten hervorgeschossenen, hübschen Krystalle bereits 3 Stdn. später abgeseugt (3.7 g). Sie zeigten (nach Abdampfen des Alkohol-Gehaltes und Trocknen bei 110°, 20 mm) das erwartete Molekulargewicht.

0.3428 g Sbst. in 11.71 g Wasser: $\Delta = 0.115^\circ$.

$C_{18}H_{32}O_{16}$. Ber. Molgew. 504. Gef. Molgew. 473.

²⁵⁾ Erschien zufolge Abkühlen des Raumes etwas Sirup, so mußte dieser durch vorsichtiges Zutropfen der gerade erforderlichen Wasser-Menge in Lösung gebracht werden.

Zur Sicherheit wurde noch einmal umkrystallisiert. Die Kupfer-Zahl betrug nun 1.03, bei einem anderen Präparat 1.07.

0.2245 g Sbst.: 0.3508 g CO₂, 0.1306 g H₂O.

C₁₈H₃₂O₁₆. Ber. C 42.84, H 6.40. Gef. C 42.61, H 6.51.

Molekulargewicht. 0.3454 g Sbst. in 11.71 g Wasser: Δ = 0.113°.

C₁₈H₃₂O₁₆. Ber. Molgew. 504. Gef. Molgew. 485.

Jod-Zahl. 0.1381 g Sbst. verbrauchten 5.46 ccm 0.1-n. Jod-Lösung. — 0.1097 g (anderer Herkunft) verbrauchten 4.42 ccm.

C₁₈H₃₂O₁₆. Ber. Jod-Zahl 39.7. Gef. Jod-Zahl 39.5, 40.3.

Die Triose mutarotiert unter Drehungsverminderung:

Nach 5 Min.: $[\alpha]_D^{20} = (100 \times 0.78^0) : (2 \times 1.226) = +31.8^0$ (in Wasser),

Endwert (10 Stdn.): $[\alpha]_D^{20} = (100 \times 0.57^0) : (2 \times 1.226) = +23.2^0$ „ „

Messung an einem anderen Präparat:

Endwert: $[\alpha]_D^{20} = (100 \times 0.64^0) : (2 \times 1.381) = +23.2^0$.

Cellotriose bildet ein weißes, süßes Krystallpulver. Einmal konnten die Krystalle bereits unter der Lupe wahrgenommen werden. Bei 100-facher Vergrößerung sieht man charakteristisch ausgebildete Garben und Büschel, mitunter auch zigarrenförmige Gebilde, aus geraden oder verbogenen Nadeln bestehend (vergl. Fig. 1 der Tafel). Es kommen auch Einzelkrystalle vor. Der Zucker wird von 7–8 Tln. Wasser bei Raum-Temperatur leicht gelöst und selbst von absol. Alkohol nicht sofort niedergeschlagen, sondern zu Krystall-Bildung veranlaßt. Schmp. 238° (korr., Aufschäumen, Braunfärbung; öfters wurde ein erster Schmp. zwischen 160–170° beobachtet; nachher wurde die Substanz wieder fest).

Phenylosazon der Cellotriose: 0.5 g Zucker, 1 g Phenyl-hydrazin-Chlorhydrat, 2 g Natriumacetat, gelöst in 20 ccm Wasser, wurden $\frac{5}{4}$ Stdn. im Wasserbade erhitzt. Die Lösung färbte sich bald gelb, aber erst beim Erkalten erschienen rundliche, gelbe Warzen, die aus einheitlichen, meist dicht gelagerten, konzentrisch gruppierten Nadeln zusammengesetzt waren. Das Osazon wurde aus 30 ccm heißem Wasser umkrystallisiert und war dann rein (s. Fig. 5 der Tafel). Ausbeute 0.13 g. Schmp. 208° (unkorr.).

0.1104 g Sbst.: 8.45 ccm N (29°, 748.5, korr. 726.5 mm). — 0.0950 g Sbst. (anderes Präparat): 7.00 ccm N (18°, 754, korr. 742 mm).

C₃₀H₄₂O₁₄N₄. Ber. N 8.21. Gef. N 8.27, 8.44.

Das Drehungsvermögen betrug für 2 verschiedene Präparate:

$[\alpha]_D^{20} = -(100 \times 0.12^0) : (2 \times 0.365) = -16^0$ (in absol. Alkohol),

$[\alpha]_D^{20} = -(100 \times 0.40^0) : (4 \times 0.597) = -16.7^0$ (in absol. Alkohol).

Acetat der Cellotriose: Darstellung wie bei dem Tetraose-Derivat angegeben (2.5 g Zucker, je 20 ccm Pyridin und Essigsäure-anhydrid; Versuchsdauer 1 Tag). Das Reaktionsprodukt wog 4.5 g, nach 2-maligem Umkrystallisieren aus 96-proz. Alkohol 3.0 g. Weißes Pulver; die Krystallform ist mit dem unbewaffneten Auge erkennbar. Aus Alkohol: zu Büscheln vereinigte Nadeln, aus Chloroform-Äther: schöne Einzelkrystalle (lange, gerade Nadeln und dünne Spieße, vergl. Fig. 3 der Tafel). Die Formen erinnern an Cellobiose-octaacetat. Schmp. 199–200° (korr.).

0.1661 g Sbst.: 0.3011 g CO₂, 0.0825 g H₂O.

C₄₀H₆₄O₂₇. Ber. C 49.67, H 5.63. Gef. C 49.44, H 5.56.

Molekulargewicht. 0.2198 g Sbst. in 32.54 g Bromoform: Δ = 0.098°.

C₄₀H₆₄O₂₇. Ber. Molgew. 966. Gef. Molgew. 992.

$[\alpha]_D^{20} = (100 \times 0.16^0) : (2 \times 1.108) = +7.2^0$ (in Chloroform).

Acetyl-Bestimmung. 0.5348 g Sbst. verbrauchten 30.62 ccm 0.2-n. Kaliumhydroxyd. — 0.6478 g Sbst.: 37.28 ccm (nach Abzug der beim Tetraosen-Acetat erwähnten Korrektur).

$C_{18}H_{21}O_{18}(CO.CH_3)_{11}$. Ber. $CH_3.CO$ 49.0. Gef. $CH_3.CO$ 49.2, 49.5.

Durch Abspaltung der Acetyl-Gruppen nach G. Zemplén (l. c.) wurde kristallisierte Cellotriose regeneriert. Die Acetolyse (0.5 g Triose, 5 ccm Acetanhydrid, 10 Tropfen konz. Schwefelsäure) führte zu gut kristallisiertem Cellobiose-octacetat, das 2-mal umkristallisiert, ergab: Schmp. 221° (unkorr.).

$[\alpha]_D^{20} = (100 \times 0.26^0) : (4 \times 0.1435) = +45^0$ (in Chloroform).

VII. Cellobiose.

Die Isolierung aus Fraktion E wurde vorangehend beschrieben; die Eigenschaften stimmen mit Präparaten überein, die acetolytisch bereitet wurden. Ausbeute an analysen-reinem Zucker: 2 g, aus 400 g Baumwolle.

Cu-Zahl 1.32. — 0.0801 g Sbst. verbrauchten 4.49 ccm 0.1-n. Jod-Lösg. — 0.2631 g Sbst. in 11.71 g Wasser: $\Delta = 0.133^0$.

$C_{12}H_{22}O_{11}$. Ber. Jod-Zahl 58.4, Molgew. 342. Gef. Jod-Zahl 56.1, Molgew. 314.

Die Drehung betrug mit nach oben gerichteter Mutarotation:

$[\alpha]_D^{20} = (100 \times 0.70^0) : (2 \times 1.052) = +33.3^0$ (in Wasser).

Das Phenylsazon schied sich erst beim Erkalten aus. Die gelben Warzen sind dem entsprechenden Derivat der Cellotriose nicht unähnlich.

0.0962 g Sbst.: 8.75 ccm N (15.5°, 773, korr. 759 mm).

$C_{24}H_{32}O_9N_4$. Ber. N 10.76. Gef. N 10.75.

$[\alpha]_D^{20} = -(100 \times 0.10^0) : (2 \times 0.253) = -20^0$ (in absol. Alkohol).

Acetat: Durch Behandlung des Zuckers mit Acetanhydrid in Pyridin entstanden lange Nadeln der Octaacetyl-cellobiose (Schmp. 192°, korr.). Wir haben ihr Molekulargewicht in Bromoform gemessen, um die Ergebnisse solcher mit höheren Zuckern ausgeführten Bestimmungen zu überprüfen.

0.2155 g Sbst. in 30.57 g Bromoform: $\Delta = 0.148^0$.

$C_{28}H_{38}O_{19}$. Ber. Molgew. 678. Gef. Molgew. 686.

§ VIII. Die Frage nach Reversionsprodukten.

Obwohl es ausgeschlossen war, daß die beschriebenen Oligosaccharide einem Reversions-Vorgang entstammen, war es vielleicht doch nicht überflüssig, erneut die Resistenz von reinem Traubenzucker gegen die Säure zu untersuchen.

Eine 1.3-proz. Traubenzucker-Lösung in rauchender Salzsäure zeigte:

Frisch bereitet: Cu-Zahl 1.92, Jod-Zahl 111, $[\alpha]_D^{20} = +53.0^0$ (in NaCl).

Nacht 15 Stdn.: Cu-Zahl 1.92, Jod-Zahl 104, $[\alpha]_D^{20} = +55.5^0$ (in NaCl).

Bedenkt man, daß die Einwirkungs-Dauer der Säure bei den Abbauprobungen höchstens 4 Stdn. betragen hat, und daß selbst während dieser Zeitspanne der allergrößte Teil des Materials nicht als Glucose zugegen war, so kann der Einwand als beseitigt gelten, daß Reversionsprozesse, die übrigens Drehungs-Steigerungen verursachen, das Ergebnis dieser Arbeit beeinflussen haben.