

mehr, das amorphe Calciumsalz beim Absaugen gewaschen mit 50-, 85-, 95-proz. Alkohol, nach dem Trocknen auf Ton zerlegt mittels Oxalsäure, die abgesaugte Säure-Lösung $\frac{1}{2}$ Stde. mit Zinkcarbonat gekocht; die auf kleines Volumen verdampfte Zinksalz-Lösung lieferte trotz Impfung mit früher gewonnenem methoxy-trioxy-glutarsaurem Zink nur sehr langsam (im Verlauf von mehreren Tagen) eine Kruste von mikroskopischen Tafeln und Prismen; das mit Wasser ausgewaschene Salz hat die früher ermittelte Formel $C_6H_8O_7Zn + 4H_2O$; durch Zerlegung desselben mittels Schwefelwasserstoffs⁶⁾ gewinnt man die Säure, deren Sirup ebenfalls nur langsam völlig erstarrt; für meinen jetzigen Zweck wurde die rohe Säure einfach durch Aufstreichen auf Ton gereinigt; Schmp. 122° .

0.5034 g Säure in 10 ccm Wasser, $l = 1$, $\alpha = -1.38^\circ$ (Mittel aus 12 Ablesungen), folglich $[\alpha]_D^{20} = -27.4^\circ$, was allerdings eine auffallend hohe Zahl ist, wenn die eingangs ausgesprochene Vermutung zu Recht besteht, wonach meine Methoxy-säure abzuleiten wäre von der (inaktiven) Xylo-trioxy-glutarsäure.

Als unliebsames Nebenprodukt scheint bei obiger Oxydation eine ziemliche Menge einer Keto-säure zu entstehen (starke Fehling-Reaktion und sehr starke Dunkelfärbung beim Kochen mit Calciumcarbonat); oxydiert man das Digitalon-lacton mit 55-proz. Salpetersäure bei Zimmer-Temperatur in gleicher Weise, wie dies beim Rhamnon-lacton⁷⁾ durchgeführt wurde, so entsteht direkt keine Ausscheidung vom neuen Produkt, die Mischung reduziert aber äußerst stark „Fehling“, und sie gibt nach Beseitigung der überschüssigen Salpetersäure mittels Äthers⁸⁾ auf Zusatz von salzsaurem *p*-Nitro-phenyl-hydrazin (in Lösung 1:10) zunächst eine Trübung, die sich innerhalb 24 Stdn. zu reichlichem Niederschlag (kugelige Körner) verstärkt, schwer löslich in kaltem 95-proz. Alkohol, besser (aber keineswegs leicht) in heißem, beim Erkalten rasch in Warzen oder Büscheln von langen Nadeln krystallisierend; weitere Untersuchung fehlt noch.

318. L. Zechmeister und G. Tóth: Zur Kenntnis der Hydrolyse von Chitin mit Salzsäure (I. Mitteil.).

[Aus d. Chem. Institut d. Universität Pécs, Ungarn.]

(Eingegangen am 1. Juli 1931.)

In Fortsetzung der von R. Willstätter und dem einen von uns begonnenen Versuchsreihe haben wir kürzlich gezeigt, daß krystallisierte Zwischenprodukte des Cellulose-Abbaus gefaßt werden können, wenn die Hydrolyse mit kalter, hochkonzentrierter Salzsäure vorgenommen und eine Behandlung mit Silbercarbonat daran angeschlossen wird¹⁾. Es lag nahe, dieselbe Methode auf andere Polyosen und insbesondere auf die tierische Gerüstsubstanz zu übertragen. Bereits die Entdeckung des Glucosamins durch Extraktion von Hummerscheren mit heißer konz. Salzsäure (G. Ledderhose²⁾) zeigt die vollkommene Hydrolysierbarkeit von Chitin mit Chlor-

⁶⁾ vergl. S. 2019/20. — Zum Auswaschen von Zink- und Kupfersulfid benützt man an Stelle des sonst vorgeschriebenen Schwefelwasserstoff-Wassers zweckmäßig mit Äther gesättigtes Wasser. ⁷⁾ B. 55, 82 [1922].

⁸⁾ B. 55, 2817 [1922].

¹⁾ B. 64, 854 [1931].

²⁾ vergl. bei K. H. Meyer u. H. Mark, B. 61, 1936 [1928].

wasserstoff an. Andererseits wurde von mehreren Autoren die Reinigung des Chitins durch Lösen in kalter Salzsäure und Fällen mit Wasser vorgenommen, wobei sich keinerlei Symptome eines hydrolytischen Zerfalls zeigten³⁾. Zwischen diesen Grenzfällen mußten Versuchs-Bedingungen liegen, die für die Isolierung von partiellen Abbauprodukten günstig sind. Wir fanden sie bei der hydrolytischen Spaltung mit kalter, überkonzentrierter Salzsäure.

Lösungen von Chitin in der käuflichen Säure geben nach 48-stdg. Verweilen bei Zimmer-Temperatur mit 5 Vol. Eiswasser noch einen Niederschlag; verwendet man aber eine bei 0° mit HCl gesättigte Säure, bereitet die Lösung bei 10° und läßt 15 Stdn. in geschlossener Flasche bei 20° stehen, so ist die Flüssigkeit mit der angegebenen Wasser-Menge nicht mehr fällbar. Nach Abstumpfen mit überschüssigem Silbercarbonat kann aus dem eingeeengten Filtrate mit Alkohol viel Material von mittlerer Molekulargröße abgeschieden werden, und die entsprechend behandelte Mutterlauge liefert bei vorsichtigem Zusatz von Äther hübsch krystallisiertes *N*-Acetyl-glucosamin, das bereits von S. Fränkel und A. Kelly⁴⁾ mit Hilfe von Schwefelsäure in mäßiger, von P. Karrer und A. Hofmann⁵⁾, bzw. von P. Karrer und G. v. François⁶⁾ auf enzymatischem Wege in vortrefflicher Ausbeute aus Chitin gewonnen wurde.

Wie die Cellulose, so gibt auch Chitin ein Hydrolysat, das alle Abbaustufen nebeneinander umfaßt, von der Monose bis hinauf zu wasser-unlöslichen Zwischenprodukten. Die annähernde Bilanz des unten beschriebenen Versuches war: 25% Acetyl-glucosamin, 15% Wasser-unlösliches (im Chlor-silber-Schlamm verblieben, löslich in verd. Säure) und 60% an mittleren Fraktionen von recht verwickelter Zusammensetzung. Ihre weitere Aufteilung führte zunächst zu körnigen, amorphen Stoffen; doch haben wir auf diesen Weg vorläufig verzichtet, auf Grund der Beobachtung, daß man durch mildes Acetylieren in Pyridin zu gut krystallisierten Acetaten von zusammengesetzten Glucosamin-Zuckern gelangt.

Als das niedrigste Produkt der Acetylierung ist das in farblosen Nadeln krystallisierende Oktaacetat einer Biose isoliert worden, und zwar einige Gramme aus 100 g Chitin. Schmp. 305° (korr.); rechtsdrehend, $[\alpha]_D = +55^0$ (in Eisessig): Der Stickstoff-Gehalt verrät sich beim Erwärmen mit Alkali, in Form von Ammoniak. Die Analyse zeigt, daß je 1 Stickstoff-Atom auf 1 Hexose-Rest trifft, wie im Glucosamin. Die Molekulargröße geht aus der ebullioskopischen Bestimmung hervor. Charakteristisch für dieses Acetat ist seine gute Löslichkeit in kaltem Chloroform. Als Krystallisierungsmittel wurde heißer Alkohol verwendet. Die Verbindung ist wahrscheinlich identisch mit dem Chitobiose-oktaacetat, dessen Entdeckung M. Bergmann, L. Zervas und E. Silberkweit⁷⁾ jüngst auf dem Wege der Acetolyse gelang und kurz angezeigt wurde. Die genannten Forscher geben den Schmp. 289° und die Drehung +50° an.

³⁾ D. H. Wester, Arch. Pharmaz. **247**, 292 [1909]; E. Knecht u. E. Hibbert, C. **1927**, 1190; P. Karrer u. A. Hofmann, Helv. chim. Acta **12**, 616 [1929]. — Zusammenfassendes über Chitin: P. Karrer, Einführung in die Chemie der polymeren Kohlenhydrate, S. 252—261 [Leipzig, 1925].

⁴⁾ Monatsh. Chem. **28**, 123 [1902].

⁵⁾ vergl. Anm. 3.

⁶⁾ Helv. chim. Acta **12**, 986 [1929].

⁷⁾ Naturwiss. **19**, 20 [1931].

Außer den Acetyl-Derivaten der Monose und der Biose des Chitins sind noch höher-molekulare, gleichfalls in Nadel-Form krystallisierende Acetate in unseren Händen. Sie unterscheiden sich von den oben beschriebenen sehr auffallend durch ihre Schwerlöslichkeit in Chloroform und durch ihr geringeres Drehvermögen. Die Prüfung dieser Produkte ist noch nicht abgeschlossen. Auf Grund der bei der Cellulose gemachten Erfahrungen, sowie der Angaben von P. Karrer und A. Hofmann (l. c.) betr. Chitosan dürfte vor allem die Tri- bzw. Tetrasaccharid-Stufe in Frage kommen.

Mit der Fortsetzung der nachfolgend mitgeteilten Versuche sind wir beschäftigt.

Beschreibung der Versuche.

Zerlegung des Chitin-Hydrolysates in Fraktionen.

Die Lösung von 100 g gemahlenem Krebs-Chitin⁸⁾ in 1650 g bei 0° gesättigter Salzsäure wurde in einer Stöpselflasche 15 Stdn. bei 20° stehen gelassen. Sodann haben wir 20 Min. mit der Wasserstrahl-Pumpe gesaugt, vorsichtig mit 4 l Eiswasser verdünnt und mit geschlämmtem Silbercarbonat unter Rühren neutralisiert. Das im Vakuum auf 1 l eingeengte Filtrat gab mit dem gleichen Vol. 96-proz. Alkohol einen Niederschlag (Fraktion I, 18 g, in Wasser teilweise löslich) und die auf 400 ccm gebrachte Mutterlauge mit 5 l Alkohol einen zweiten (Fraktion II, 27 g, in Wasser vollkommen löslich, süßlich schmeckend).

Die Lösung hinterließ einen fast farblosen, festen Abdampf-Rückstand. Wir kochten ihn mit 600 ccm Alkohol aus, nahmen den Rest in 40 ccm Wasser auf und versetzten die Lösung mit dem heißen weingeistigen Auszug, zuzüglich 400 ccm frischen Alkohols. Beim Erkalten schied sich Fraktion III aus (2.2 g), durch Verjagen des Lösungsmittels und Wiederholung der beschriebenen Operationen wurde Fraktion IV isoliert (2.2 g).

Die alkoholische Mutterlauge (600 ccm) fällte man mit 1 Vol. Äther und isolierte die klebrige Fraktion V (4–5 g). Zum Filtrate wurde vorsichtig, nur in dem Maße wie die Abscheidung fortschritt, 1 l Äther im Verlaufe 1 Woche zugesetzt. Die so erhaltene, schon in rohem Zustand gut krystallinische Fraktion VI bestand fast ausschließlich aus *N*-Acetylglucosamin und wog 19.5 g. Aus der Mutterlauge konnten durch Abdampfen, Lösen in Weingeist und Fällen mit Äther noch weitere 3 g derselben Substanz gewonnen werden.

Isolierung von *N*-Acetylglucosamin.

Fraktion VI wurde aus Alkohol-Äther, wie beschrieben, umkrystallisiert und zwar unter Verwerfung der zunächst erschienenen Nadeln. Von der Hauptmenge gelangten dann 5.2 g zur weiteren Verarbeitung. Die Lösung in 400 ccm heißem Methylalkohol wurde 3 Stdn. bei 25° stehen gelassen, von etwas Abgeschiedenem filtriert und auf 100 ccm eingeeengt. Nach dem Erkalten konnten sehr schöne Nadeln abgesaugt werden (1.5 g); die Mutterlauge schied auf Zusatz von Äther weitere 2.4 g ab. Die 1.5-g-Fraktion war analysenrein und wurde nur zur Sicherheit nochmals aus Holzgeist um-

⁸⁾ Einen großen Teil unseres Ausgangsmaterials verdanken wir Hrn. G. Zemplén (Budapest).

geschieden. Farblose, lange Nadeln, Schmp. 192° unkor. Mit *N*-Acetylglucosamin (aus käufli. Glucosamin-Chlorhydrat bereitet): keine Depression..

0.1387 g Sbst.: 0.2205 g CO₂, 0.0871 g H₂O. — 0.2471 g Sbst.: 13.80 ccm N (21°, 748, korr. 734 mm).

C₈H₁₅O₆N. Ber. C 43.41, H 6.84, N 6.33. Gef. C 43.36, H 7.03, N 6.26.

Molekulargewicht (kryoskopisch). 0.1955 g Sbst. in 11.71 g Wasser (k = 1.86): Δ = 0.151°.

C₈H₁₅O₆N. Ber. M 221. Gef. M 206.

Kupferzahl (Cu-Z.). 0.0707 g Sbst.: 13.06 ccm 0.1-n. Permanganat. — Gef. Cu-Z. 1.17, also rund 60% des für Traubenzucker berechneten Wertes.

Drehung. Die Substanz ist rechtsdrehend, mutarotiert stark nach unten und ergab in Wasser als Endwert:

$$[\alpha]_D^{20} = + (100 \times 1.21^\circ) : (4 \times 0.7820) = + 38.7^\circ.$$

Isolierung des Oktaacetates einer Biose.

Fraktion V wurde mit 20 ccm Pyridin und ebensoviel Acetanhydrid übergossen und unter gelegentlichem Umschütteln sich selbst überlassen. Nach 2 Tagen war ein Teil noch ungelöst. Wir gossen ab, erneuerten das Pyridin + Anhydrid und ließen weitere 2 Tage stehen. Die von einem belanglosen Rückstand dekantierte und mit dem ersten Auszug vermengte Lösung schied auf Zusatz von 100 ccm Äther nur wenig Material ab, das vernachlässigt wurde. Das Filtrat gab, in Eiswasser gegossen, keinen Niederschlag. Wir schüttelten die wäßrige Lösung 3-mal mit je 30 ccm Chloroform und fällten den vorher gewaschenen und getrockneten Chloroform-Extrakt mit 10 Vol. niedrig siedendem Petroläther. Der noch etwas klebrige Niederschlag konnte mit 65 ccm heißem 96-proz. Alkohol von den Wandungen des Glases abgelöst werden und erschien nach langsamer Abkühlung in Form von farblosen Nadeln, die schon unter der Lupe zu erkennen sind. Nach 2-maligem Umkrystallisieren aus der gerade hinreichenden Menge von heißem Alkohol: 1.5 g; Schmp. 292° (unkorr.), 305° (korr.). Die Nadeln sind teilweise zu Büscheln gruppiert. Das Acetat ist leicht löslich in Eisessig, sowie in Chloroform, leicht in heißem Alkohol, wenig in heißem Aceton, sehr schwer bzw. unlöslich in Äther, Petroläther. Es reduziert Fehlingsche Lösung.

0.2164 g Sbst.: 0.3945 g CO₂, 0.1177 g H₂O. — 0.3450 g Sbst.: 14.20 ccm N (28°, 749, korr. 729 mm).

C₂₈H₄₀O₁₇N₂. Ber. C 49.68, H 5.97, N 4.14. Gef. C 49.72, H 6.09, N 4.48.

Molekulargewicht (ebullioskopisch). 0.2662 g Sbst. in 14.25 g Chloroform (k = 3.91): Δ = 0.106°.

C₂₈H₄₀O₁₇N₂. Ber. M 676. Gef. M 689.

(Für ein Trisaccharid würde M 963 betragen.)

Drehung in Eisessig (keine Mutarotation):

$$[\alpha]_D^{20} = + (100 \times 0.85^\circ) : (4 \times 0.3844) = + 55.3^\circ.$$

Jodzahl (JZ.) nach M. Bergmann und H. Machemer⁹⁾ (bei Anwendung der 5-fachen Jodmenge). 0.2682 g Sbst.: 9.69 ccm 0.1-n. Jodlösung.

C₂₈H₄₀O₁₇N₂. Ber. JZ 29.6. Gef. JZ 36.1.

Die Abweichung von dem berechneten Betrag ist nicht von der Anwesenheit von Verunreinigungen, sondern dadurch bedingt, daß die Jodzahlen in dieser Reihe, wie wir

⁹⁾ B. 63, 316, 2304 [1930].

uns auch an dem Acetyl-glucosamin überzeugten, bei der üblichen Arbeitsweise stets zu hohe und vom Jod-Überschuß abhängige Werte liefern.

Höhere Acetate.

Fraktion III wurde in der angegebenen Weise acetyliert und aufgearbeitet. Das gut krystallisierende Reaktionsprodukt schmilzt bei 320° (korr.) und ist in niederen Alkoholen auch in der Hitze viel weniger löslich als das entsprechende Derivat der Biose. Besonders kennzeichnend ist die Schwerlöslichkeit selbst in warmem Chloroform. Die Krystallform dieses Präparates zeigt Büschel, dabei auch freie Nadelchen. In Eisessig konnte keine Mutarotation wahrgenommen werden.

$$[\alpha]_D^{20} = +(100 \times 0.56^{\circ}) : (4 \times 0.4248) = +33.0^{\circ}$$

Ein aus einer vorangehenden Fraktion erhaltenes Acetat zeigte denselben Habitus, drehte aber nur 17° nach rechts.

319. Max Bergmann und Leonidas Zervas: Ergänzung zu unserer Mitteilung: Neue Dismutationsprodukte der Zucker¹⁾.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Lederforschung in Dresden.]

(Eingegangen am 18. Juli 1931.)

Der von Y. Asahina²⁾ entdeckte und von L. Zervas³⁾ synthetisierte Styracit liefert nach Asahina bei der Oxydation mit Hypobromit einen reduzierenden Stoff, dessen Osazon $C_{18}H_{20}O_3N_4$ trapez- oder halbmondförmige Krystalle vom Schmp. 185° bildet. Die 1-proz. Lösung des Osazons in Eisessig dreht das weiße Licht um 1.10° nach links. In pyridin-alkoholischer Lösung dreht es unmittelbar nach der Auflösung nach rechts; doch bald kehrt sich die Richtung um, und nach einiger Zeit dreht die Lösung ziemlich stark nach links.

Nun haben wir jüngst in der 16. Mitteilung dieser Reihe aus Tetracetyl-oxyglucal ein Osazon von ähnlicher Zusammensetzung erhalten, für das wir damals wegen der geringen verfügbaren Osazon-Menge nicht zwischen den ähnlich zusammengesetzten Formeln $C_{18}H_{20}O_3N_4$ und $C_{18}H_{22}O_3N_4$ unterscheiden konnten. Da aber unser Osazon im Schmelzpunkt und der Krystallform ganz dem von Asahina beschriebenen entsprach, schien uns eine Neudarstellung unseres Präparates in etwas größerem Maßstabe und sein genauerer Vergleich mit den Angaben Asahinas nützlich.

Zunächst konnten wir für das Osazon aus Oxy-glucal dieselbe Formel sicherstellen, wie sie dem Osazon aus Styracit zukommt.

0.1081 g Sbst.: 0.2524 g CO_2 , 0.0593 g H_2O . — 3.975 mg Sbst.: 0.577 ccm N (22° , 750 mm, nach Pregl).

$C_{18}H_{20}O_3N_4$ (340.2). Ber. C 63.49, H 5.92, N 16.47. Gef. C 63.68, H 6.14, N 16.57.

$C_{18}H_{22}O_3N_4$ (342.2). Ber. C 63.12, H 6.43, N 16.37.

Eine 1-proz. Lösung unseres Osazons in Eisessig drehte das polarisierte Licht der D-Linie 5 Min. nach der Auflösung um 1.18° nach links. 10 Min. nach der Auflösung war $\alpha_D = -1.36^{\circ}$, 20 Min. nach der Auflösung war $\alpha_D = -1.43^{\circ}$. Bald darnach fing

¹⁾ 17. Mitteilung über ungesättigte Reduktionsprodukte der Zucker; vergl. unsere 16. Mittel.: B 64, 1434 [1931].

²⁾ B. 45, 2363 [1912].

³⁾ B. 63, 1689 [1930].