

156. Burckhardt Helferich und Siegfried Rudolf Petersen: Die Synthese einiger α -Maltoside und ihr Verhalten gegen Diastase.

[Aus d. Chem. Laborat. d. Universität Leipzig.]

(Eingegangen am 23. März 1935.)

Die Diastase, z. B. des Malzes, nimmt unter den Carbohydrasen eine besondere Stellung dadurch ein, daß unter ihrer Einwirkung aus einem Polysaccharid (Stärke) ein Disaccharid entsteht, das jedoch durch eine andere Carbohydrase, z. B. die α -Glucosidase der Hefe, weiter (in 2 Mol. Glucose) gespalten werden kann. Ist die vielfach vertretene Anschauung richtig, daß die Stärke nur (oder im wesentlichen) aus α -glucosidisch, nach Art der Maltose in 4-Stellung, gebundenen Gluco-pyranosen aufgebaut ist, so löst Diastase in dem Polysaccharid Stärke die gleiche glucosidische Bindung, zu deren Lösung sie in der Maltose nicht befähigt ist.

Es schien interessant, einige α -Maltoside daraufhin zu untersuchen, ob an ihnen eine Spaltung in Maltose und Aglykon durch Diastase feststellbar ist, also eine Spaltung, die gewissermaßen als Modell-Spaltung der Stärke durch Diastase anzusehen wäre.

Wir wählten einige Phenol- α -maltoside, einmal weil bei der Spaltung der β -Glucoside durch Mandel-Emulsin sich die Phenol-Derivate als besonders gut spaltbar erwiesen haben¹⁾, dann auch weil durch die Synthese von Helferich und Schmitz-Hillebrecht²⁾ auch Phenol- α -maltoside recht leicht zugänglich sind.

Es gelang ohne besondere Schwierigkeit, die Heptacetyl-Verbindungen der α -Maltoside krystallin zu erhalten. Die freien Maltoside blieben jedoch hartnäckig amorph. Es müssen in dem Bau der Maltose selbst wohl Gründe für die besonders geringe Krystallisations-Neigung der α -Maltoside vorliegen, Gründe, die ja auch im Verhalten der Stärke zutage treten. Immerhin konnten auch die amorphen α -Maltoside durch die Analyse als weitgehend rein charakterisiert werden³⁾.

Vier so hergestellte α -Maltoside vom Phenol, vom *o*-Kresol, vom Saligenin (wie im Salicin der Zucker am phenolischen Hydroxyl) und ebenso vom *p*-[Oxy-methyl]-phenol zeigten sich als gegen Malz-Diastase resistent. Die sehr langsame Spaltung, die eintrat, ist durch einen geringen Gehalt der Diastase an α -Glucosidase zu erklären. Maltose konnte in keinem Fall, weder polarimetrisch, noch reduktometrisch, noch durch Isolierung (z. B. als Osazon) nachgewiesen werden³⁾.

Um ein größeres, gewissermaßen stärke-ähnlicheres Maltosid zu bekommen, wurde *p*-Oxy-diphenyl verwandt. Doch gelang es hier nur, die β -Verbindung herzustellen. Dagegen konnte ein *N*-Stearyl-[*o*-aminomethyl-phenol]- α -maltosid in brauchbarer Reinheit gewonnen werden. Aber auch hier, trotzdem die Substanz sich nur kolloidal in Wasser löst, konnte eine Spaltung durch Malz-Diastase unter Entstehung von Maltose nicht nachgewiesen werden³⁾.

Die Vergrößerung des Aglykons in den α -Maltosiden ist wohl noch viel zu äußerlich, um das Substrat wirklich für die Diastase „stärke-ähnlich“ zu machen.

¹⁾ B. Helferich u. H. Appel, Ztschr. physiol. Chem. **205**, 232 [1932].

²⁾ B. Helferich u. E. Schmitz-Hillebrecht, B. **66**, 378 [1933].

³⁾ Dissertat. Siegfried Petersen, Leipzig 1934.

α - und β -Phenol-maltosid, ebenso Saliginin- α -maltosid, wurden außerdem auch mit Pankreas-Amylase geprüft. Für freundliche Überlassung des Ferment-Präparates danken wir der Chemischen Fabrik Friedr. Witte, Rostock. Auch hier konnte eine Spaltung der Substrate, die irgendwie auch nur in der Größen-Ordnung mit der Stärke-Spaltung vergleichbar wäre, nicht festgestellt werden.

Es ist also vorläufig eine Brücke zwischen Malz-Diastase oder Pankreas-Amylase und der Spaltung von α -Maltosiden nicht zu schlagen.

Der Deutschen Forschungs-Gemeinschaft und der Rockefeller-Foundation sind wir für Unterstützung dieser Arbeit zu ergebenstem Dank verpflichtet.

Beschreibung der Versuche.

Darstellung der Maltoside.

Heptacetyl-phenol- α -maltosid: Eine geschmolzene Mischung von 68 g (1 Mol) Oktacetyl-maltose⁴⁾ und 57 g Phenol (6 Mole) werden nach Zugabe von 10 g Chlorzink 2 $\frac{1}{2}$ Stdn. unter kräftigem Rühren auf dem Wasserbade erhitzt. Die dunkle Schmelze wird mit etwa $\frac{1}{4}$ l Benzol aufgenommen, die Lösung nach dem Waschen mit Natronlauge und Wasser und nach Trocknen mit Chlorcalcium zur Trockne verdampft. Der zunächst amorphe Rückstand krystallisiert beim Anreiben mit 100 ccm Methanol. Nach mehrmaligem Umlösen aus einem Gemisch von absol. Alkohol mit 10% Dioxan erhält man die reine α -Verbindung mit einem Schmp. von 184—184.5 $^{\circ}$.

$$[\alpha]_D^{20} = +9.95^{\circ} \times 2.9856/0.1192 \times 1 \times 1.464 = +170.2^{\circ} \text{ (in Chloroform).}$$

4.097 mg Sbst.: 8.114 mg CO₂, 2.012 mg H₂O.

C₃₂H₄₀O₁₈ (712.32). Ber. C 53.91, H 5.66. Gef. C 54.01, H 5.50.

Heptacetyl-*o*-kresol- α -maltosid: Die Darstellung erfolgt im wesentlichen wie die der eben beschriebenen Phenol-Verbindung. Es genügen 80 Min. zur Beendigung der Kondensation. Der zunächst entstehende Sirup liefert beim Lösen in wenig heißem Methanol und Abkühlen die krystalline Substanz. Ausbeute 13 g aus 50 g Oktacetyl-maltose und ebensoviel *o*-Kresol. Die Substanz schmilzt bei 188.5—190 $^{\circ}$.

$$[\alpha]_D^{20} = +6.97^{\circ} \times 2.6765/0.0786 \times 1 \times 1.470 = +161.4^{\circ} \text{ (in Chloroform).}$$

4.163 mg Sbst.: 8.315 mg CO₂, 2.173 mg H₂O.

C₃₃H₄₂O₁₈ (726.34). Ber. C 54.52, H 5.83. Gef. C 54.47, H 5.84.

Heptacetyl-[ω -brom-*o*-kresol]- α -maltosid: Zu einer Lösung von 9.2 g Heptacetyl-*o*-kresol- α -maltosid (1 Mol) in 150 ccm absol. Chloroform werden nach Zumischen von 10 g Natriumbicarbonat unter naher Belichtung mit einer 200-Watt-Lampe, unter Eiskühlung und unter kräftigem Rühren im Verlauf von 3 Stdn. 2.06 g Brom (2 Mole), gelöst in 45 ccm Chloroform, zugetropft⁵⁾. Nach weiterem 2-stdg. Rühren ist fast alles Brom verbraucht. Die abfiltrierte Chloroform-Lösung hinterläßt einen Rückstand, der meist spontan krystallisiert, sonst beim Anreiben mit Äther. Durch Lösen in 25 ccm Chloroform, Zusatz von ebensoviel Äther und der doppelten Menge Petroläther kann die Substanz umkrystallisiert werden, ebenso durch Lösen

⁴⁾ P. Brigl u. P. Mistele, Ztschr. physiol. Chem. **126**, 125 [1923].

⁵⁾ B. Helferich u. R. Gootz, B. **65**, 407 [1932].

in 2 Tln. Chloroform und Fälln mit 9 Tln. Äther. Die Substanz schmilzt bei 198.5—199.5° (korr.).

4.640 mg Sbst.: 1.161 mg AgBr.

$C_{33}H_{41}O_{18}Br$ (805.3). Ber. Br 9.92. Gef. Br 10.65.

$[\alpha]_D^{25} = +5.98 \times 2.7629/0.0701 \times 1 \times 1.471 = +160.2$ (in Chloroform).

Heptacetyl-saligenin- α -maltosid: Eine Lösung von 3.5 g des eben beschriebenen Bromids in 50 ccm Aceton und 20 ccm Wasser wird mit 3 g Silberacetat $\frac{1}{2}$ Stde. rückfließend gekocht⁵⁾. Das nunmehr bromfreie Filtrat hinterläßt beim Verdampfen unter vermindertem Druck das krystalline Heptacetyl-saligenin- α -maltosid, das durch 2-maliges Umlösen aus Alkohol (+ Kohle) gereinigt wird. Ausbeute 2.8 g. Schmp. 191—192°, korr.

$[\alpha]_D^{25} = +8.92 \times 2.4316/0.0958 \times 1 \times 1.469 = +154^{\circ}$ (in Chloroform).

4.197 mg Sbst.: 8.230 mg CO_2 , 2.038 mg H_2O .

$C_{33}H_{42}O_{19}$ (742.34). Ber. C 53.35, H 5.70. Gef. C 53.48, H 5.43.

Heptacetyl-*p*-kresol-maltosid ($\alpha + \beta$): 50 g Oktacetyl-maltose, 50 g *p*-Kresol und 10 g Chlorzink werden unter dauerndem Rühren auf dem Wasserbade etwa 2.5 Stdn. zusammengeschmolzen. Die Aufarbeitung der Schmelze erfolgt zunächst wie bei der Phenol-Verbindung (s. o.) angegeben. Beim Umkrystallisieren aus Methanol erhält man ein Gemisch der α - und β -Verbindung (21 g) vom unscharfen Schmp. 145—155°.

Diese Krystalle werden im Soxhlet-Apparat 3 Stdn. mit Äther extrahiert. Bei 10° scheidet die ätherische Lösung zunächst etwa 5 g β -Verbindung ab. Bei längerem Stehen liefert die Mutterlauge dieser Krystalle etwa 6 g der α -Verbindung. Die α -Verbindung wird durch mehrmaliges Umlösen aus Methanol und Äthanol gereinigt. Schmp. 159.5—161.5°.

$[\alpha]_D^{25} = +9.14 \times 2.9222/0.1093 \times 1 \times 1.469 = +166^{\circ}$ (in Chloroform).

4.083 mg Sbst.: 8.195 mg CO_2 , 2.048 mg H_2O .

$C_{33}H_{42}O_{18}$ (726.34). Ber. C 54.52, H 5.83. Gef. C 54.75, H 5.61.

Die β -Verbindung (s. o.) wird durch Umkrystallisieren aus Methanol oder durch Lösen in 2 Tln. Essigester und vorsichtiges Fälln mit Petroläther gereinigt. Schmp. 160.5—162°, korr.

$[\alpha]_D^{30} = +1.98 \times 2.7178/0.0792 \times 1 \times 1.470 = +46^{\circ}$ (in Chloroform).

3.562 mg Sbst.: 7.163 mg CO_2 , 1.780 mg H_2O . Gef. C 54.84, H 5.59.

Heptacetyl-*p*-[oxy-methyl]-phenol- α -maltosid: Die Bromierung erfolgt wie bei der *o*-Kresol-Verbindung (s. o.). Das amorphe Bromid wird mit Silberacetat in Aceton-Wasser verseift (s. o.). Die Ausbeute beträgt 2.8 g (aus 4.2 g *p*-Kresol-Verbindung) die durch Umkrystallisieren aus Methanol oder Äthanol gereinigt werden. Schmp. 175.5—177.5°, korr.

$[\alpha]_D^{18} = +6.06 \times 3.3461/0.0797 \times 1 \times 1.4711 = +173^{\circ}$ (in Chloroform).

4.563 mg Sbst.: 8.976 mg CO_2 , 2.279 mg H_2O .

$C_{33}H_{42}O_{19}$ (742.34). Ber. C 53.35, H 5.70. Gef. C 53.65, H 5.59.

Heptacetyl-*[p*-oxy-diphenyl]- β -maltosid: 2 g Oktacetyl-maltose werden mit 2.5 g *p*-Oxy-diphenyl in 60 ccm Toluol 9 Stdn. rückfließend gekocht und dabei zu Beginn, nach 1 Stde. und nach 3 Stdn., je 0.4 g Chlorzink zugesetzt. Nach Verdampfen der filtrierten Lösung (unt. vermindert. Druck) wird der Rückstand mit 100 ccm Chloroform ausgekocht und diese Lösung mehrfach mit Natronlauge und Wasser ausgeschüttelt.

Die getrocknete Chloroform-Lösung wird verdampft, der Rückstand mit einem Gemisch von 7 ccm Essigsäure-anhydrid und 14 ccm Pyridin nach-acetyliert, die Mischung mit 40 ccm Benzol aufgenommen, mit Kaliumbisulfat-Lösung, mit Natronlauge und mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand krystallisiert beim Animpfen und Anreiben mit Methanol (die ersten Krystalle entstanden bei mehrwöchigem Stehen einer Methanol-Lösung). Die Substanz wird aus einem Gemisch von Methanol und Dioxan unkrystallisiert. Schmp. (nach Erweichen) bei 131—134⁰, korr. unter Aufschäumen.

$$[\alpha]_D^{20} = +1.27^{\circ} \times 2.9760 / 0.0563 \times 1 \times 1.475 = +45.5^{\circ} \text{ (in Chloroform).}$$

3.935 mg Sbst.: 8.301 mg CO₂, 2.045 mg H₂O.

C₈₈H₄₄O₁₈ (788.36). Ber. C 57.71, H 5.61. Gef. C 57.53, H 5.82.

Die freien α -Maltoside vom Phenol, *o*-Kresol, Saligenin und *p*-Oxy-methyl-phenol wurden durch Verseifung der Heptacetyl-Verbindungen mit Natriummethylat und absol. Methanol gewonnen⁶⁾. Die Maltoside konnten nicht krystallisiert erhalten werden, doch stimmen die Analysen-Zahlen trotzdem gut mit der Theorie³⁾.

Die Drehungen in Wasser sind die folgenden: Phenol- α -maltosid: $[\alpha]_D^{20} = +198^{\circ}$, *o*-Kresol- α -maltosid: $[\alpha]_D^{17} = +186^{\circ}$, Saligenin- α -maltosid: $[\alpha]_D^{19} = +168.5^{\circ}$, *p*-[Oxy-methyl]-phenol- α -maltosid: $[\alpha]_D^{19} = +208^{\circ}$.

Oktastearyl-[*o*-aminomethyl-phenol]- α -maltosid: In einem bei 0⁰ mit Ammoniak gesättigten Gemisch von 80 ccm Methanol und 40 ccm konz. wäßr. Ammoniak werden 2 g feingepulvertes Heptacetyl-[*o*-brom-*o*-kresol]- α -maltosid durch kräftiges Rühren in 8—10 Stdn. in Lösung gebracht. Nach 12-stdg. Aufbewahren bei 15—20⁰ wird unt. vermindert. Druck zur Trockne verdampft, zuletzt bei 60⁰ Badtemperatur und 1 mm Druck. Es sublimiert ein Teil des entstandenen Acetamids ab. Der Rückstand wird heiß in einem Gemisch von 10 ccm absol. Pyridin und ebensoviel Chloroform suspendiert, die Mischung abgekühlt und portionsweise 9 g Stearylchlorid⁷⁾ zugesetzt. Unter Erwärmen und Rotfärbung bilden sich 2 Schichten. Nach 4-stdg. Erhitzen auf dem Wasserbade werden 2 ccm Wasser zugefügt. Die Masse erstarrt im Lauf einiger Stunden. Sie wird mit 100 ccm Alkohol verrührt, abgesaugt, mehrfach nachgewaschen und schließlich durch Lösen in 80 ccm heißem Chloroform, Zusatz von 200 ccm Alkohol und Abkühlen die Oktastearyl-Verbindung in kugeligen Aggregaten erhalten. Ausbeute 3.2 g. Schmp. 85—87⁰.

3.349 mg Sbst.: 9.269 mg CO₂, 3.503 mg H₂O.

C₁₆₃H₃₀₁O₁₉N (2577). Ber. C 75.9, H 11.8. Gef. C 75.43, H 11.70.

$$[\alpha]_D^{19} = +1.4^{\circ} \times 2.4513 / 0.0491 \times 1 \times 1.455 = +48.0 \text{ (in Chloroform).}$$

N-Stearyl-[*o*-aminomethyl-phenol]- α -maltosid: 2 g Oktastearyl-Verbindung (s. o.) werden 8 Stdn. im Einschlußrohr mit 33 ccm einer bei 0⁰ gesättigten Lösung von Ammoniak in Methanol auf 170⁰ erhitzt. Die Lösung wird von den ausgefallenen Krystallen (Stearylamid) abgesaugt, zur Trockne verdampft und der Rückstand mehrfach mit hochsiedendem Petroläther ausgekocht. Es bleiben 0.4 g einer hellbraunen Masse, die erst nach der Hydrolyse mit Säuren Fehlingsche Lösung reduziert, sich leicht

⁶⁾ G. Zemplén u. E. Pacsu, B. **62**, 1613 [1929].

⁷⁾ K. Hess u. E. Messmer, B. **54**, 499 [1921].

⁸⁾ G. Izar, Biochem. Ztschr. **40**, 403 [1912].

in Alkohol löst, schwerer in Chloroform, so gut wie gar nicht in Benzol, Äther und Petroläther. In heißem Wasser geht sie zunächst (kolloidal?) in Lösung, läßt sich aber aus dieser Lösung durch Zusatz von Acetat-Puffer vom p_H 4.5—5 ausflocken. Sie ist dann in Wasser nicht mehr in Lösung zu bringen.

4.362 mg Sbst.: 9.879 mg CO_2 , 3.632 mg H_2O .

$C_{37}H_{63}O_{12}N$ (713.5). Ber. C 62.24, H 8.88. Gef. C 61.76, H 9.29.

$[\alpha]_D^{20} = +55.4^{\circ}$ (in absol. Alkohol, 0.0610 g in 2.0 ccm).

Anhang:

Heptacetyl- β -melibiose.

1 g Oktacetyl- β -melibiose⁹⁾ in 10 ccm Chloroform wird mit 3.5 ccm einer bei 0° gesättigten Lösung von Bromwasserstoff in Eisessig 1 Stde. bei 0° aufbewahrt, dann mehrfach mit Eiswasser gewaschen, mit Chlorcalcium getrocknet und das Chloroform unt. vermindert. Druck verjagt. Die so hergestellte sirupöse Aceto-brom-melibiose¹⁰⁾ wird durch Lösen in Methanol, langsames Versetzen dieser Lösung mit Wasser bis zur Ausfällung und kräftiges Reiben in die krystallisierte Heptacetyl- β -melibiose übergeführt. Schmp. nach dem Umlösen aus Wasser 193°, korr. Die Substanz reduziert Fehlingsche Lösung und zeigt — in Chloroform — Mutarotation nach oben.

$[\alpha]_D^{21} = +7.24^{\circ} \times 1.2485/0.0515 \times 1.4686 = +119^{\circ}$ (10 Min. nach der Auflösung).

$[\alpha]_D^{24} = +125.8^{\circ}$ (nach 14 Stdn.).

3.892 mg Sbst.: 7.027 mg CO_2 , 2.003 mg H_2O

$C_{26}H_{36}O_{18}$ (636.3). Ber. C 49.03, H 5.70. Gef. C 49.24, H 5.76.

Heptacetyl-methyl- β -melibiosid: Die aus 2 g Oktacetyl-melibiose hergestellte, amorphe Aceto-brom-melibiose wird in 25 ccm absol. Methanol mit 1 g trockenem Silberoxyd 10 Min. bei 15—20° geschüttelt und weitere 10 Min. auf dem Wasserbade rückfließend gekocht; das von Silbersalzen abgesaugte, brom-freie Filtrat wird unter vermindertem Druck eingedampft und der Rückstand aus wenig Methanol umkrystallisiert. Ausbeute 0.5 g. Die nochmals aus 4 Tln. Methanol mit Tierkohle umgelöste Substanz schmilzt, nach Sintern, bei 158—160°. Fehlingsche Lösung wird erst nach der Hydrolyse mit Säuren reduziert.

$[\alpha]_D^{18} = +3.25^{\circ} \times 3.0644/0.0730 \times 1 \times 1.4713 = +92.7^{\circ}$ (in Chloroform).

0.4000 mg Sbst.: 7.338 mg CO_2 , 2.034 mg H_2O .

$C_{27}H_{38}O_{18}$ (650.3). Ber. C 49.83, H 5.89. Gef. C 50.03, H 5.69.

⁹⁾ Hudson u. Johnson, Journ. Amer. chem. Soc. **37**, 2748 [1915].

¹⁰⁾ D. H. Brauns, Journ. Amer. chem. Soc. **51**, 1828 [1929].