

21. Karl Freudenberg und Wilhelm Jakob: Die Glucosidierung der 2.3.6-Trimethyl-glucose.

[Aus d. Institut für d. Chemie d. Holzes u. d. Polysaccharide, Chem. Institut d. Universität Heidelberg.]

(Eingegangen am 14. November 1940.)

Methylierte Polysaccharide werden zwecks Erkennung ihrer Spaltstücke entweder der Methanolyse unterworfen oder zunächst der Hydrolyse und danach der Glucosidierung der methylierten Monosen mit Hilfe von Methanol und Chlorwasserstoff. In allen Fällen wird auf die Glucoside hingearbeitet, weil sie durch Destillation getrennt werden sollen. Unlängst wurde gezeigt¹⁾, daß bei der Methylstärke eine störende Nebenreaktion auftritt, die darin besteht, daß die Trimethylglucose bei diesen Maßnahmen in merklicher Weise entmethyliert wird. Mehrere Prozente Dimethylglucose, die bei der Aufspaltung der Methylstärke entstehen, sind auf diese Nebenreaktion zurückzuführen; sie erschweren ungemein die Suche nach der geringen Menge von Dimethylglucose, die, von den Verzweigungsstellen herstammend, als reguläres Spaltstück der Methylstärke zu erwarten ist.

Wir haben deshalb nach schonenden Verfahren gesucht und teilen eine Vorschrift mit, die es erlaubt, die Glucosidierung der 2.3.6-Trimethyl-glucose unter sehr milden Bedingungen durchzuführen. Zunächst wurde das von B. Helferich und J. Hausen²⁾ beschriebene Acetalisierungsverfahren mit *o*-Kieselsäure-methylester auf die Trimethyl-glucose angewendet.

Eine Mischung von 5 g Methylzucker, 15 g *o*-Kieselsäure-methylester, 10 g absol. Methanol und 0.25 g Chlorwasserstoff muß 8 Stdn. in einem Bade von 80° im Sieden gehalten werden, damit das Reduktionsvermögen des Zuckers verschwindet. Die Mischung wird 10 Min. mit starker Lauge geschüttelt und das Glucosid ausgeäthert. Nach der Destillation (115°/0.4 mm) werden 4.56 g Glucosid erhalten (93—94 % d. Th.). In Abwesenheit des Kieselsäureesters wird dieses Ergebnis nicht erzielt.

In der Kälte tritt die Glucosidierung ein, wenn man statt Chlorwasserstoff Acetylchlorid verwendet, das von L. Claisen³⁾ bei der Bereitung des Enoläthers des Acetessigesters mittels *o*-Ameisensäureesters benutzt worden ist. Überraschenderweise genügen Spuren von Acetylchlorid. Auch hierbei muß Methanol beigemischt sein.

¹⁾ K. Freudenberg u. H. Boppel, B. **73**, 609 [1940]; K. Freudenberg u. E. Plankenhorn, B. **73**, 621 [1940]. — Vor einiger Zeit haben wir für die methylierte Stärke einen Gehalt von 5 % Tetramethylglucose (Endgruppen) angegeben (K. Freudenberg u. H. Boppel, B. **71**, 2505 [1938]). Wir haben hinzugefügt: „Das Verhältnis von Dimethyl- zu Tetramethyl-hexose (im Text steht infolge eines Druckfehlers Trimethyl-hexose) ist daher ungefähr 1:1. Dieses Verhältnis ist schon mehrmals, vor allem von H. Schlubach und H. Elsner bei Fructosanen angetroffen und mit einer Verzweigung der Ketten erklärt worden. Bei der Stärke ist auch aus anderen Gründen Kettenverzweigung angenommen worden.“ Wenn daher K. Hess, H. A. Schulze u. B. Krajnc (B. **73**, 1069 [1940]) schreiben, daß sich „für permethylierte Stärke bei Annahme einer unverzweigten Kette . . . für einen Kondensationsgrad von 20 C₆, den K. Freudenberg und Mitarbeiter annehmen, 46.59 % OCH₃ berechnen“, so möchte ich, um einem Irrtum vorzubeugen, betonen, daß 20 C₆ nur eine rechnerische Größe, und der wirkliche Kondensationsgrad ein Vielfaches davon ist. Die Verzweigung der Stärke erörtere ich seit 1936 (Chem.-Ztg. **60**, 853, 875). Deshalb habe ich mich auch nie an der Tatsache gestoßen, daß der Methoxylgehalt von 45.6 eines Trimethylhexosans auch bei wiederholter Methylierung der Stärke nicht überschritten werden kann. K. Freudenberg.

²⁾ B. **57**, 795 [1924].

³⁾ B. **26**, 2729 [1893]; vergl. F. Arndt, L. Loewe u. M. Ozansoy, B. **73**, 779 [1940].

Die Mischung von 5.0 g Trimethylglucose, 40 g *o*-Kieselsäure-methylester, 20 g absol. Methanol und 0.3 g Acetylchlorid blieb 24 Stdn. bei 20° stehen. Unter Kühlung wurden 100 ccm einer 30-proz. Kalilauge zugegeben. Durch Ausäthern und Destillieren (0.4 mm) wurden 5.06 g Glucosid (95 % d. Th.) gewonnen.

Durch *o*-Ameisensäure-methylester, Methanol und Chlorwasserstoff wird der Methylzucker in der Kälte zwar langsam glucosidiert, aber immerhin schneller als in Abwesenheit des Esters. Dagegen führt Acetylchlorid auch hier in der Kälte zum Ziel. Im Gegensatz zu der von Claisen für die Bereitung der Enoläther angewendeten Mischung muß außer dem *o*-Ameisensäure-methylester Methanol anwesend sein; ein anderer Unterschied besteht darin, daß sehr geringe Mengen Acetylchlorid genügen. Ohne *o*-Ester tritt keine nennenswerte Umsetzung ein.

Die Mischung von 5.0 g Trimethylglucose, 25 g *o*-Ameisensäure-methylester, 15 g absol. Methanol und 0.2 g Acetylchlorid blieb 20 Stdn. bei 20° stehen. Nach dem Wegdampfen wird das zurückgebliebene Glucosid bei 0.4 mm destilliert. Erhalten wurden 5.1 g = 96 % d. Theorie.

22. Morizo Ishidate und Takeichi Sakaguchi: Über den Nachweis von nativem Eiweiß mit p_{H} -Indicatoren.

[Aus d. Pharmazeut. Institut d. Universität Tokio.]

(Eingegangen am 15. November 1940.)

Vor kurzem teilten Feigl und Anger¹⁾ eine neue Reaktion zum Nachweis von Eiweiß mit, die auf der Auswertung des Proteinfehlers bei der Anwendung von Tetrabromphenolphthaleinester als p_{H} -Indicator beruht. Diese Reaktion ist nach unseren eingehenden Versuchen über die Brauchbarkeit anderer p_{H} -Indicatoren gegenüber den anderen zahlreichen bekannten Eiweißreaktionen durch die hohe Spezifität gegen natives Eiweiß ausgezeichnet. Von den bekannten p_{H} -Indicatoren standen uns 27 zur Verfügung, die auch zum Nachweis von Eiweiß verwendet wurden, jedoch nur mit 10 p_{H} -Indicatoren konnten unter den Bedingungen der Tüpfelreaktion bei Gegenwart von Eiweiß in Abhängigkeit von der Menge mehr oder weniger positive Reaktionen erzielt werden. Tafel 1 zeigt die Grenzkonzentrationen bzw. Erfassungsgrenzen der untersuchten Eiweißarten bei Anwendung dieser Farbindicatoren.

Versuchsbedingungen: Ein Tropfen (0.05 ccm) einer eiweißhaltigen Lösung wird auf der Tüpfelplatte mit einem Tropfen eines Indicators versetzt und mit 1 oder 2 Tropfen einer Säurelösung (Essigsäure, Trichloressigsäure oder Salzsäure) bzw. einer Alkalilösung in einer zum Indicator geeigneten Konzentration vermischt. Bei Vorhandensein von Eiweiß bleibt der Farbton der Lösung bestehen, während die Farbe der Kontrollösung vollkommen umschlägt. Die folgenden Indicatoren lieferten bei der 1-proz. Lösung von Casein, Hämoglobin, Ovalbumin und 5-proz. Gelatine keine Reaktion: Phenolphthalein (Umschlagsgrenzen: p_{H} 8.2—10.0), Thymolphthalein (9.3—10.5), α -Naphtholphthalein (7.0—9.0), Methylrot (4.2—6.3), Neutralrot (6.8—8.0), Phenolrot (6.8—8.0), Kresolrot (7.2—8.8), Diäthylrot (4.5—6.5), Lackmoid (4.4—6.3), Lackmus (5.0—8.0), Thymolblau (8.0—9.6), Bromthymolblau (6.0—7.6), Tropäolin 0 (11.0—13.0), Bromkresolpurpur (5.2—6.8), Malachitgrün (0.0—2.0), Alizarin gelb (10.1—12.1), alizarinsulfonsaures Na (3.7—5.2).

¹⁾ Mikrochim. Acta 2, 107 [1937]; vergl. auch F. Feigl: Qualitative Analyse mit Hilfe von Tüpfelreaktionen, 4. Aufl., 1938, S. 455.