

## Dimethylamid des Mandelsäurephenyläthers.

9 g der Säure<sup>21</sup>) wurden in Thionylchlorid 3 Stdn. auf 60° erwärmt; nach zweimaligem Abdestillieren im Vak. in Gegenwart von Benzol wurde mit einer Lösung von 2 Äquiv. Dimethylamin in Benzol vermischt und kurz aufgekocht. Nach Ausschütteln mit Wasser wurde der Inhalt der Benzollösung aus Methanol umkrystallisiert; Schmp. 125.5°.

$C_{16}H_{17}O_2N$  (255.3). Ber. C 75.30, H 6.71, N 5.49. Gef. C 74.96, H 7.12, N 5.38.

## 1-Phenoxy-2-oxo-1-phenyl-propan.

Die Lösung von 5.4 g des beschriebenen Dimethylamids in 50 ccm Benzol wird in eine Lösung von 1.5 g Magnesium in 9 g Methyljodid und 100 ccm Äther getropft und 5 Stdn. gekocht. Nach der Aufarbeitung destilliert unter 0.4 Torr bei 118—124° ein gelbes, noch stickstoffhaltiges Öl.

2.4-Dinitro-phenylhydrazon: Hergestellt in Eisessig auf dem Wasserbade. Bei Zusatz von Wasser erscheinen orangefarbene Nadeln; Schmp. 121.5° (aus Methanol).

$C_{21}H_{18}O_5N$  (406.4). Ber. C 62.07, H 4.47, N 13.80. Gef. C 62.46, H 4.66, N 14.08.

## 2-Oxy-1-phenoxy-1-phenyl-propan.

Das oben beschriebene rohe Keton wurde nach Meerwein reduziert. Nadeln aus Wasser; Schmp. 111°.

$C_{15}H_{16}O_2$  (228.3). Ber. C 78.91, H 7.07. Gef. C 78.74, H 7.27.

## 25. Burkhardt Helferich: Glykol- $\beta$ -maltosid-anhydrid. (Über Anhydride von Glykolglykosiden, V. Mitteil.\*). Zur Frage der fermentativen Spaltung von reduzierenden Disacchariden, III. Mitteilung\*).

[Aus dem Chemischen Laboratorium der Universität Leipzig.]

(Eingegangen am 15. April 1946.)

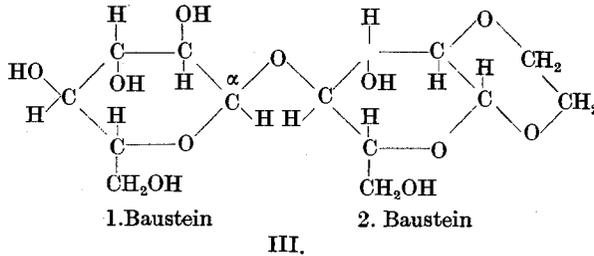
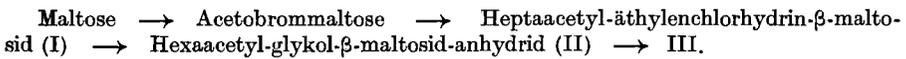
Im Anschluß an frühere Arbeiten wurde ein Anhydrid des Glykol- $\beta$ -maltosids dargestellt und seine Spaltung durch Hefe-Extrakt ( $\alpha$ -Glucosidase bzw. Maltase) und durch Extrakt aus *Aspergillus Oryzae* (Luizym) mit der Spaltung von Maltose durch die gleichen Enzyme verglichen.

Die Frage, ob maltosespaltende Fermente  $\alpha$ -Glucosidasen im Sinne der Theorie von Weidenhagen sind, oder ob es auch „spezielle“ Maltasen gibt, ist noch nicht sicher beantwortet.

Die Frage kann auch folgendermaßen gestellt werden: Gibt es Maltasen, die das ganze Molekül der Maltose unverändert als Substrat brauchen oder vielleicht nur den zweiten, reduzierenden Baustein unverändert benötigen? Wie für Lactasen<sup>1)</sup> und für Cellobiasen<sup>\*)</sup> ist zur Beantwortung dieser Frage

\*) IV. bzw. II. Mitteil.: B. Helferich u. K. Thiemann, Ztschr. physiol. Chem. 281, 126 [1944]. 1) B. Helferich u. Johanna Werner, B. 76, 595 [1943].

als neuartiges Material in der vorliegenden Arbeit ein Glykol-β-maltosid-anhydrid (III) auf dem folgenden Wege hergestellt und untersucht worden:



In diesem Stoff ist der zweite, in der Maltose reduzierende Glucosebaustein durch β-glucosidische Bindung am Kohlenstoffatom 1 und durch Äther-Bindung am Kohlenstoffatom 2 säure- und fermentfest blockiert. Trotzdem spalten Extrakte aus *Aspergillus Oryzae* und aus Bierhefe die Maltose-Bindung wie bei der freien Maltose auf.

Verhältnisse der Spaltbarkeit<sup>+) (Maltose = 10)</sup>

von (Substrat)	durch Extrakt aus	
	Brauereihefe	Asperg. Oryzae (Luizym)
Maltose .....	10 (opt. pH 6.4)	10 (opt. pH 4.4)
Glykol-β-maltosid-anhydrid ..	66 ( „ „ 6.0)	2.6 ( „ „ 3.8)
Phenol-α-d-glucosid .....	270 ( „ „ 6.0)	0.2 ( „ „ 5.0)

<sup>+) Ber. durch Umrechnung auf gleiche Zeit, Verdünnung und Spaltung.</sup>

Für diese Spaltung der Maltosebindung ist also die recht wesentliche Veränderung des 2. Bausteins durch Blockierung der Hydroxyle 1 und 2 nur von relativer Bedeutung. Der Unterschied in der Spaltbarkeit von Maltose und dem Maltosidanhydrid (III) liegt völlig in der Größenordnung, die man bei einem Ferment gegenüber zwei Glykosiden mit verschiedenen Aglyka erwarten darf.

Zwischen den beiden, als Ganzes offenbar verschiedenen Fermentpräparaten aus Hefe und aus *Asperg. Oryzae* ist allerdings ein charakteristischer Unterschied: Durch Hefe wird das Anhydrid 6 bis 7 mal rascher gespalten als freie Maltose. Bei dem Luizym verläuft umgekehrt die Spaltung des Anhydrids nur etwa ein Viertel so schnell wie die der Maltose. Die Unterschiede sind bei dem zum Vergleich herangezogenen Phenol-α-d-glucosid noch krasser. Aber derartige Unterschiede sind auch bei anderen homodynamen Carbohydrasen verschiedener Herkunft gegenüber verschiedenen Substraten beobachtet worden.

Auch in diesem Fall ist also die Annahme eines Fermentes, einer α-Glucosidase, im Hefeextrakt wie im Luizym, für die Spaltung der α-glucosidischen Bindung in der Maltose ausreichend. Eine besondere, spezifische „Maltase“

braucht nicht angenommen zu werden, d. h. eine Maltase, die auf die gesamte Maltose oder auf den zweiten — reduzierenden — Baustein als Substrat spezifisch eingestellt ist.

Die Möglichkeit, daß in einem solchen Fermentpräparat, insbesondere im Luizym neben der  $\alpha$ -Glucosidase auch noch eine „spezielle“ Maltase vorhanden ist, bleibt allerdings bestehen. Auffallend ist in dieser Richtung bei dem Luizym der erhebliche Unterschied im  $p_H$ -Optimum bei den drei untersuchten Substraten. Bei Maltose liegt es bei 4.4, bei dem Anhydrid bei 3.8 und bei Phenol- $\alpha$ -*d*-glucosid bei 5.0.

Schließlich sei ausdrücklich betont, daß durch die Ergebnisse dieser Arbeit nichts über Maltasen anderer Herkunft ausgesagt werden soll.

Frln. Dr. Maria Hase und Frln. Dr. Johanna Werner bin ich für ihre tätige und verständnisvolle Mithilfe zu großem Dank verpflichtet. Der Bauer-Brauerei, Leipzig, speziell Hrn. Zehner, habe ich für Überlassung von Hefe, den Luitpold-Werken, München, für Überlassung von Luizym (Extrakt aus Asperg. Oryzae) sehr zu danken.

#### Beschreibung der Versuche.

Heptaacetyl-äthylenchlorhydrin- $\beta$ -*d*-maltosid (I): 30 g Oktaacetylmaltose<sup>2)</sup> werden im geschlossenen Kolben in 66 ccm bei 0° mit Bromwasserstoff gesättigtem Eisessig durch langsames Umschwenken gelöst. Die Lösung wird 45 Min. in Eiswasser aufbewahrt, dann mit 180 ccm Chloroform aufgenommen und in 1 1/2 l Eiswasser eingerührt. Die Chloroformschicht wird mehrmals mit Wasser gewaschen, mit Chlorcalcium getrocknet, die dann klare Lösung im Vak. auf etwa 75 ccm eingeengt und mit 60 ccm Äthylenchlorhydrin versetzt. In diese Lösung werden anteilweise unter Kühlung mit Eiswasser und Umschütteln 24 g Silbercarbonat eingetragen. Beim Nachlassen der Kohlendioxid-Entwicklung wird noch 1 Stde. geschüttelt, dann wird die nun bromfreie Lösung von den Silbersalzen abgesaugt; diese werden mit etwas Chloroform nachgewaschen. Die vereinigten Filtrate werden im Vak. zum Sirup eingedampft; dieser wird in 90 ccm Methanol aufgenommen und sehr allmählich unter Reiben mit im ganzen 150 ccm Wasser versetzt. Dabei fällt das Acetylmaltosid in farblosen Nadelchen aus, die durch zweimaliges Umfällen aus je 200 ccm Methanol mit je 100 ccm Wasser gereinigt werden. Ausb. 11.6 g (37.5% d. Th.); Schmp. 117.5—118.5°. Die Verbindung zeigt die Löslichkeit der Acetylzucker.

$C_{28}H_{39}O_{18}Cl$  (698.8). Ber. C 48.09, H 5.63, Cl 5.08. Gef. C 48.82, H 5.66, Cl 4.60.

$[\alpha]_D^{22}$ : +1.21°  $\times$  1.6377/0.0508  $\times$  0.5  $\times$  1.472 = +53.0° (in Chloroform).

Hexaacetyl-glykol- $\beta$ -*d*-maltosid-anhydrid (II): 20 g Heptaacetyl-äthylenchlorhydrin- $\beta$ -*d*-maltosid (I) werden in 300 ccm Alkohol mit 300 ccm 2*n* NaOH 3 Stdn. rückgekocht. Nach Zugabe von 285 ccm 2*n* HCl — d. i. die auf die noch freie, durch abgespaltenen Chlorwasserstoff nicht neutralisierte Natronlauge ber. Menge — wird die Lösung im Vak. zur Trockne verdampft, der Rückstand im Exsiccator möglichst vollständig getrocknet,

<sup>2)</sup> D. H. Brauns, Amer. chem. Soc. 51, 1830 [1929].

dann in 50 ccm absol. Pyridin aufgenommen und ohne Berücksichtigung der ungelöst gebliebenen Salze unter Eiskühlung mit 100 ccm einer Mischung gleicher Teile von absol. Pyridin und Essigsäureanhydrid versetzt. Nach 12-stdg. Aufbewahren bei 0° wird die Mischung in 1 l Eiswasser eingerührt. Dabei fällt das acetylierte Anhydrid in weißen Nadelchen aus, die durch Umkrystallisieren aus 10 Vol.-Tln. gewöhnl. Alkohol gereinigt werden. Ausb. 13.9 g (fast 73% d. Th.); Schmp. 177.5—178.5°. Die Verbindung zeigt die Löslichkeit der Acetylzucker.

$C_{26}H_{36}O_{17}$  (620.6). Ber. C 50.32, H 5.85. Gef. C 50.43, H 5.87.

$[\alpha]_D^{20}$ :  $+3.13^\circ \times 1.7349/0.0369 \times 1 \times 1.47 = +100.0^\circ$  (in Chloroform).

Glykol- $\beta$ -*d*-maltosid-anhydrid (III): 10 g der Hexaacetyl-Verbindung (II) werden in 100 ccm Methanol mit 10 ccm einer etwa 1-proz. Natrium-methylat-Lösung 20 Min. rückgekocht. Nach Zugabe von 200 ccm Chloroform wird die Chloroformschicht einmal mit 300 ccm, dann nochmals mit 100 ccm Wasser ausgeschüttelt. Die vereinigten wässr. Auszüge werden im Vak. eingedampft. Der meist spontan krystallisierende Rückstand wird aus 5 ccm Wasser + 75 ccm Aceton in seideglänzenden Nadeln erhalten. Ausb. 6.05 g, d. i. über 90% d. Theorie. Zur Analyse und Drehungsbestimmung wurde nochmals auf die gleiche Weise umkrystallisiert. Schmp. 238—239°; enthält lufttrocken 2 Mol. Krystallwasser, die bei 70° und 10 Torr leicht abgegeben werden.

Trockenverlust: Ber. für 2 H<sub>2</sub>O 8.91. Gef. 8.82.

$C_{14}H_{24}O_{11}$  (368.3). Ber. C 45.61, H 6.57. Gef. C 45.61, H 6.86.

$[\alpha]_D^{25}$ :  $+4.52^\circ \times 0.7575/0.0530 \times 0.5 \times 1.026 = +125.7^\circ$  (in Wasser).

Löst sich leicht in Wasser, ebenso in heißem Methanol und Äthanol; in den übrigen gebräuchl. organ. Lösungsmitteln (Äther, Aceton, Essigester) schwer löslich bis unlöslich.

#### Spaltungen.

##### 1) Aspergillus Oryzae (Luizym aus München).

a) Maltose: Ein Extrakt (Luizym, München) wurde auf das 20-fache verdünnt (Meßkolben). Zur Spaltung wurden je 1 ccm einer Maltoselösung (56.24 mg Maltose + 1 H<sub>2</sub>O im ccm), der Pufferlösung (*mol.*/<sub>5</sub> Acetat) und der Fermentlösung bei 30° zusammengegeben. Nach 240 Min. wurde durch Zugabe von 0.2 g Kaliumcarbonat abgestoppt.

b) Glykol- $\beta$ -*d*-maltosid-anhydrid: Es wurde der gleiche, auf das 20-fache verdünnte Extrakt verwendet. Je 1 ccm einer Substratlösung (63.12 mg Glykol-maltosid-anhydrid + 2 H<sub>2</sub>O), der Pufferlösung und der Fermentlösung wurden bei 30° zusammengegeben. Nach 960 Min. wurde mit 0.2 g Kaliumcarbonat abgestoppt.

c) Phenol- $\alpha$ -*d*-glucosid: Der Extrakt wurde nur auf das 5-fache verdünnt. 10.00 ccm dieser Lösung gaben 0.7668 g Rückstand. Zur Spaltung wurden je 1 ccm Substratlösung (42.81 mg Phenol- $\alpha$ -*d*-glucosid + 1 H<sub>2</sub>O), Pufferlösung und Fermentlösung bei 30° zusammengegeben. Nach 2820 Min. wurde mit 0.2 g Kaliumcarbonat abgestoppt und wegen zu starker Färbung jodometrisch nach F. Auerbach u. E. Bodländer<sup>3)</sup> bestimmt: 8 Jod auf 1 gespaltenes Glucosid.

<sup>3)</sup> Ztschr. angew. Chem. **36**, 605 [1923].

a) Maltose.			b) Glykol- $\beta$ - <i>d</i> -maltosid-anhydrid.		c) Phenol- $\alpha$ - <i>d</i> -glucosid.	
$p_H$	$\alpha^*$ )	% Spaltung	$\alpha^*$ )	% Spaltung	$\alpha^*$ )	% Spaltung
3.3	+1.87°	36.9	+1.88°	40.1	+3.08°	28.1
3.8	+1.86°	37.6	+1.86°	41.6 max.	+3.24°	29.6
4.1	+1.85°	38.3	+1.91°	37.9	+3.45°	31.5
4.4	+1.84°	39.0 max.	+1.97°	33.3	+3.73°	34.1
4.7	+1.88°	36.2	+2.00°	31.1	+3.93°	35.9
5.0	+1.90°	34.8	+2.04°	28.0	+4.07°	37.2
5.3	+1.95°	31.2	+2.07°	25.8	+4.07°	37.2}max.
5.6	+2.00°	27.6	+2.10°	23.5	+4.05°	37.0

A = +2.39. E = +0.98 (ber.)      A = +2.41. E = +1.09 (ber.).      t = 2820 Min.  
t = 240 Min. Fermentdrehung      t = 960 Min. Eigendrehung      Jodverbrauch des Ferments berücksichtigt.

\*) Drehungen im 1-dm-Rohr; A = Anfangsdrehung, E = Enddrehung.

## 2) Hefe (Bierhefe der Bauer-Brauerei, Leipzig).

Fermentlösung: 40 g abgepreßte Bierhefe wurden mit 1.0 g Magnesiumcarbonat, 60 ccm Wasser und 2 ccm Toluol gut durchgeschüttelt und etwa 12 Stdn. bei Zimmer-temp. aufbewahrt. Nach dem Filtrieren durch ein gewöhnl. Filter wurde der so gewonnene Extrakt zur Spaltung von Maltose unverdünnt verwandt, zur Spaltung der beiden anderen Substrate auf genau das 10-fache seines Volumens verdünnt. Puffer: Phosphat-Mischung.

Je 1 ccm der Substratlösung — Konzentration wie bei den Spaltungen mit Luizym (s. 1) —, der Pufferlösung und der Fermentlösung wurden bei 30° gemischt und die angegebene Zeit aufbewahrt. Abgestoppt wurde durch Zusatz von 0.2 g Kaliumcarbonat. Der Spaltungsgrad wurde durch Bestimmung der Drehung festgestellt. Wenn nötig, wurde dazu die Lösung zur Klärung durch ein gewöhnl. Filter filtriert.

a) Maltose.			b) Glykol- $\beta$ - <i>d</i> -maltosid-anhydrid.		c) Phenol- $\alpha$ - <i>d</i> -glucosid.	
$p_H$	$\alpha^*$ )	% Spaltung	$\alpha^*$ )	% Spaltung	$\alpha^*$ )	% Spaltung
5.6	+1.36°	73.3	+1.84°	43.6	+1.31°	56.4
6.0	+1.35°	74.0	+1.77°	48.9	+1.30°	57.0 max.
6.4	+1.33°	75.4 max.	+1.77°	48.9}max.	+1.31°	56.4
6.8	+1.38°	71.9	+1.78°	48.1	+1.34°	54.8
7.2	+1.42°	69.0	+1.82°	45.1	+1.38°	52.6
7.6	+1.45°	66.9	+1.97°	33.8	+1.39°	52.1
8.0	+1.48°	64.8	+2.09°	24.8	+1.47°	46.3

A = +2.40. E = +0.98.      A = +2.42. E = +1.09.      A = +2.37. E = +0.49 (ber.).  
t = 30.0 Min.      t = 30.0 Min. Extrakt      t = 10 Min. Extrakt 1:10  
1:10 verdünnt.      verdünnt.

\*) Drehungen im 1-dm-Rohr; A = Anfangsdrehung, E = Enddrehung.