

Tetramethylester: Mit *Diazomethan* in Tetrahydrofuran in 70-proz. Ausb. Feine Nadeln, Schmp. (aus Essigester, dann Sublimation bei 0.01 Torr/140° Badtemperatur), nach Erweichen bei 185°, 203—204°.

$C_{12}H_{16}O_8$ (288.2) Ber. C 50.00 H 5.59 O 44.41

Gef. C 50.35 H 5.89 O 44.35 Mol.-Gew. (nach RAST) 283

IR-Spektrum in KBr: Hauptbanden in μ (cm^{-1})

3.35 m (2985), 3.40 m (2941), 5.75 s (1739), 6.94 s (1441), 7.39 s (1353), 8.34 s (1199), 8.48 s (11.79), 8.90 w (1124), 9.29 m (1076), 10.43 m (959), 12.00 m (833), 12.88 m (776).

Dianhydrid: Durch 1stdg. Erwärmen mit *Acetanhydrid* auf 100°. Reinigung durch Umkristallisieren aus Acetanhydrid/Dioxan (Rhomben) und Sublimieren bei 0.001 Torr/Bad 170—180°. Die Substanz färbt sich, ohne zu schmelzen, oberhalb von 235° braun.

$C_8H_4O_6$ (196.1) Ber. C 48.99 H 2.05 O 48.95 Gef. C 48.78 H 2.16 O 48.55

VLADIMIR STEFANOVIĆ

Notiz über die Darstellung der β -Gentiobiose

Aus dem Chemischen Institut der Naturwissenschaftlichen Fakultät, Belgrad, Jugoslawien
(Eingegangen am 24. Februar 1961)

Neben den synthetischen Methoden¹⁻⁵⁾ gibt es noch vier Arten der Darstellung von β -Gentiobiose aus Naturprodukten: 1. aus Wurzeln der verschiedenen Arten der *Gentiana*⁶⁻¹⁰⁾, 2. aus Amygdalin^{11,12)}, 3. aus Glucose mittels Emulsins^{9,13-16)}, 4. aus Hydrol (Sirup, der bei der Glucosefabrikation aus Stärke gewonnen wird¹⁷⁻¹⁹⁾). Jede dieser Methoden hat Nachteile: 1. die Wurzeln der verschiedenen Arten der *Gentiana* enthalten nur geringe Mengen dieses Zuckers, 2. Amygdalin ist schwer zu bekommen, 3. zuerst muß das Octaacetat dargestellt werden und erst dann kann man durch Hydrolyse unter bedeutenden Verlusten β -Gentiobiose gewinnen, 4. Hydrol enthält stark wechselnde Mengen an β -Gentiobiose.

Im Laufe unserer Arbeiten über Zucker pflanzlicher Herkunft haben wir festgestellt, daß β -Gentiobiose einfacher und mit größerer Ausbeute isoliert werden kann. Die Herstellung

- 1) B. HELFERICH, K. BAUERLEIN und F. WIEGAND, Liebigs Ann. Chem. **447**, 27 [1926].
- 2) B. HELFERICH und W. KLEIN, Liebigs Ann. Chem. **450**, 219 [1926].
- 3) D. D. REYNOLDS und WM. LI. EVANS, J. Amer. chem. Soc. **60**, 2559 [1938].
- 4) V. E. GILBERT, F. SMITH und M. STACEY, J. chem. Soc. [London] **1946**, 622.
- 5) F. WEYGAND, W. PERKOW und P. KUHNER, Chem. Ber. **84**, 594 [1951].
- 6) E. BOURQUELOT und H. HERISSEY, C. R. hebd. Séances Acad. Sci. **132**, 571 [1901].
- 7) E. BOURQUELOT und H. HERISSEY, Bull. Soc. chim. France [3] **29**, 363 [1903].
- 8) C. S. HUDSON und J. M. JONSON, J. Amer. chem. Soc. **39**, 1274 [1917].
- 9) G. ZEMPLÉN, Ber. dtsch. chem. Ges. **48**, 233 [1915].
- 10) W. N. HAWORTH und B. WYLAM, J. chem. Soc. [London] **123**, 3120 [1923].
- 11) M. BERGMANN und W. FREUDENBERG, Ber. dtsch. chem. Ges. **62**, 2783 [1929].
- 12) R. KUHN und A. KOLB, Chem. Ber. **91**, 2408 [1958].
- 13) J. F. LEETE, Dissertat. Univ. Greifswald 1929.
- 14) G. ZEMPLÉN, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **85**, 399 [1913].
- 15) B. HELFERICH und J. F. LEETE, Org. Syntheses **22**, 53 [1942].
- 16) E. BOURQUELOT, H. HERISSEY und J. COIRRE, C. R. hebd. Séances Acad. Sci. **157**, 732 [1913].
- 17) E. MONTGOMERY und F. B. WEAKLY, Amer. Pat. 2 549 840 v. 24. April 1951; C. A. **45**, 5958 [1951].
- 18) M. L. WOLFROM, A. THOMPSON, A. N. O'NEILL und T. T. GALKOWSKI, J. Amer. chem. Soc. **74**, 1062 [1952].
- 19) J. C. SOWDEN und A. S. SPRINGGS, J. Amer. chem. Soc. **78**, 2503 [1956].

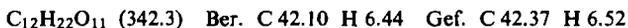
erfolgt nach der Methode 3., d. h. aus Glucose mit Hilfe von Emulsin. Doch ist es nach unserer Arbeitsweise nicht mehr nötig, das Octaacetat darzustellen; vielmehr wird das nach der enzymatischen Synthese isolierte Produkt direkt über eine $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{A-Kohle-Säule}$ (4: 3) chromatographiert²⁰⁾, wobei man die Glucose mit 1-proz. Äthanol und die β -Gentiobiase mit 5-proz. Äthanol eluiert²¹⁾. Man bekommt nach dieser Arbeitsweise 7.6% rohe β -Gentiobiase, während nach der Octaacetat-Methode nur 2.83% d. Th. erhalten werden. Die rohe β -Gentiobiase kristallisiert aus Glykolmonomethyläther in schönen kleinen Stäbchen, deren Schmp. und Drehungsvermögen mit den Angaben von R. KUHN¹²⁾ übereinstimmen.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

120 g wasserfreie *D-Glucose* löst man durch Erwärmen in einem Schlickkolben in 100 ccm dest. Wasser und kühlt die Lösung auf Raumtemperatur ab. Sodann setzt man 2 g Emulsin zu und läßt unter gelegentlichem Umschütteln 5 Wochen bei Raumtemperatur stehen. Schließlich erwärmt man zum Sieden, filtriert und gibt zum Filtrat 600 ccm dest. Wasser und 4 g in dest. Wasser aufgeschwemmte Bäckerhefe sowie etwas Toluol. Den Kolben beläßt man 7 Tage im Thermostaten bei 30°, fügt bis zur alkal. Reaktion CaCO_3 (ca. 90 g) hinzu, erwärmt zum Kochen und filtriert. Das Filtrat wird i. Vak. auf 400 ccm eingengt und dann auf eine $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{A-Kohle-Säule}$ (4: 3) (insgesamt 417 g) gegeben.

D-Glucose, die durch die Fermentation mit Hefe nicht vollkommen beseitigt wurde, wird mit 1-proz. Äthanol (insgesamt 6 l) eluiert, bis die Fehlingsche Reaktion nicht mehr positiv ist. Dann wird die β -Gentiobiase mit 5-proz. Äthanol (insgesamt 6.6 l) in Fraktionen von 200 ccm eluiert, bis eine Probe des Eluats, zur Trockne verdampft, keine Spur von β -Gentiobiase zeigt^{22,23)}. Das ganze mit 5-proz. Äthanol erhaltene Eluat (6.6 l) wird dann i. Vak. bis zum dicken Sirup eingengt und im Exsikkator (mit CaCl_2) getrocknet. Ausb. 9 g rohe β -Gentiobiase (7.6% d. Th.).

Die rohe β -Gentiobiase (2 g) wird in 10 ccm Glykolmonomethyläther (Methylcellosolve) bei 100° gelöst. Aus der filtrierten Lösung kristallisieren nach Animpfen mit β -Gentiobiase im Laufe von 2 Tagen (bei 80°) 1.7 g des Disaccharides aus, das mit absol. Äthanol gewaschen wird. Schmp. 190°, $[\alpha]_D^{25}$: -0.80° (5 Min.) $\rightarrow +10.0^\circ$ (Endwert, $c = 3$, in Wasser).



Wir danken Herrn Prof. R. KUHN, Heidelberg, herzlich für die Überlassung der Impfkristalle.

20) V. STEFANOVIĆ, J. Chromatog. 5, 453 [1961].

21) R. L. WHISTLER und D. F. DURSO, J. Amer. chem. Soc. 72, 677 [1950].

22) A. JEANES, C. S. WIS und R. J. DIMLER, Analytic. Chem. 23, 415 [1951].

23) S. M. PARTRIDGE, Nature [London] 164, 443 [1949].