

Methylierungsversuche an Stärke

Von

Leopold Schmid und Margot Zentner

Aus dem II. Chemischen Universitäts-Laboratorium in Wien

(Vorgelegt in der Sitzung am 23. Februar 1928)

Bei Versuchen zur Konstitutionsermittlung der Polysaccharide und Zucker hat sich die Darstellung der methylierten Derivate dieser Körper sehr vorteilhaft erwiesen, wie aus den Arbeiten von Denham, Irvine, Heß, Karrer und Pringsheim hervorgeht. Kann man doch nach einem hydrolytischen Abbau dieser Methylkörper aus den dabei resultierenden Spaltprodukten eventuelle Rückschlüsse auf die Konstitution des Ausgangsmaterials ziehen. Der eine von uns versuchte¹ im Hinblick auf die relativ große Empfindlichkeit der Kohlenhydrate in stereochemischer Beziehung mit Diazomethan eine möglichst schonende Methylierung durchzuführen. Im Anschluß an diese Arbeit wurde nun Stärke neuerlich in etwas größerer Menge mit Diazomethan methyliert, um sie nunmehr einem hydrolytischen Abbau zu unterwerfen.

Als Ausgangsmaterial diente uns Kartoffelstärke. Die Stärke wurde im Vakuum über Phosphorpentoxyd bei 100° zur Gewichtskonstanz getrocknet. Das Diazomethan wurde wieder in absolutem Äther gelöst, zur Reaktion gebracht und die Methylierung in der l. c. angegebenen Weise durchgeführt. Die Stärke wurde 27mal mit Diazomethan behandelt. Das Reaktionsprodukt zeigte einen Methoxylgehalt von zirka 21%, welcher sich auch nach weiterer Methylierung nicht mehr steigern ließ; die Jodreaktion war verschwunden. Es ist dies derselbe Methoxylgehalt, der in der angeführten Arbeit nach siebenmaliger Methylierung erreicht wurde. Diese Methylstärke wurde durch Behandlung mit Alkohol in verschiedene Fraktionen zu zerlegen versucht, um zu sehen, ob diese Fraktionen den gleichen Methoxylgehalt anzeigen. Dieses so erhaltene Produkt wurde mit wenig Äther, hierauf mit wenig warmem Alkohol gewaschen und sodann der Hydrolyse unterworfen.

Die Hydrolyse wurde mit 1%iger methylalkoholischer Chlorwasserstoffsäure ausgeführt. Nach Entfernung der Säure mittels Silbercarbonat wurde das vorliegende Glukosidgemisch durch Extraktion mit Aceton [a], Ausfällen dieses Extraktes mit Äther [b] und Extraktion mit absolutem Methylalkohol [c] in Fraktionen zerlegt. Es resultierten hierbei Methylglukoside mit einem Methoxylgehalt von:

¹ Ber. 1925, p. 1963.

[a] : 35·3%, [b] : 25·23%, [c] : 20·01%.

Wir untersuchten zunächst die Glukosidfraktion vom Methoxylgehalt 35·3%, von der Voraussetzung ausgehend, daß darin jenes Glukosid enthalten sei, welches bei der Methylierung der Stärke die höchste Methylierungsstufe erreicht hat. Die Theorie erfordert für ein Dimethylmethylglukosid einen Methoxylgehalt von 41%, die Theorie erfordert für ein Monomethylmethylglukosid 29·8% an Methoxyl. Unsere Fraktion [a] lag, soweit es ihr Methoxylgehalt vermuten ließ, zwischen Monomethyl- und Dimethylmethylglukosid. Zum Zwecke der Trennung unterwarfen wir das Produkt [a] einer weiteren Hydrolyse zum freien Zucker durch Behandeln mit wässriger Salzsäure von 5% in der Wärme. Nach Abstumpfen der Säure mit Silbercarbonat wurde das Hydrolysat zur Trockene im Vakuum eingedampft und mit absolutem Alkohol aufgenommen, wobei ein weißer Rückstand hinterblieb. Vom Filtrat wurde nun der Alkohol entfernt und der Rückstand der alkoholischen Lösung im Hochvakuum zur Gewichtskonstanz getrocknet. Die Analyse dieses Produktes zeigte einen Methoxylgehalt von 29·7% $.a_D + 83\cdot58''$. Der Methyloxylwert steht in guter Übereinstimmung mit dem theoretisch für eine Dimethylglukose geforderten Wert von 29·8%. Fraktion [a] bestand also in der Hauptsache aus einer Dimethylglukose, die in untergeordnetem Maße durch methoxylfreies Produkt verunreinigt war. Nach dem Versuche, diese Dimethylglukose mit Salpetersäure zur entsprechenden Zuckersäure zu oxydieren, zeigte sich, daß nur eine Carboxylgruppe enthalten sein dürfte, da die Methoxylbestimmung des Methylesters dieser Säure nicht 4 Methoxylgruppen anzeigte, sondern nur annähernd auf 3 Methoxyle schließen ließ. Möglicherweise nimmt eines der methylierten Hydroxyle die Stellung 6 ein. Sicher aber können wir behaupten, daß wir nach der Aufarbeitung der Methylstärke diese Dimethylglukose als die höchstmethylierte Fraktion ansprechen können. Die Aufarbeitung der Fraktion [b], die in eben der gleichen Weise durchgeführt wurde, wie eben bei der Fraktion [a] geschildert, führte schließlich zu einem Methylprodukt von einem Methyloxylgehalt von 24·04% und ergab ebenfalls bei Behandlung mit Alkohol einen festen weißen Rückstand, der frei von Methoxyl war. Fraktion [c] wurde nicht weiter hydrolysiert.

Zusammenfassend läßt sich nun sagen, daß die Methylierung der Stärke mit Diazomethan zu einem Produkt von ungefähr 21% Methoxyl führt. Die Hydrolyse dieses Materials läßt im Hydrolysat Methylzucker finden, von einem maximalen Methoxylgehalt von 29% auf einen Glukoserest; daneben Methylzucker von geringerem Methoxylgehalt und schließlich geringe Spuren, die zirka 1% des Hydrolysats ausmachen, an methoxylfreier Substanz.

Beschreibung der Versuche.

Methylierung der Stärke I.

Die verwendete Stärke war die gewöhnliche, unlösliche Kartoffelstärke. Sie wurde zur Gewichtskonstanz im Vakuum über Phosphorpentoxyd bei 100° getrocknet.

3.5 g dieser Stärke wurden in einer Waschflasche mit zirka 50 cm³ absolutem Äther überschichtet und in diesen das Diazomethan destilliert. Um die Selbstzersetzung des Diazomethans zu Polymethylen möglichst zu verhindern, wurde dieses so dargestellt, daß, nachdem das Nitrosomethylurethan mit methylalkoholischer Kalilauge in einem mit Tropftrichter versehenen Bromierungskolben zersetzt war, das Diazomethan im Stickstoffstrom in absoluten Äther, der mit Eis gekühlt war, destilliert wurde. Aus der ätherischen Lösung wurde das Gas nun neuerdings destilliert und wieder unter Eiskühlung in der Waschflasche kondensiert, in der sich die Stärke befand. Für eine Methylierung kamen 4 cm³ Nitrosomethylurethan in Verwendung, was ungefähr 0.7 g Diazomethan entspricht. Zirka 5 Minuten nach Zugabe zur Stärke trat schwache Stickstoffentwicklung auf, die aber bald wieder abnahm und erst nach Zusatz von einigen Tropfen Wasser lebhaft einsetzte. Das Diazomethan wurde in obenerwähnter Menge zehnmal zur Stärke zugesetzt. Nach dem zehnten Male war nur noch ganz schwache Reaktion wahrzunehmen. Es wurde noch einmal Diazomethan hinzugefügt. Hiemit wurde die Methylierung abgebrochen. Die Stärke hatte sich in eine zähe Masse umgewandelt. Der Äther wurde dekantiert und hinterließ nach der Destillation eine geringe Menge einer übelriechenden Flüssigkeit, die nicht weiter untersucht wurde. Das Methylierungsprodukt wurde zweimal mit absolutem Äther gewaschen und hierauf, um etwa vorhandene Polymethylene zu entfernen, zweimal mit wenig warmem Alkohol. Sodann wurde das Produkt mehrere Stunden auf dem Wasserbad mit absolutem Alkohol digeriert und so in Fraktionen zu zerlegen versucht, um zu sehen, ob diese verschiedenen Fraktionen verschieden oder gleich hoch methylierte Stärke vorstellen, der Alkohol wiederholt dekantiert und erneuert und die alkoholischen Extrakte schließlich vereinigt. Beide Fraktionen, die alkohollösliche und die alkoholunlösliche, wurden in Wasser gelöst, filtriert, im Vakuum zur Trockene eingedampft und getrocknet. Schließlich blieb in beiden Fällen eine glasige Masse zurück. Die Ausbeute der in Alkohol unlöslichen übertraf bei weitem die der in Alkohol löslichen Fraktion; u. zw. erhielten wir auf diese Weise aus 3.5 g Stärke 2.6 g alkoholunlösliche und den Rest als alkohollösliche.

Mit alkoholischer Jodlösung geben die Produkte eine braunrote Färbung. Dieses Ausbeuteverhältnis und die Jodreaktion entsprechen ganz den Angaben Karrers², der

² Helv. chim. acta, III, p. 620 (1920).

mitteilt, daß eine Stärke mit einem Methoxylgehalt von zirka eininhalb Methoxygruppen auf ein Stärkemolekül nur eine geringe Ausbeute an alkohollöslicher Substanz gegeben hat; die Jodreaktion sowohl der alkohollöslichen als auch der alkohollöslichen Fraktion entsprechen den obigen Angaben. Zur Analyse wurde das Material bei 100° im Vakuum getrocknet.

A n a l y s e n :

22·71% OCH₃ . . . alkohollösliche Stärke.
23·41% OCH₃ . . . alkohollösliche Stärke.

M e t h y l i e r u n g d e r S t ä r k e I I .

Ein zweiter Methylierungsversuch wurde mit 4 g Stärke vorgenommen. Im Falle dieser Methylierung wurde 27mal mit Diazomethan behandelt. Wie die Analysen zeigten, hat sich der Methoxylgehalt trotz der bedeutend längeren Behandlung mit Diazomethan nicht wesentlich geändert. Da, wie Methylierungsversuch 1 zeigte, die alkohollösliche und die alkohollösliche Fraktion in ihrem Methoxylgehalt annähernd übereinstimmten, wurde bei dieser nochmaligen Darstellung der Methylstärke auf eine Zerlegung mit Alkohol verzichtet. Zur Analyse wurde das Produkt im Vakuum bei 100° getrocknet.

A n a l y s e :

7·260 mg Substanz gaben 11·824 mg AgJ; gef.: 21·52% OCH₃.
5·696 mg Substanz gaben 9·208 mg AgJ; gef.: 21·33% OCH₃.

Berechnet für einen Monomethyläther der Stärke: 17·62% OCH₃.

Die Methylierung ist demnach über die Monoätherstufe hinausgegangen, läßt sich aber über den oben angegebenen Wert, wie schon aus der Arbeit von L. Schmid, Ber., 1925, p. 1963 hervorgeht, nicht steigern.

Wie schon in der Arbeit l. c. hingewiesen wurde, kann der exakte Beweis für den Grad, bis zu welchem die Methylierung vorgeschritten ist, dadurch erbracht werden, daß das Produkt einem hydrolytischem Abbau unterworfen wird, um aus den Methylzuckern Rückschlüsse ziehen zu können. Es wurden einige Hydrolyseversuche unternommen, aber eigentlich läßt erst der letztere, diesbezügliche Versuch einen genaueren Einblick in den Grad der Methylierung erkennen. Die ersten Versuche scheiterten daran, daß wir zu wenig Substanz hatten, (0·30, 0·24 und 1·31 g) um eindeutige Resultate zu erhalten.

H y d r o l y s e .

Es wurden 4 g einer Methylstärke von einem Methoxylgehalt von 21·5% verwendet. Eine 8%ige Lösung dieser Stärke in 1%iger, methylalkoholischer Salzsäure wurde 46 Stunden im siedenden Wasserbad und 12 Stunden im Ölbad auf 130° am Rückfluß unter starker Kühlung erhitzt. Die Substanz geht nach und nach in Lösung, dabei geht die Farbe von farblos in Gelb

über. Nachdem die Hauptmenge in Lösung gegangen war, beginnt die Lösung zu stoßen; aus diesem Grunde muß man die Lösung von Zeit zu Zeit schütteln; nachdem die oben angegebene Reaktionsdauer erreicht war, wurde die Lösung erkalten gelassen, mit Silbercarbonat neutralisiert und vom ausgeschiedenen Chlorsilber abfiltriert. Die Farbe der Lösung war nach dieser Operation heller geworden. Nun wurde eine kleine Messerspitze Tierkohle hinzugegeben, um kolloidales Silber zu entfernen, vorsichtig, unter zeitweiligem Anwärmen auf dem Wasserbad, geschüttelt und filtriert. Das Filtrat wurde unter leichtem Anwärmen im Vakuum zur Trockene verdampft, 30 Minuten zwischen 40—50° im Vakuum getrocknet und der Rückstand sodann mit trockenem, frisch destilliertem Aceton 4 Stunden lang extrahiert. Die Farbe der acetonischen Lösung ist gelb; es wird ihr die zirka 8—10fache Menge Äther zugesetzt, worauf die Lösung sich milchig trübt; Nach einigen Stunden wird die überstehende Flüssigkeit klar; sie wird abgegossen und im Vakuum zur Trockene verdampft, der Rückstand bei 60° getrocknet.

A n a l y s e :

16.453 mg Substanz gaben 43.953 mg AgJ; gef.: 35.3% OCH₃.

H y d r o l y s e z u m Z u c k e r .

2.5 g dieses Glukosids wurden mit 50 cm³ 5%iger wässriger Salzsäure ($d = 1.024$) am Wasserbad 4 Stunden bei 80° und dann noch 30 Minuten bei zirka 90—95° behandelt. Die Erfahrung lehrte uns, daß es zweckmäßiger ist, um die Ausbeute nicht durch Bildung von Nebenprodukten zu verschlechtern, entweder nur kurze Zeit bei 100° oder längere Zeit bei tieferer Temperatur zu hydrolysieren. Nunmehr war bis auf eine ganz schwache Trübung alles gelöst und es konnte an die Aufarbeitung geschritten werden. Die salzsaure Lösung wurde mit Silbercarbonat neutralisiert, filtriert, mit heißem Wasser nachgewaschen; sodann wurde zur Lösung etwas Tierkohle zugesetzt, vorsichtig geschüttelt, hierauf filtriert und mit warmem Wasser gut nachgewaschen. Die Lösung wurde dann im Vakuum unter Erwärmen vom Wasser befreit und getrocknet. Sodann wurde 6 Stunden mit absolutem Alkohol extrahiert, durch ein Filter gegossen und der Rückstand mit Alkohol nachgewaschen. Der Extrakt wurde im Vakuum zur Trockene eingedampft und der Rückstand bei 60° getrocknet. Der Analyse nach konnte das Produkt als eine Dimethylglukose angesprochen werden.

A n a l y s e :

9.714 mg Substanz gaben 21.298 mg AgJ; gef.: 28.96% OCH₃.

Nach Trocknen im Hochvakuum ergab sich folgender Wert:

5.654 mg Substanz gaben 12.716 mg AgJ; gef.: 29.71% OCH₃ [a].

Berechnet für eine Dimethylglukose: 29.81% OCH₃.

Die Ausbeute betrug 0.6365 g.

Drehung im 0.5-dm-Rohr ergab $\alpha_D + 83.85^\circ$ in Alkohol. Mutarotation trat nicht auf, denn nach zweiwöchentlichem Stehen ergab eine neue Bestimmung für $\alpha_D + 85.07^\circ$.

Darstellung des Dimethylmonocarbonsäureesters³.

1. Säure: 0.56 g der Dimethylglukose wurden am Wasserbad mit 8 cm³ Salpetersäure ($d = 1.2$) bei zirka 80° behandelt, bis braune Dämpfe erscheinen, und dann bei 64–65°, bis die Reaktion aufhörte. Nun wurde das Reaktionsgemisch mit Wasser verdünnt und im Vakuum die ganze Flüssigkeit entfernt; es bleibt ein brauner Syrup zurück.

2. Veresterung: Die so erhaltene Säure wurde durch Kochen am Wasserbad mit 25 g 2%iger methylalkoholischer Salzsäure während 6 Stunden unter Rückflußkühlung verestert. Nach dem Erkalten wurde mit Silbercarbonat neutralisiert, filtriert, mit etwas Tierkohle geschüttelt, wieder filtriert und die Flüssigkeit im Vakuum verdampft. Der bleibende Rückstand wurde mit Chloroform extrahiert. Der Extrakt wurde im Vakuum zur Trockene verdampft; es bleibt ein brauner Syrup. Zur Analyse wurde die Substanz im Hochvakuum bei 60° getrocknet.

A n a l y s e :

6.268 mg Substanz gaben 16.456 mg AgJ; gef.: 34.68% OCH₃.

18.40 mg Substanz gaben 48.054 mg AgJ; gef.: 34.50% OCH₃.

Berechnet für C₉H₁₈O₇: 39.07% OCH₃.

Der in Alkohol unlösliche Rückstand wurde in etwas Wasser gelöst, filtriert, im Vakuum zur Trockene eingedampft und der Rückstand bei 60° getrocknet und hierauf analysiert. Es traten jedoch nur Spuren von AgJ auf.

Das mit Äther ausgefällte Glukosid wurde im Vakuum bei 60° getrocknet. Es bildet einen hellbraunen Syrup.

A n a l y s e :

6.920 mg Substanz gaben 13.210 mg AgJ; gef.: 25.23% OCH₃.

Hydrolyse zum Zucker.

Dieses Glukosid wird mit zirka 30 cm³ 5%iger, wässriger Salzsäure am siedenden Wasserbad behandelt, nach welcher Zeit die Lösung vollständig klar war. Nun wurde mit Silbercarbonat neutralisiert, mit etwas Tierkohle geschüttelt, filtriert und im Vakuum eingeeengt. Die Lösung ist tief gelb gefärbt. Nachdem die Substanz trocken war, wurde sie 3 Stunden lang mit absolutem Alkohol extrahiert, durch ein Filter gegossen und mit heißem Alkohol nachgewaschen. Die Lösung wurde im Vakuum verdunstet und der Rückstand bei 60° getrocknet. Er bildet ein hellbraunes Glas.

³ J. of Ch. Soc., 125, 1513–1521.

A n a l y s e :

8·620 mg Substanz gaben 15·688 mg AgJ; gef.: 24·04% OCH₃ } [b₁].
 7·690 mg Substanz gaben 13·778 mg AgJ; gef.: 23·67% OCH₃ }

Der in Alkohol unlösliche Rückstand wurde im Vakuum bei 60° getrocknet. Er bildet ein weißes, nicht syrupöses Produkt. Die Methoxylbestimmung ergab keine Ausscheidung von AgJ.

Der in Aceton unlösliche Anteil des Glukosids wurde 9 Stunden mit absolutem Methylalkohol am Wasserbad behandelt, die Lösung durch ein Filter geschüttet, im Vakuum eingengt und der Rückstand bei 60° getrocknet.

A n a l y s e :

5·642 mg Substanz gaben 8·546 mg AgJ; gef.: 20·01% OCH₃ [c].

Dieses Glukosid zeigte die geringste Ausbeute und konnte auch aus diesem Grunde einer weiteren Hydrolyse nicht unterworfen werden.

Nach der Extraktion mit Methylalkohol blieb ein kleiner Teil ungelöst, der sich aber einer weiteren Untersuchung aus Substanzmangel entzog.

Zum Schlusse soll noch festgestellt werden, daß die größte Ausbeute bei diesem Versuch die Produkte a₁ und b₁ zeigten.