

Ein Trityläther des Glykogens

Von

LEOPOLD SCHMID und ERWIN KOTTER

Aus dem II. Chemischen Universitäts-Laboratorium in Wien

(Vorgelegt in der Sitzung am 10. Dezember 1931)

Die große Bedeutung der Anwendung von Methoden zur Verätherung an alkoholischen Hydroxylgruppen im Gebiet der Polysaccharide und auch der einfachen Zucker zwecks konstitutioneller Ermittlung dieser Substanzen geht aus zahlreichen Arbeiten hervor. Wir erinnern hier an die erfolgreichen Arbeiten der englischen Forscher IRVINE¹, STEEL¹, HAWORTH², LEITCH², DENHAM³, CROSS⁴, BEVAN⁴, KILLEN⁵. Im Hinblick auf die große Empfindlichkeit der Kohlenhydrate in stereochemischer Beziehung versuchten L. SCHMID (Ber. D. ch. G. 58, S. 1963), ferner L. SCHMID und M. ZENTNER, (Monatsh. Chem. 49, 1928, S. 111 bzw. Sitzb. Ak. Wiss. Wien (II b) 137, 1928, S. 111) eine ganz schonende Methylierung mit Diazomethan an wasserlöslicher Stärke, Lichenin und Inulin. Eine sehr milde Reaktion zur Verätherung wurde von B. HELFERICH und H. KOESTER (Ber. D. ch. G. 57, S. 587) zur Anwendung gebracht. Diese Reaktion beruht im Prinzip auf der Umsetzung des Kohlenhydrates mit Triphenylchlormethan in Pyridinlösung. Die Methode hat den großen Vorteil, daß man diese Reaktion, wenn man Pyridin als Lösungsmittel wählt, im homogenen Medium durchführen kann.

Zum Unterschied von den Alkylierungsverfahren, nach denen die Äthergruppen nur durch konzentrierte Halogenwasserstoffsäuren abspaltbar sind, womit ein weitgehender Abbau des Polysaccharides infolge Hydrolyse einhergeht, hat dieses Verfahren den Vorteil, daß bei den Triphenylmethyläthern schon durch Säuren geringster Konzentration, z. B. beim Schütteln der Chloroformlösung des Polysaccharidäthers mit chlorwasserstoffhaltigem Chloroform, innerhalb weniger Sekunden der Tritylrest als Chlorid

¹ Journ. Chem. Soc. London 123, 1923, S. 518; Advancement of science 1922, S. 17; Journ. Chem. Soc. London 117, 1920, S. 1474; 121, 1922, S. 1060.

² Journ. Chem. Soc. London 113, 1918, S. 188.

³ Journ. Chem. Soc. London 103, 1913, S. 1735; 105, 1914, S. 2357; 111, 1917, S. 244; 119, 1921, S. 77.

⁴ Ber. D. ch. G. 26, 1893, S. 1090.

⁵ Journ. Chem. Soc. London 125, 1924, S. 1513.

bzw. in Gegenwart von Wasser als Karbinol abgespalten wird. Diese Verseifung tritt also so schnell ein, daß mit einer Hydrolyse des Polysaccharides in dieser kurzen Zeit nicht gerechnet zu werden braucht. Während von HELFERICH dieses Verfahren an Zellulose, Stärke und einfach gebauten, OH enthaltenden Verbindungen studiert wurde, interessierte uns vor allem das Verhalten von Inulin und Glykogen gegenüber diesem Reagens im Hinblick auf Versuche, die an diesen beiden Körpern durchgeführt worden waren (L. SCHMID und B. BECKER ⁶, L. SCHMID, A. WASCHKAU und E. LUDWIG ⁷, L. SCHMID, E. LUDWIG und K. PIETSCH ⁸, R. FALKE ⁹). Während das Inulin sich so reaktionsträge zeigte, daß es sich unter diesen milden Bedingungen nicht umsetzte, schienen uns die Beobachtungen am Glykogen so weit bemerkenswert, daß wir sie im folgenden mitteilen.

Wir lösten 1 g Glykogen mit einem Überschuß von Triphenylchlormethan in Pyridin und erhitzen das Gemisch im zugeschmolzenen Rohr 20 Stunden lang auf 100°. Aus dem Reaktionsgemisch ließ sich ein bräunliches Pulver isolieren, das nach entsprechender Reinigung einen konstanten Schmelzpunkt von 235° hatte. Das Produkt war außer in Pyridin in allen gebräuchlichen Lösungsmitteln äußerst schwer bzw. unlöslich. Eine Analyse dieses Körpers ergab das überraschende Resultat, daß das von uns dargestellte Produkt eine andere Zusammensetzung besitzen muß als jene, die HELFERICH für seinen Stärke- bzw. Zelluloseäther gefunden hatte. HELFERICH fand nämlich bei der Analyse seiner Produkte für Kohlenstoff Werte von 74% im Mittel und für Wasserstoff Werte von 6.2% im Mittel, was einem Zellulose- bzw. Stärkemonotriethyläther von der Formel $C_{25}H_{24}O_5$ bzw. $C_6H_9O_5-C(C_6H_5)_3$ entspricht, während wir für das isomere Glykogen Werte von rund 66% für Kohlenstoff erhielten. Dieses Resultat ist daher mit einer solchen Zusammensetzung, wie sie HELFERICH für den Zellulose- bzw. Stärkeäther angibt, nicht in Einklang zu bringen. Da die Möglichkeit gegeben war, daß unser Körper erst das Zwischenprodukt einer noch nicht vollständig verlaufenen Reaktion vorstelle, brachten wir das Produkt nun neuerlich mit einem Überschuß von Triphenylchlor-

⁶ Ber. D. ch. G. 58, S. 1966, 1968.

⁷ Monatsh. Chem. 49, 1928, S. 107, bzw. Sitzb. Ak. Wiss. Wien (II b) 137, 1928, S. 107.

⁸ Monatsh. Chem. 49, 1928, S. 118, bzw. Sitzb. Ak. Wiss. Wien (II b) 137, 1928, S. 118.

⁹ Dissertation.

methan, in Pyridin gelöst, bei 100° im Einschlußrohr zur Reaktion. Die Dauer der Einwirkung betrug diesmal 35 Stunden. Aus dem Gemisch konnte wiederum ein Körper gewonnen werden, der nach der Reinigung dieselben Eigenschaften besaß wie der frühere. Der Schmelzpunkt lag ebenso bei 235° und ein Mischschmelzpunkt mit dem ersten Produkt ergab keine Depression. Eine Verbrennung dieses Körpers zeigte keine wesentliche Änderung der Analysenzahlen. Mehrere, nach der ebullioskopischen Methode von BECKMANN ausgeführte Molekulargewichtsbestimmungen konnten nicht ausgewertet werden, da eine Siedepunkterhöhung nicht zu beobachten war. Der Grund für diese Erscheinung ist einzusehen, wenn man bedenkt, daß der Glykogenäther mit Pyridin keine echten, den osmotischen Gesetzen unterworfenen Lösungen gibt, sondern sich kolloidal löst. Das Reaktionsprodukt vom Schmelzpunkt 235° ist frei von den Ausgangsmaterialien Glykogen und Tritylchlorid, da es weder an Alkohol noch an Wasser etwas abgab. Nach den Analysen liegt in ihm ein Trityläther des Glykogens vor, u. zw. derart, daß zwei $C_6H_{10}O_5$ -Reste und ein Tritylrest verbunden sind. Zur Bestätigung der Formulierung, daß sich ein Tritylrest auf zwei $C_6H_{10}O_5$ -Komplexe verteilt, konnten wir den Beweis durch eine Hydrolyse unter so milden Bedingungen, wo kein Abbau des Polysaccharides zu befürchten war, erbringen.

Als Spaltprodukte konnten bei zwei Versuchen Triphenylkarbinol und Glykogen quantitativ gefaßt werden. Ersteres wurde durch Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt, letzteres durch optische Drehung identifiziert.

Die zahlenmäßigen Ausbeuten der Spaltprodukte stimmen sehr gut mit den theoretisch geforderten überein.

Zusammenfassend ergibt sich aus obigen Versuchen, daß der von uns dargestellte Glykogen-trityläther eine Zusammensetzung von $(C_{31}H_{34}O_{10})_x$ besitzt, d. h. daß ein Tritylrest mit zwei Glukoseresten verknüpft ist. Aufgelöst ergibt sich daraus eine Formel $[C_{12}H_{19}O_{10}-C(C_6H_5)_3]_x$. Über das Molekulargewicht dieses Äthers ist eine Aussage nicht möglich, da sich derselbe nur in Pyridin leichter löst und auch in diesem Lösungsmittel nur in kolloidalem Zustand.

Beschreibung der Versuche.

a) Darstellung des Glykogenäthers.

1 g Glykogen (Fa. Schuchardt, 0.28% N) wurde im Hochvakuum bei 50° auf Gewichtskonstanz getrocknet. Sodann wurde

das Glykogen in 25 cm^3 Pyridin puriss. (Merck) gelöst und mit 6 g Triphenylchlormethan in einem zugeschmolzenen Bombenrohr, welches in ein siedendes Wasserbad tauchte, 20 Stunden lang auf 100° erhitzt.

Der Bombeninhalte hatte nach dem zwanzigstündigen Erhitzen eine dunkelbraune Farbe angenommen und war von festen Klumpen durchsetzt. An den Wänden kristallisierte reichlich Pyridinchlorhydrat aus, das sich bei der Reaktion gebildet hatte. Nach dem Öffnen wurde der breiige Inhalt der Bombe in zirka 500 cm^3 destilliertes Wasser von 80° gegossen und nach dem Absetzen des dichten hellbraunen Niederschlages filtriert. Hierauf wurde gründlich mit Wasser und schließlich mit 50%igem Alkohol nachgewaschen. Der trockene Filtrerrückstand, der aus einem hellbraunen Pulver bestand, wurde in einem Kolben unter Rückfluß mit siedendem Alkohol extrahiert, um das bei der Reaktion in großer Menge entstandene Triphenylkarbinol zu entfernen. Die Extraktion wurde im ganzen sechsmal wiederholt, bis einige Tropfen Alkohol, zum Verdunsten gebracht, keinen Rückstand hinterließen. Der Rückstand der vereinigten und eingedampften Alkoholextrakte stellte ein gelblichweißes kristallinisches Pulver dar, das einen Schmelzpunkt von 157° besaß. Nach einmaligem Umkristallisieren aus Alkohol lag der Schmelzpunkt bei 161—162°; dieses Produkt war also Triphenylkarbinol. Nach der erschöpfenden Alkoholextraktion verblieb auf dem Filter ein unlösliches braunes Pulver. Dieses wurde von anhaftendem Alkohol im Vakuum getrocknet. Es schmolz bei 216—217°. Die Ausbeute betrug 1.2 g. Das neue Produkt erwies sich als in sämtlichen gebräuchlichen organischen Lösungsmitteln unlöslich. Nur von Pyridin wird es einigermaßen leicht gelöst, von Chloroform und Äthylbromid sehr schwer. Alle Lösungen haben kolloidalen Charakter. Aus Pyridin ließ sich das Produkt durch einen Überschuß von Alkohol, Methylalkohol oder Äther in reinweißen Flocken ausfällen. Die weitere Reinigung der Substanz erfolgte daher durch Lösen in Pyridin und abwechselndes Fällen mit Alkohol, Methylalkohol und Äther. Nach 4—5maligem Umfällen blieb der Schmelzpunkt konstant. Er lag bei 235—236° unter Dunkelfärbung und Zersetzung. Das Produkt hatte weißlichgraue Farbe.

4.370 mg Substanz gaben 10.608 mg CO_2 , 2.425 mg H_2O
 3.295 mg " " " 8.020 mg CO_2 , 1.975 mg H_2O .
 Ber. für $C_{31}H_{34}O_{10}$: C 65.70, H 6.05%.
 Gef.: C 66.21, H 6.38; C 66.38, H 6.71%.

b) Neuerliche Einwirkung von Triphenylchlor-
methan auf den dargestellten Äther.

0.75 g Glykogenäther wurden nach dem Trocknen im Hochvakuum bei 70° mit 6 g Triphenylchlor-methan in 25 cm³ Pyridin puriss. gelöst und im geschlossenen Rohr 35 Stunden lang auf 100° erhitzt. Der Bombeninhalte wurde in Wasser von 80° gespült und, wie früher beschrieben, weiterverfahen. Das Rohprodukt schmolz bei 225° und wurde einige Male, fraktioniert mit Alkohol, Methylalkohol und Äther, aus Pyridin gefällt, bis der Schmelzpunkt konstant bei 235—236° (unter Zersetzung) lag. Ein Mischschmelzpunkt mit dem früher erhaltenen Glykogenäther ergab keine Depression. Das Produkt sieht in reinem Zustand schwach grau gefärbt aus. Mit konz. HNO₃ gibt es eine intensive Gelbfärbung.

4.320 mg Substanz gaben 10.340 mg CO₂, 2.395 mg H₂O.

Ber. für C₃₁H₃₄O₁₀: C 65.70, H 6.05%.

Gef.: C 65.28, H 6.20%.

c) Verseifung des Äthers.

0.16 g Substanz und in einem zweiten Versuche 0.029 g Substanz wurden in 500 bzw. 100 cm³ Chloroform gelöst (bei 50°) und hierauf mit je 5 cm³ bei Zimmertemperatur mit Chlorwasserstoff gesättigtem Chloroform versetzt. Binnen weniger Sekunden fiel ein flockiger Niederschlag aus. Um einen weiteren Abbau zu Glukose hintanzuhalten, wurde möglichst rasch filtriert. Nach je zweimaligem Auswaschen mit Chloroform und Alkohol wurde der Niederschlag mit heißem Wasser vom Filter gelöst. Das Glykogen wurde durch zweimaliges Umfällen der wässerigen Lösung mit Alkohol gereinigt und getrocknet, bis ein reinweiß gefärbtes Pulver übrigblieb. Nach der Wägung wurde die optische Drehung bestimmt.

0.0264 g Glykogen gaben im 1-dm-Rohr $\alpha = 0.45^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = 170.45^\circ$. Das Filtrat, das die Tritylkomponente enthielt, wurde am Wasserbad eingeeengt, mit Alkohol aufgenommen und zur Trockene gebracht. Nach der Auswaage wurde der kristallinische Rückstand zweimal aus siedendem Alkohol umkristallisiert. Der Schmelzpunkt lag bei 161°, der Mischschmelzpunkt mit reinem Triphenylkarbinol lag bei 160.5°.

a) 0.1634 g Substanz gaben 0.0927 g Glykogen.

Ber.: 0.0935 g Glykogen.

0.1634 g Substanz gaben 0.0739 g Triphenylkarbinol.

Ber.: 0.0751 g Triphenylkarbinol.

- b) 0·0290 g Substanz gaben 0·0144 g Glykogen.
Ber.: 0·0166 g Glykogen.
0·0290 g Substanz gaben 0·0137 g Triphenylkarbinol.
Ber.: 0·0133 g Triphenylkarbinol.

d) Verätherungsversuche an Inulin.

1 g im Hochvakuum auf Gewichtskonstanz (bei 50°) getrocknetes Inulin wurde mit 6 g Triphenylchlormethan und 20 cm³ Pyridin 13 Stunden lang im Einschlußrohr auf 100° erhitzt. Nach dem Öffnen der Bombe wurde in derselben Weise wie beim Glykogen verfahren. Es wurde der Bombeninhalte in Wasser von 80° gespült, worauf ein voluminöser Niederschlag ausfiel. Dieser Niederschlag löste sich aber vollkommen in Alkohol bzw. Methylalkohol, ohne an dieser Stelle wie beim Glykogen einen unlöslichen Rückstand zu hinterlassen. Die alkoholischen Lösungen des Niederschlages gaben in verschiedenen Fraktionen beim Einengen des Lösungsmittels stets ein mit Triphenylkarbinol identisches Produkt, was auch bei den folgenden Versuchen festzustellen war. Zunächst wurde unter milderer Reaktionsbedingungen verfahren, indem das Reaktionsgemisch nur 6 Stunden auf 100° erhitzt wurde. In einem weiteren Versuche wurde 3 Stunden auf 100° erhitzt und sodann 36 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Als dies nicht zum Ziele führte, wurde das Reaktionsgemisch schließlich in einem vierten Versuche 34 Stunden lang auf 100° erhitzt. Jedoch bei keinem dieser Versuche konnte ein Inulinäther erhalten werden. Es fiel jedesmal nach dem Eingießen des Bombeninhaltes in Wasser ein gelbbrauner Niederschlag aus, der sich aber spielend in Alkohol löste und als Triphenylkarbinol erwies. Im wässrigen Filtrat konnte nach vorangegangener saurer Hydrolyse und Reduktion von FEHLINGSCHEM Lösung das vorhandene Inulin fast quantitativ nachgewiesen werden.