



| | |
|------------------|---|
| Title | Über das neue, aus der Stärke isolierte Disaccharid, sein Konstitution und die daraus gezogene Betrachtung über den Aufbau des Stärkemoleküls |
| Author(s) | NAKAMURA, Yukihiro |
| Citation | Journal of the Faculty of Agriculture, Hokkaido University, 49(1), 95-120 |
| Issue Date | 1942-07-20 |
| Doc URL | http://hdl.handle.net/2115/12752 |
| Type | bulletin (article) |
| File Information | 49(1)_p95-120.pdf |



[Instructions for use](#)

ÜBER DAS NEUE, AUS DER STÄRKE ISOLIERTE DISACCHARID, SEIN KONSTITUTION UND DIE DARAUS GEZOGENE BETRACHTUNG ÜBER DEN AUFBAU DES STÄRKEMOLEKÜLS

Von

Yukihiko NAKAMURA

Abteilung I.

Erkennung des neuen Disaccharids, Entscheidung seiner Konstitution, Benennung des Disaccharids und Betrachtung über den Aufbau des Stärkemoleküls.

In der älteren Literature finden sich mehrere Angaben, daß man aus Stärke, Dextrinen usw. Disaccharide gewinnen kann, die mit der Maltose nicht identisch sind.

E. FISCHER⁽¹⁾ hat ein Disaccharid, Isomaltose, durch Einwirkung konzentrierter Salzsäure auf Glucose gewonnen.

C. SCHMITT und A. COBENZL⁽²⁾, C. SCHMITT und J. ROSENHEK⁽³⁾ haben ein Disaccharid, Gallisin genannt, aus dem nicht vergärbaren Teil von Stärkehydrolysaten gewonnen. Sie bezeichneten die Substanz als ein "Übergangsprodukt von Stärke zum Zucker", meinten also, daß sie ein wirkliches Spaltprodukt von Stärke und nicht etwa ein sogenanntes Reversionsprodukt sei.

Im Gegenteil haben C. SCHEIBLER und H. MITTELMEIER⁽⁴⁾ hervorgehoben, daß Gallisin uneinheitlich sei, daß es wahrscheinlich durch Reversion aus Glucose unter Einwirkung konzentrierter Salzsäure gebildet werde und daß es also kein Zwischenprodukt von Stärkehydrolyse sei. Auch J. GATTERBAUER⁽⁵⁾ hat ein Disaccharid, das schwer vergärbar war, im Sirup von Stärkehydrolysaten gefunden. Er hat es Glucosin genannt und geschlossen, daß es durch Reversion aus Glucose durch Einwirkung der Säure gebildet werde.

C. LINTNER⁽⁶⁾ hat Isomaltose als ein nicht vergärbaren Zucker im Bier und in der Würze gefunden. Er hat geschlossen, daß sie

durch enzymatische Hydrolyse aus Stärke gebildet werde. Die Isomaltose wurde von mehreren Verfassern als unreine Maltose angenommen. Demgegenüber hat SYNJEWSKI⁽⁷⁾ sie als reinen Zucker Dextrinose genannt. Nach der Meinung von LING und NANJI⁽⁸⁾ bildet sich Dextrinose oder Isomaltose aus Stärke über ein Trisaccharid. SOMOGYI⁽⁹⁾ hat eine unvergärbare Isomaltose als ein normales Abbauprodukt der Stärke durch Enzym gefunden.

H. PRINGSHEIM und seine MITARBEITERN⁽¹⁰⁾ haben sogenannte Amylobiose durch Einwirkung kalter konzentrierter Salzsäure aus Stärken, Dihexosanen, Trihexosanen und Polyamylosen erhalten. K. SJÖBERG⁽¹¹⁾ hat Amylobiose durch Einwirkung lebender *Saccharomyces Saké* aus Amylose bekommen. Aber KARRER⁽¹²⁾ und WEIDENHAGEN und A. WOLF⁽¹³⁾ haben angenommen, daß Amylobiose kein chemisch einfacher Stoff sei, sondern ein Gemisch von Dextrin und Maltose oder Glucose sein könne. PICTET und VOGEL⁽¹⁴⁾ haben Dextrinose durch Einwirkung von Oxalsäure oder Malzdiastase aus Isotrihexosanen erhalten.

Daß ein Disaccharid (Revertose) durch Einwirkung von Maltase, Takadiastase oder Invertase aus Glucoselösung entstanden sei, wurde von O. EMMERLING⁽¹⁵⁾, CROFT HILL⁽¹⁶⁾, ARMSTRONG⁽¹⁷⁾ und PRINGSHEIM und LEIBOWITZ⁽¹⁸⁾ berichtet.

Dennoch finden sich fast keine Angaben in der Literatur, die über die chemischen Konstitution dieser Disaccharide berichten. Nur haben C. S. HUDSON, H. PRINGSHEIM und J. LEIBOWITZ⁽¹⁹⁾ Amylobiose als 4- $[\alpha\text{-glucosido}\langle 1,4\rangle\text{-}]\text{-glucose}\langle 1,6\rangle$ angenommen.

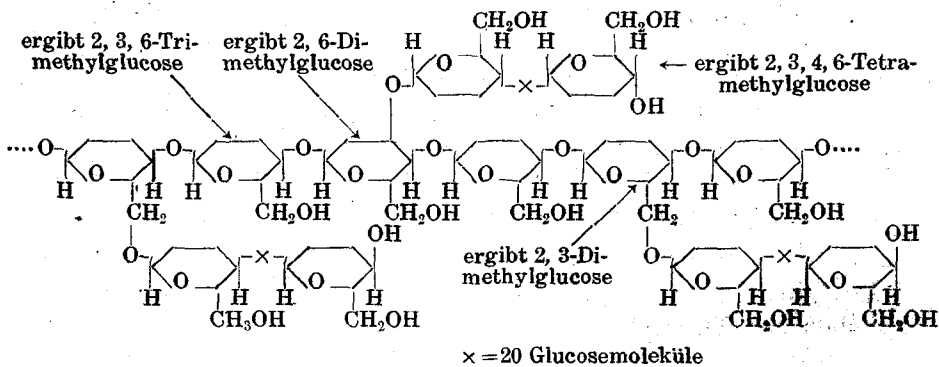
Über die Konstitution der Stärkemoleküle vermutet man, daß in ihnen die Glucosemoleküle durch die Maltosebindung (d.h. α -glykosidische 1,4-Bindung) als geradlinige lange Ketten miteinander verknüpft seien.

K. H. MEYER und H. MARK⁽²⁰⁾ haben die Messungen der Viskosität von wäßrigen Lösungen der Stärke durchgeführt. Damals verhielten die Lösungen der Stärke sich unübersichtlicher als etwa Kautschuk oder Cellulosederivate. Sie haben deshalb angenommen, daß im Bau der Stärkekettens gewisse Unregelmäßigkeiten, etwa Verzweigungen, oder netzförmiger Bau vorkämen, die man chemisch noch nicht exakt nachweisen konnte.

H. STAUDINGER und EILERS⁽²¹⁾ haben die Viskosität der Stärkelösungen gemessen und dadurch das Molekulargewicht der Stärke berechnet. Als keine Übereinstimmung zwischen dem Molekular-

gewicht der Stärke und dem der Cellulose gefunden wurde, haben sie geschlossen, daß in der Konstitution der Stärkemoleküle Verzweigungen vorhanden sein dürften.

Im Jahre 1937 haben STAUDINGER und E. HUSEMANN⁽²²⁾ über die Konstitution der Stärkemoleküle die folgende Formel eingebracht:



Aber die Formel vernachlässigte den experimentellen Beweis.

K. FREUDENBERG und H. BOPPEL⁽²³⁾ haben die Endgruppenbestimmung an dem Trimethyläther der Stärke, der Amylose und des Amylopektins unter Berücksichtigung neuerer Erfahrungen durchgeführt. Hierbei verhielten sich die drei Präparate gleich. In wiederholten Versuchen wurden 3.2 bis 3.4% Tetramethylglucose, 1.8 bis 2.2% Dimethylglucose, 91% Trimethylglucose und 4% Destillationsrückstand nach der Glucosidierung gefunden. Durch die quantitativen Bestimmungen haben sie die experimentellen Fehler geklärt. Sie haben dann geschlossen, daß das Verhältnis von Dimethyl- zu Tetramethylglucose daher ungefähr 1:1 sei und diese Dimethylglucose im Bau der Stärkekette den Verzweigungsstellen der Bindungen der Glucosemoleküle entsprechen.

K. FREUDENBERG und H. BOPPEL⁽²⁴⁾ haben vollständig methylierte Stärke mit Salzsäure hydrolysiert und geklärt, daß die Dimethylglucose-Fraktion eine kleine Menge 2,6-Dimethylglucose, die ein Sekundärprodukt von Trimethylglucose und keine primär im Stärkemolekül vorhandene Verbindung war, enthält und daß die Dimethylglucose-Fraktion reichliche Menge der 2,3-Dimethylglucose enthält.

Daraus haben sie geschlossen, daß das Hydroxyl 6 der Glucose als Verzweigungsstelle im Stärkemolekül wahrscheinlich sei, un-

gefähr jede 20. Glucoseeinheit außer der in 4-Stellung verknüpften Nachbareinheit eine weiter in der 6-Stellung trage, und demnach neben der Maltosebindung die der sogenannten Isomaltose in der Stärke vorliege (wenn man unter Isomaltose die 6-[α -glucosido]-glucose versteht).

K. HESS und E. STEURER⁽²⁵⁾ haben bemerkt, daß der sich aus dem osmotischen Druck ergebende Polymerisationsgrad bei Amyloamylose den sich aus dem Endgruppengehalt ergebenden Polymerisationsgrad von HESS und KRAJUC um etwa das 3-fache, bei Erythroamylose um etwa das 20-fache überstieg. Sie haben die Verhalten durch die Annahme erklärt, daß in der Stärke und ihren Komponenten im Sinne von STAUDINGER Kettenverzweigungen vorliegen.

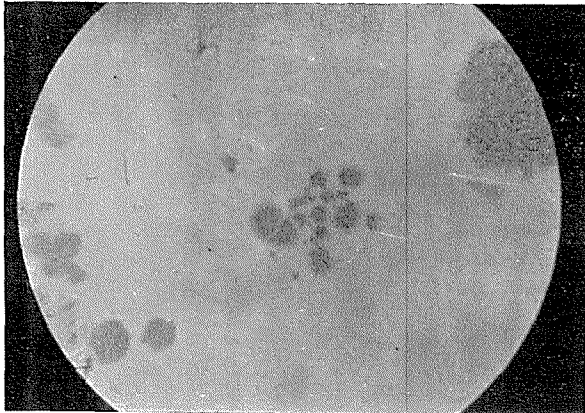
K. MYRBÄCK und K. AHLBORG⁽²⁶⁾ haben mehrere Grenzdextrine aus Dextrinen und Stärken getrennt. Das eine war ein Trisaccharid. Sie haben das Trisaccharid vollständig methyliert und erklärt, daß das Trisaccharid je eine Maltose- und Isomaltosebindung hatte. Daraus wurde klar, daß in der Stärke und in den Dextrinen die 1,6-Bindung existierte und sie als Verzweigungsstelle im Stärkemolekül wahrscheinlich war.

Wenn die STAUDINGERSche Hypothese als richtig angenommen wird, scheint es dem Verfasser möglich, daß man eine 1,3-Bindung, die eine 2,6-Dimethylglucose aus Methylstärke geben soll, im Stärkemolekül nachweisen kann, neben der 1,4-Bindung, die eine 2,3,6-Trimethylglucose gibt und der 1,6-Bindung, die eine 2,3-Dimethylglucose gibt.

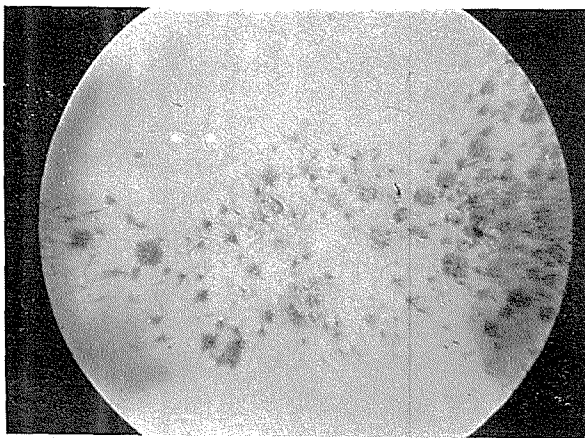
Die Isolierung und der Beweis solcher Bindung aus der Stärke ist für die Chemie der Stärke sehr wichtig, weil dadurch die Konstitution des Stärkemoleküls ganz klar erwiesen werden kann. Die Untersuchungen in dieser Richtung sind unbedingt nötig zum Fortschritt der Chemie der Stärke.

Der Verfasser ließ Stärke mit Diastase während 24 Stunden hydrolysieren, die Lösung wurde unter vermindertem Druck bei niedrigerer Temperatur eingeengt. Aus der konzentrierten Lösung isolierte er ein Osazon. Das Osazon zeigte das Molekulargewicht 522.3, die Elementaranalyse C 55.46%, H 6.01% und N 11.69% und stimmte mit den berechneten Werten von Disaccharidosazon $C_{24}H_{32}O_9N_4$ sehr gut überein. Deshalb konnte man es als ein Disaccharidosazon feststellen.

Der Schmelzpunkt des Osazons war 160–162°, und das Drehungsvermögen war $[\alpha]_D^{15} = +46.39^\circ$ (CH₃OH, c=1.164%).



×260



Osazon

Diese Zahlen wurden mit den schon berichteten Zahlen der Diglucosesaccharide wie folgt verglichen:

TABELLE 1. Schmelzpunkt und spezifischen Drehung der Disaccharidosazone.

| | Schmelzpunkt | $[\alpha]_D$ |
|----------------------------------|------------------------------|---|
| Osazon | 160–162° | +46.39° (CH ₃ OH, c=1.164) |
| Maltosazon | 205°, 202–208° | +60° (C ₂ H ₅ OH, c=0.5) |
| Isomaltosazon | 158°, 160° | +23.1° (CH ₃ OH, c=1.17) |
| Revertosazon | 173–174° | ca 0° (C ₂ H ₅ OH) |
| Dextrinosazon | 150–153°, 167° | +61° (C ₂ H ₅ OH) |
| Gentiobiosazon | 163–164°, 170–173°, 179–181° | –42.9° (95% C ₂ H ₅ OH) |
| Amylobiosazon | 189° | inksdrehend |
| α -6-glucosido-glucosazon | 174° | – |
| Cellobiosazon | 198°, 198–200° | –6.46° (Pyrid. + Alk. 4:6) |
| Isocellobiosazon | 165–167° | –85.1°, –47.3° (C ₂ H ₅ OH) |

Der Schmelzpunkt des hier isolierten Osazons ist 160–162° und er liegt nahe dem des Isomaltosazons 158°, 160° und des Gentiobiosazons 163–164°. Im Gegenteil ist die spezifische Drehung +46.39° und sie ist von derjenigen des Isomaltosazons +23.1° und des Gentiobiosazons –42.9° ganz verschieden.

Deshalb betrachtete der Verfasser das hier isolierte Osazon als das Osazon eines ganz neuen Disaccharids.

Weil der durch Konzentration des Stärkehydrolysates erhaltene Sirup eine große Menge von Maltose, Glucose usw. enthält, wäre zu erwarten, daß bei der Bildung des Osazons zusammentreffend Maltosazon u.a. gebildet wird. Im Gegenteil fand man aber gar kein Maltosazon. Es erschien, daß bei der Bildung des Osazons die Menge des Phenylhydrazins ausreichend war. Trotzdem war es möglich, daß wegen Mangels des Reagens kein Maltosazon gebildet wurde. Danach wurde mit der 4-fachen Menge Reagens gearbeitet, aber man erhielt auch kein Maltosazon.

Der durch Konzentration des Stärkehydrolysates erhaltene Sirup wurde nun durch Zusatz von 95%igem Alkohol extrahiert. Die Alkohollösung wurde unter vermindertem Druck bei niedriger Temperatur eingeeengt. Bei der Behandlung des hier erhaltenen Sirups mit Phenylhydrazin fand man darauf zuerst das Maltosazon.

Anstatt des Phenylhydrazinhydrochlorids und des Natriumacetats brauchte man Phenylhydrazin und Essigsäure mit gleichem Erfolge.

Vermittelst dieser Erfolge kann man schließen, daß das Maltosazon mit Phenylhydrazin aus der Lösung nicht fällt, wenn der Sirup des Stärkehydrolysates alkoholunlösliche Substanzen enthält,

daß es fällt, wenn alkoholunlösliche Substanzen nicht mehr vorhanden sind, trotzdem das neu isolierte Osazon fällt, obgleich alkoholunlösliche Substanzen vorhanden sind.

Die Stärk wurden durch Diastasewirkung während je 1 Stunde, 12 Stunden oder 48 Stunden lang hydrolysieren. Von jedem durch Konzentration des Stärkehydrolysates erhaltenen Sirup wurde das neue Osazon erlangt, und zwar sowohl bei kurzer Diastasewirkung wie 1 Stunde als auch bei langer Diastasewirkung wie 48 Stunden.

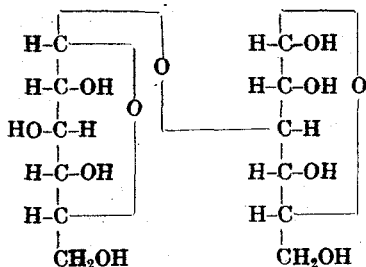
Dasselbe Osazon konnte man aus den Reis-, Klebreis-, Mais-, Kartoffel- und Hundszahnstärken und auch aus Dextrin, das durch Behandlung der α -Amylase mit Stärke gewonnen war, durch die gleiche Behandlung isolieren.

Deshalb ist es wahr, daß das Disaccharid in allen Stärken vorhanden ist.

Die Konstitution des Disaccharids ist keine α -1,4-Bindung (Maltose), keine β -1,4-Bindung (Cellobiose), keine α -1,6-Bindung (α -6-glucosido-glucose), und keine β -1,6-Bindung (Gentiobiose). Deshalb ist die Bindung weder 1,4-Bindung noch 1,6-Bindung. Da das Disaccharid ein Osazon bildet, ist die Bindung weder 1,1-Bindung noch 1,2-Bindung.

Die Methode der Bindung zweier Glucosen ist irgendeine 1,1-, 1,2-, 1,3-, 1,4-, 1,5- oder 1,6-Bindung. Aber wie vorher gesagt ist, kann man nicht an 1,1-, 1,2-, 1,4- und 1,6-Bindungen denken. So kommen die 1,3- und 1,5-Bindungen in Betracht. Da die Glucosen im Stärkemolekül alle Glucopyranose sind und α -glykosidisch miteinander verbunden sind, wird das Hydroxyl 5 der Glucose zur Bildung des Oxydrings gebraucht, und deshalb muß die einzige, wahrscheinlichste Bindung des Disacchrids die α -1,3-Bindung sein.

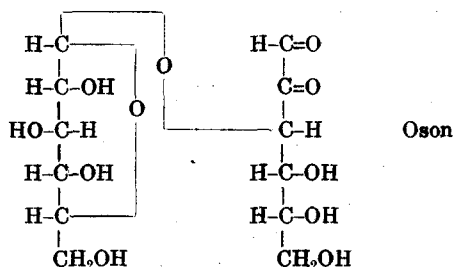
Dem Disaccharid, das das isolierte Disaccharidosazon gibt, glaubt der Verfasser folgende Konstitution (3-[α -d-glucosido<1,5>-d-glucose<1,5>]) zuschreiben zu sollen, nämlich



3-[α -d-glucosido<1,5>-d-glucose<1,5>

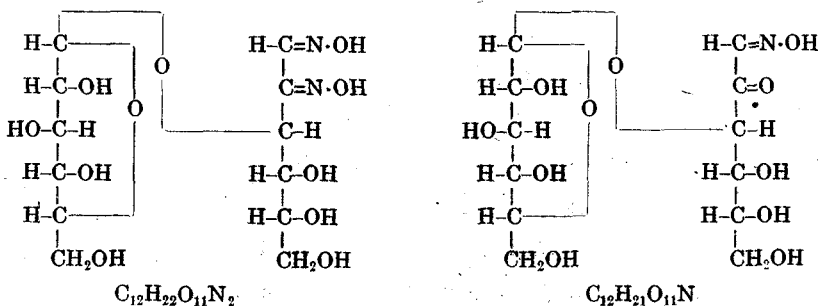
Der Verfasser arbeitete wie folgt nach einer Methode, die zur Konstitutions-Ermittlung der Maltose von G. ZEMPLÉN⁽²⁷⁾ durchgeführt wurde, um seine obenbeschriebene Schlußfolgerung zu beweisen.

Durch die Behandlung des neuen Disaccharidosazons mit Benzaldehyd ergab sich ein Oson. Das Oson war ein nicht krystallisierter Sirup mit starkem Reduzierungsvermögen und zeigte die spezifische Drehung $[\alpha]_D^{20} = +77.33^\circ$ (H_2O , $c=2.175\%$). Es ist völlig anders als das Maltoson⁽²⁸⁾, dessen Drehung schwach rechtsdrehend ist. Es ist ganz wahrscheinlich, daß das Oson folgende Konstitution haben kann.

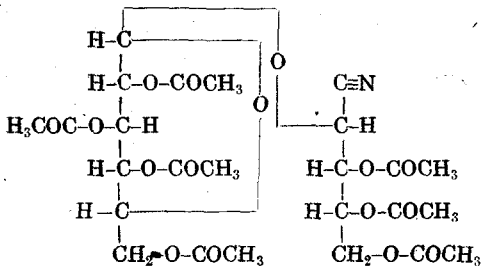


Das Oson wurde mit reinem freiem Hydroxylamin oximiert. So ergab sich eine Substanz, deren Stickstoffgehalt 6.06% war. Wenn die beiden Carbonylgruppen des Osons sich mit Hydroxylamin verbanden, ergab sich $C_{12}H_{22}O_{11}N_2$ mit dem Stickstoffgehalt von 7.57%. Wenn die viel schwerer oximierbare Ketogruppe des Osons mit Hydroxylamin nicht und nur die Aldehydgruppe reagierte, ergab sich $C_{12}H_{21}O_{11}N$ mit dem Stickstoffgehalt von 3.94%.

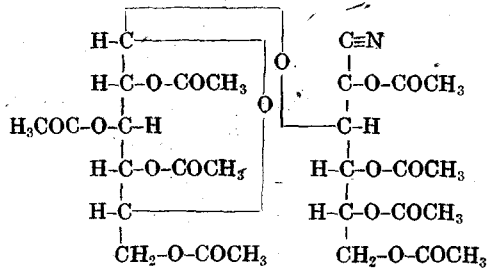
Das hier erhaltene Oxim enthielt Stickstoff 6.06% und konnte ein Gemisch von den beiden Verbindungen sein. Der Prozentgehalt der beiden Verbindungen wurde nach dem Stickstoffgehalt wie folgt berechnet: $C_{12}H_{22}O_{11}N_2$ 58.40% und $C_{12}H_{21}O_{11}N$ 41.60%.



Das Gemisch der beiden Oxime wurde mit Essigsäureanhydrid acetyliert. Bei der Acetylierung änderte sich jede Hydroxylamin-
gruppe zu einer Cyangruppe. Bei $C_{12}H_{22}O_{11}N_2$ spaltete die Cyan-
gruppe des 1. Kohlenstoffatoms als Cyanwasserstoffsäure sofort ab,
und eine Verbindung, die um ein Kohlenstoffatom ärmer war, ent-
stand. Bei $C_{12}H_{21}O_{11}N$ band sich die Ketogruppe des 2. Kohlen-
stoffatoms mit einer Acetylgruppe. So erhielt man ein Gemisch von
Heptaacetylglucoarabonsäurenitril und Octaacetylglucogluconsäure-
nitril wie folgend. Diese Tatsache war verständlich, wenn man den
Stickstoffgehalt des Reaktionsgemisches (2.15%) mit demselben der
beiden Nitrile (2.32% und 2.11%) verglich.



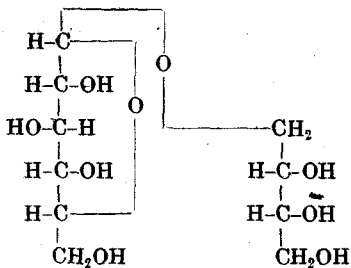
Heptaacetylglucoarabonsäurenitril



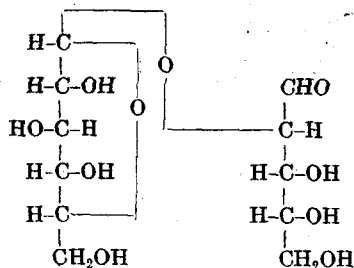
Octaacetylglucogluconsäurenitril

Wenn man das Gemisch der beiden Nitrile in Chloroformlösung
mit Natriummethylalkoholat spaltete, erhielt man zwei Disaccharide,
die durch die Spaltung der endständigen Cyangruppe und durch die
gleichzeitigen Verseifung der Acetylgruppen frei geworden waren.
Weil das Reaktionsgemisch viele anderen Beimischungen enthielt,
wiederholte man die Acetylierung mit Essigsäureanhydrid und die
nachfolgende Verseifung des Reaktionsgemisches mit Barythydrat.

Das Gemisch der frei gewordenen Disaccharide war ein Sirup.
Der Sirup war ein Gemisch von den folgenden Stoffen, nämlich
Glucoerythrose und Glucoarabinose.



Glucoerythrose



Glucoarabinose

Da die Glucoerythrose keine freie Carbonylgruppe hatte, reduzierte sie nicht und reagierte auf Phenylhydrazin nicht. Da die Glucoarabinose eine freie Carbonylgruppe hatte, mußte sie Reduktionsvermögen zeigen, trotzdem das Hydroxyl 2 der Arabinose in Glucoarabinose zur Bindung gebracht war, mußte sie mit Phenylhydrazin kein Osazon geben.

Der hier gewonnene Sirup reduzierte Fehlingsche Lösung. Da er bei der Destillation mit Salzsäure eine Fällung von Furfurolphloroglucid gab, war es klar, daß er eine Pentosegruppe hatte. Er gab auch kein Osazon mit Phenylhydrazin.

Deshalb sind die oben geschriebenen Formeln der beiden Disaccharide richtig. Dementsprechend stellt der Verfasser auf Grund der experimentellen Untersuchungen fest, daß in der Konstitution des Disaccharids, das das neu isolierte Osazon gibt, eine 1,3-Bindung existiert.

Das Disaccharid wird "Amylolyose" genannt.

Die Konstitution des neuen Disaccharids muß man jetzt mit dem Problem des Baues des Stärkemoleküls verglichen. Der Verfasser isoliert und beweist experimentell genau ein Disaccharid mit einer 1,3-Bindung aus der Stärke. Es ist sehr richtig, daß das Disaccharid als Verzweigungsstelle im Stärkemolekül augenscheinlich ist.

Deshalb ist es klar, daß im Stärkemolekül eine 1,4-Bindung, durch welche die Glucosen geradlinig lang verbunden werden, eine 1,3-Bindung des Verfassers und eine 1,6-Bindung von MYRBÄCK, FREUDENBERG usw., die beide den Verzweigungsstellen entsprechen, vorhanden sind.

Der STAUDINGERSchen Konstitutionsformel der Stärkemoleküle soll hier ein vollständiger Beweis gegeben werden.

Beschreibung der Versuche.

Darstellung des Osazons.

In 20 ccm Wasser werden 2 g Stärke gelöst, in die Stärkelösung werden 0.05 g Diastase addiert und gelöst. Das Gemisch wird in einem Thermostat von der Temperatur 37–40° aufbewahrt. Die Verdauung der Stärke setzt man 24 Stunden lang fort.

Die Lösung wird unter 40° bei vermindertem Druck abgedampft. Zum Rückstand werden 1 g Phenylhydrazinhydrochlorid, 1.5 g Natriumacetat und 10 ccm Wasser zugegeben. Man erwärmt das Gemisch 1 Stunde im siedenden Wasserbade und läßt es über Nacht stehen. Das Osazon bildet sich in kleinen gelben Nadeln.

Das Osazon wird filtrieren, in 95%igem Alkohol gelöst. Der Alkohol wird abgedampft, dem Rückstand Wasser zugegossen und das Osazon wieder niedergeschlagen. Es wird filtrieren, mit heißem Wasser gelöst, nach der Erkaltung kristallisiert. Diese Auflösung mit heißem Wasser und Kristallisation nach der Erkaltung wiederholt man siebenmal. Das so gewonnene gereinigte Osazon wird auf Phosphorsäureanhydrid unter vermindertem Druck getrocknet.

Das Osazon bildet sehr kleine gelbe Nadeln, versammelt sich radial. Die Kristallform des Osazons ist deutlich verschieden von der des Maltosazons. Das Osazon bezeichnet man Osazon I.

Der Schmelzpunkt des Osazons ist 160–162°. 0.1164 g Osazon wird in 10 ccm Methylalkohol gelöst, die optische Drehung der Lösung wird 20 Minuten nach der Auflösung bei 15° mit 1 dm Rohr gemessen. Das Ergebnis ist $\alpha = +0.69^\circ$. Also

$$[\alpha]_D^{15} = +59.28^\circ \text{ (CH}_3\text{OH, } c=1.164\%, \text{ 20 Min.)}$$

Nach 24 Stunden wird die Drehung unter denselben Bedingungen mit dem Ergebnis $\alpha = +0.54^\circ$ gemessen. Also

$$[\alpha]_D^{15} = +46.39^\circ \text{ (CH}_3\text{OH, } c=1.164\%, \text{ 24 Std.)}$$

Das Molekulargewicht des Osazons wird nach der Micromethode durch die Schmelzpunktserniedrigung des Phenols bestimmt, nämlich: Die Lösung von 0.419 mg Osazon in 6.080 mg Phenol schmilzt bei 40.25° im geschlossenen Rohr, während Phenol bei 41.20° im geschlossenen Rohr schmilzt. Deshalb ist die Depression 41.20–40.25=0.95°. Also das Molekulargewicht (M) des Osazons

$$M = 522.3$$

Disaccharidosazon, $C_{24}H_{32}O_9N_4$ Ber. M 520.3

Gef. 522.3

Der Stickstoffgehalt wird nach der Micro-DUMASSchen Methode bestimmt.

3.390 mg Substanz: 0.35 ccm N (15°, 755 mm).

Disaccharidosazon, $C_{24}H_{32}O_9N_4$ Ber. N 10.77

Gef. 11.69

Die Kohlenstoff- und Wasserstoffgehalte werden nach der PREGLSchen Micromethode bestimmt.

2.808 mg Substanz: 1.507 mg H₂O, 5.711 mg CO₂.

Disaccharidosazon, C₂₄H₃₂O₉N₄ Ber. H 6.20, C 55.35
Gef. 6.11, 55.46

Diese Resultate sind folgenderweise zusammengebracht:

| Disaccharidosazon, C ₂₄ H ₃₂ O ₉ N ₄ | C | H | N | M |
|--|-------|------|-------|-------|
| Berechnet | 55.35 | 6.20 | 10.77 | 520.3 |
| Gefunden | 55.46 | 6.01 | 11.69 | 522.3 |

Darstellung des Osons.

Zu 1 g Osazon werden 10 ccm Alkohol, 5 ccm Wasser und 2 g Benzaldehyd zugegeben. Man erwärmt das Gemisch 1 Stunde im siedenden Wasserbade unter dem Rückflußkühler, während welcher Zeit das Osazon zerlegt wird. Nach der Erkaltung der Flüssigkeit wird die Kristallmasse der Benzaldehydphenylhydrazone filtriert. Das Filtrat wird mehrere Male mit Äther geschüttelt; damit werden die ätherlöslichen Substanzen beseitigt. Die wäßrige Lösung wird mit aktiver Kohle entfärbt, und das Filtrat wird unter 40° bei vermindertem Druck abgedampft.

Das so gewonnene Oson ist ein schwach gefärbter Sirup. 3 g Osazon gibt 1.35 g Oson. Das Oson reduziert FEHLINGSche Lösung sehr stark.

0.4345 g Oson wird in 20 ccm Wasser gelöst, die optische Drehung der Lösung wird 1 Stunde nach der Auflösung bei 11° mit 1 dm Rohr gemessen. Das Ergebnis ist $\alpha = +1.68^\circ$. Also

$$[\alpha]_D^{20} = +77.33^\circ \text{ (H}_2\text{O, } c = 2.1725\%, 1 \text{ Std.)}$$

Nach 24 Stunden verändert sich die Drehung nicht.

Darstellung des Oxims.

Das so gewonnene Oson wird in 5 ccm Wasser gelöst, im Wasserbade unter dem Rückflußkühler erwärmt und mit einer alkoholischen Lösung von freiem Hydroxylamin versetzt. Letztere wird aus 2.4 g salzsaurem Hydroxylamin mit 0.8 ccm Wasser und 0.6 g Natrium in 17.5 ccm absolutem Alkohol gewonnen. Nach Absaugen des Kochsalz-Niederschlages oximiert man durch 1-stündiges Erwärmen der

Lösung auf 65°. Dann wird die Flüssigkeit unter 40° bei verminder-
tem Druck eingengt, um eine möglichst vollkommene Entwässerung
des Rückstandes zu erzielen. So gebildetes Oxim ist ein schwach
gefärbter sehr hygroskopischer Sirup.

Der Stickstoffgehalt wird nach der Micro-KJELDAHLSchen
Methode bestimmt.

| | |
|-------------------------|----------------------|
| 9.148 mg Substanz: | 3.96 ccm n/100 NaOH. |
| $C_{12}H_{22}O_{11}N_2$ | Ber. N 7.57 |
| $C_{12}H_{21}O_{11}N$ | Ber. 3.94 |
| | Gef. 6.06 |

Die Oximierung der Ketogruppe ist viel schwieriger als die der
Aldehydgruppe, deshalb kann das Oxim des Verfassers ein Gemisch
von Substanzen aus zwei und einer Hydroxylamingruppe sein, wie
nach dem gefundenen Stickstoffgehalt zu erwarten ist.

Der Prozentgehalt der beiden Substanzen im Oxim wird nach
dem Stickstoffgehalt wie folgend berechnet.

| | |
|-------------------------|--------|
| $C_{12}H_{22}O_{11}N_2$ | 58.40% |
| $C_{12}H_{21}O_{11}N$ | 41.60% |

Acetylierung des Oxims.

Die Überführungen des Oxims (2.4 g) in Acetylderivat erfolgt
durch Erwärmen mit 25 g reinem Essigsäureanhydrid und 5 g
wasserfreiem Natriumacetat. Die Acetylierung muß sehr vorsichtig
geschehen. Sobald das Oxim in Lösung gegangen ist, erwärmt man
diese in einer Kohlensäure-Atmosphäre 1 Stunde im siedenden
Wasserbade. Dann wird das Reaktionsgemisch in 500 ccm Wasser
gegossen, stark gerührt, über Nacht stehen gelassen, die Mutter-
lauge abgetrennt, der Rückstand mit frischem Wasser versetzt und
damit tüchtig durchgearbeitet. Dabei zerfällt er nach wiederholtem
Wechseln des zum Auswaschen benutzten Wassers zu einem Pulver.
Letzteres wird im Vakuum-Exsiccator über Phosphorsäureanhydrid
getrocknet. Ausbeute 1.9 g.

Die Acetylverbindung ist ein schwach gefärbtes, leichtes Pulver.

Der Stickstoffgehalt wird nach der Micro-KJELDAHLSchen
Methode bestimmt.

| | |
|--|----------------------|
| 4.823 mg Substanz: | 0.74 ccm n/100 NaOH. |
| Octaacetylglucogluconsäurenitril, $C_{27}H_{37}O_{18}N$ | Ber. N 2.11 |
| Heptaacetylglucoarabonsäurenitril, $C_{25}H_{33}O_{16}N$ | Ber. 2.32 |
| | Gef. 2.15 |

Deshalb kann die Acetylverbindung auch ein Gemisch von den beiden Substanzen sein.

Abbau des Acetylnitrilgemisches.

Das obige Acetylnitrilgemisch wird in 10 ccm Chloroform gelöst, eine Lösung von 2 g Natrium in 35 ccm absolutem Methylalkohol zugesetzt und in einer Kältemischung geschüttelt, 3 Stunden stehen gelassen. Die Reaktionsverbindung wird in 40 ccm Wasser gelöst, mit 6.8 ccm Eisessig versetzt und angesäuert. Die wäßrige Lösung wird von der Chloroform-Schicht getrennt, unter 40° bei vermindertem Druck stark eingeengt und wiederholt mit absolutem Methylalkohol verdampft, um die Cyanwasserstoffsäure vollkommen zu entfernen und den Rückstand wasserfrei zu gewinnen.

Letzterer wird nunmehr mit 35 ccm Essigsäureanhydrid und 5 g wasserfreiem Natriumacetat im Wasserbade acetyliert und nach erfolgter Lösung 1 Stunde weiter erwärmt. Dann wird die Lösung in 500 ccm Wasser gegossen, über Nacht stehen gelassen und nach Wechseln der Mutterlauge usw. zerstampft.

Das Präparat enthält noch die folgende Menge Stickstoff nach der Micro-KJELDAHL'schen Methode.

2.807 mg Substanz: 0.21 ccm n/100 NaOH.
Gef. N 1.05

Da das Präparat Stickstoff enthält, ist ein erneuter Abbau nötig, der genau so wie der erste angeführt wird unter Verwendung von 10 ccm Chloroform, 2 g Natrium in 35 ccm absolutem Methylalkohol, 6.8 ccm Eisessig und 40 ccm Wasser. Die nachträgliche Acetylierung erfolgt mit Hilfe von 35 ccm Essigsäureanhydrid und 5 g wasserfreiem Natriumacetat.

Die so erhaltene Substanz scheint ein Gemisch von Heptaacetylglucoarabinose und Heptaacetylglucoerythrose zu sein.

Verseifung des Gemisches der Acetylverbindungen.

Das obige Präparat, das ein Gemisch von Heptaacetylglucoarabinose und Heptaacetylglucoerythrose ist, wird in 30 ccm Alkohol gelöst und mit einer Lösung von reinem Barythydrat unter starker Kühlung geschüttelt. Nach etwa 5 Minuten langer Einwirkung löst sich das Reaktionsgemisch vollkommen in Wasser, und die Lösung reagiert deutlich alkalisch.

Jetzt wird mit 5%iger Schwefelsäure versetzt, bis Lackmuspapier gerötet wird, dann im Filtrat die Schwefelsäure quantitativ mit Barythydrat entfernt. Das Filtrat wird unter 40° bei vermindertem Druck konzentriert und durch wiederholtes Eindampfen mit Alkohol von der Essigsäure völlig befreit. Der Rückstand ist ein schwach gefärbter Sirup.

Der Sirup reduziert die FEHLINGSche Lösung: Deshalb ist es klar, daß im Sirup eine freie Aldehydgruppe sich befindet.

Der Sirup wird mit der Zugabe von Salzsäure (spez. Gew. 1.06) erhitzt und destilliert. Das Destillat rötet das essigsaure Anilinpapier und gibt die schwarzblaue Fällung des Furfurolphloroglucids. Deshalb ist es klar, daß im Sirup eine Pentose sich befindet.

Zum Sirup werden Phenylhydrazin und Eisessig zugesetzt, und das Gemisch wird 1 Stunde in siedendem Wasserbade erwärmt. Aber es gibt kein Osazon.

Abteilung II.

Die Trennung der Amylolyose und ihre Reinigung.

In der Abteilung I hat der Verfasser berichtet, daß die 1,3-Bindung im Stärkemolekül vorhanden ist und daß man diese Bindung als Amylolyose bestätigen kann. Aber er hat die Amylolyose nicht als freien Zucker sondern als ihr Osazon getrennt. Dementsprechend sind die Trennung und Reinigung der Amylolyose und die Beschreibung ihrer verschiedenen Konstanten sehr wichtig.

Auf die Lösung, die durch Diastasewirkung auf Stärkelösung erhalten wird, impfte man *Saccharomyces cerevisiae* und ließ das Gemisch vollständig gären, oder solches Stärkehydrolysat wurde unter vermindertem Druck bei niederer Temperatur eingeeengt, durch Zusatz von Alkohol beseitigte man alkoholunlösliche Substanzen, der alkohollösliche Teil wurde in Wasser gelöst, die so erhaltene Lösung wurde wie oben mit *Saccharomyces cerevisiae* behandelt. Nach Vollendung der Gärung filtrierte man in beiden Fällen die Lösung klar, konzentrierte das Filtrat unter vermindertem Druck bei niederer Temperatur, der so erhaltene Sirup wurde mit 95%igem Alkohol extrahiert, man konzentrierte die alkoholische Lösung unter vermindertem Druck bei niederer Temperatur stark, der so erhaltene Sirup wurde mit Phenylhydrazin behandelt. In beiden Fällen

gewann man das Osazon mit gleicher Kristallform, gleichem Schmelzpunkt und gleicher spezifischer Drehung wie das Osazon I in Abteilung I.

Deshalb war es sicher, daß der hier erhaltene Sirup das neue Disaccharid, die Amylolyose, erhielt und daß er die vergärbaren Zucker wie Maltose und Glucose nicht mehr enthielt, weil bei der Wirkung von *Saccharomyces cerevisiae* alle vergärbaren Zucker schon vollständig beseitigt worden waren.

Der Sirup, der durch Diastasewirkung auf Stärkelösung, durch nachfolgende Gärung mit *Saccharomyces cerevisiae*, durch weitere Filtration, Konzentration unter vermindertem Druck bei niedriger Temperatur wie oben beschrieben erhalten worden war, wurde durch Zusatz von 90%igem Alkohol extrahiert. Die alkoholische Lösung wurde unter vermindertem Druck bei niedriger Temperatur eingeeengt und schließlich völlig getrocknet. So erhielt man ein weißes, sehr hygroskopisches Pulver, das in Wasser und Methylalkohol leicht löslich war.

Durch Behandlung des Pulvers mit Phenylhydrazin gewann man das Osazon mit gleicher Kristallform, gleichem Schmelzpunkt und gleicher spezifischer Drehung wie das Osazon I in Abteilung I.

Das weiße Pulver ging bei 68° auf, sinterte bei 96° und schmolz bei 144°, und das Drehungsvermögen war $[\alpha]_D = +136.75^\circ - +136.50^\circ \rightarrow +131.62^\circ - +131.44^\circ$ (H_2O , $c=1.184-1.170\%$).

Es schien, daß das weiße Pulver nicht reine Amylolyose war, sondern eine Menge niedermolekulare Dextrine enthält.

Dies weiße Pulver wurde durch Behandlung mit Essigsäureanhydrid und wasserfreiem Natriumacetat acetyliert. Das acetylierte Produkt wurde durch Lösung in Chloroform gereinigt. So erfolgte reine Octaacetylamylylose. Der Schmelzpunkt des Acetylproduktes war 82°, und das Drehungsvermögen war $[\alpha]_D^{20} = +83.05^\circ \rightarrow +75.38^\circ$ ($CHCl_3$, $c=0.7826\%$).

Diese Zahlen wurden mit den schon berichteten Zahlen der Octaacetyl-disaccharide wie folgt verglichen:

TABELLE 2. Schmelzpunkt und spezifische Drehung der Octaacetyl-disaccharide.

| | Schmelzpunkt | $[\alpha]_D$ |
|-----------------------------------|--------------|--------------------------------|
| Octaacetylamylylose | 82° | +83.05° → +75.38° ($CHCl_3$) |
| Octaacetyl- α -Gentiobiose | 188-189° | +52.3° ($CHCl_3$) |
| Octaacetyl- β -Gentiobiose | 195° | -5.3° ($CHCl_3$) |

| | Schmelzpunkt | $[\alpha]_D$ |
|----------------------------------|--------------|-------------------------------------|
| Octaacetyl- α -Isomaltose | 72-77° | +115.5° (CHCl ₃) |
| Octaacetyl- β -Isomaltose | 72-77° | +93.70° (CHCl ₃) |
| Octaacetylamylobiose | — | +120.7—+122.1° (CHCl ₃) |

Wenn man die reine Octaacetylamylobiose in Chloroformlösung mit Barythydrat verseifte, erhielt man reine Amylobiose als ein weißes, sehr hygroskopisches Pulver.

Die Amylobiose ist in Wasser und Methylalkohol leicht löslich. Der Schmelzpunkt der Amylobiose (wasserfrei) war 107→144° (Zersetzung), das Drehungsvermögen war $[\alpha]_D^{20} = +125.70^\circ \rightarrow [\alpha]_D^{20} = +121.72^\circ$ (H₂O, c=1.267%), und das Reduktionsvermögen war 32.70% der Glucose und 58.12% der Maltose (wasserfrei).

Diese Zahlen wurden mit den schon berichteten Zahlen der Disaccharide wie folgt verglichen:

TABELLE 3. Schmelzpunkt, Löslichkeit, spezifische Drehung und Reduktionsvermögen der Disaccharide.

| | Schmelzpunkt | Methyl- alkohol | $[\alpha]_D$ | Reduktions- vermögen |
|------------|-------------------------------|--------------------|---|--|
| Amylobiose | 107→144° (Z) | löslich | +125.70°→+121.72° (H ₂ O) | 32.70% d. Glucose 58.12% d. Maltose |
| Isomaltose | 145°, 170° (Z) | löslich | +100.9°→+98.4° | 0.425 (Glucose=1) |
| Revertose | — | — | +91.5° | 0.475 (Glucose=1) |
| Amylobiose | — | — | +110.9° | 32.5% d. Maltose |
| Dextrinose | 85° (S), 94-96°, 120-200° (Z) | löslich | +140°, +141.4° | 80, 84.5% d. Mal. |

Also die Stärke wurde mit Diastase hydrolysiert, auf das Stärkehydrolysat *Saccharomyces cerevisiae* geimpft, aus Gärungsrückstand die alkoholunlöslichen Substanzen wie niedermolekulare Dextrine beseitigt und schließlich rohe Amylobiose getrennt. Durch Acetylierung der rohen Amylobiose wurde reine Octaacetylamylobiose erhalten, bei der Deacetylierung des Produktes reine Amylobiose.

Beschreibung der Versuche.

Versuch 1.

In 300 ccm Wasser werden 5 g Stärke gelöst, in die Stärkelösung wird 0.125 g Diastase addiert und gelöst. Das Gemisch wird in

einem Thermostat von der Temperatur 37–40° aufbewahrt. Die Verdauung der Stärke setzt man 24 Stunden lang fort.

Auf das Stärkehydrolysat impft man *Saccharomyces cerevisiae*. Das Gemisch wird bei 30° während 6 Tage aufbewahrt, und die Gärung der Lösung ist vollendet. Die Reduktionsvermögen der Lösung vor und nach der Gärung werden mit folgenden Resultaten gemessen, nämlich vor der Gärung ist das Reduktionsvermögen 28.45 mg als Maltose aus 100 mg Stärke und nach der Gärung nimmt es zu 14.70 mg als Maltose ab. Deshalb ist das durch Gärung verlorene Reduktionsvermögen 13.75 mg als Maltose, und es entspricht 48.33% des vor der Gärung vorhandenen Reduktionsvermögens.

Die Gärung wird klar filtriert, das Filtrat wird unter 40° bei vermindertem Druck abgedampft, zum Rückstand wird 95%iger Alkohol zugegeben. Die alkoholunlösliche Substanz wird durch Filtration beseitigt. Das klare Filtrat wird unter 40° bei vermindertem Druck abgedampft.

Der hier erhaltene Sirup schmeckt süß und reduziert die FEHLINGSche Lösung.

Zum Sirup werden Phenylhydrazin und Eisessig zugegeben. Man erwärmt das Gemisch 1 Stunde im siedenden Wasserbade und läßt das Osazon bilden. Es wird filtriert, mit heißem Wasser gelöst, nach der Erkaltung kristallisiert. Diese Auflösung mit heißem Wasser und Kristallisation nach der Erkaltung wiederholt man dreimal.

Die Kristallform des hier erhaltenen Osazons, das man als Osazon II bezeichnet, ist identisch mit der des Osazons I in Abteilung I.

Der Schmelzpunkt des Osazons II ist 160–162°. 0.0878 g Osazon II wird in 10 ccm Methylalkohol gelöst, die optische Drehung der Lösung wird 15 Minuten nach der Auflösung bei 20° mit 1 dm Rohr gemessen. Das Ergebnis ist $\alpha = +0.53^\circ$. Also

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +60.36^\circ \text{ (CH}_3\text{OH, } c=0.878\%, \text{ 15 Min.)}$$

Nach 24 Stunden wird die Drehung bei 22° mit dem Ergebnis $\alpha = +0.41^\circ$ gemessen. Also

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +46.70^\circ \text{ (CH}_3\text{OH, } c=0.878\%, \text{ 24 Std.)}$$

Versuch 2.

Das gleichartig bereitete Stärkehydrolysat wird unter 40° bei vermindertem Druck abgedampft. Zum Sirup wird 95%iger

Alkohol zugegeben, und die alkoholunlösliche Substanz wird filtriert. Das Filtrat wird unter 40° bei vermindertem Druck zum Sirup abgedampft. Der Sirup wird in Wasser gelöst. Auf die wäßrige Lösung impft man *Saccharomyces cerevisiae*. Das Gemisch wird bei 30° während 4 Tage aufbewahrt, und die Gärung der Lösung ist vollendet.

Die Gärlösung wird klar filtriert, das Filtrat wird unter 40° bei vermindertem Druck abgedampft, zum Rückstand wird 95%iger Alkohol zugegeben. Die alkoholunlösliche Substanz wird durch Filtration beseitigt. Das klare Filtrat wird unter 40° bei vermindertem Druck abgedampft.

Der hier erhaltene Sirup schmeckt auch süß und reduziert die FEHLINGSche Lösung.

Zum Sirup werden Phenylhydrazin und Eisessig zugegeben. Man erwärmt das Gemisch 1 Stunde im siedenden Wasserbade und läßt das Osazon bilden. Es wird filtriert, mit heißem Wasser gelöst, nach der Erkaltung kristallisiert. Diese Auflösung mit heißem Wasser und Kristallisation nach der Erkaltung wiederholt man dreimal.

Die Kristallform des hier erhaltenen Osazons ist ebenfalls identisch mit der des Osazons I und des Osazons II. Dies neue bezeichnet man als Osazon III.

Der Schmelzpunkt des Osazons III ist 160–162°. 0.0737 g Osazon III wird in 10 ccm Methylalkohol gelöst, die optische Drehung der Lösung wird 12 Minuten nach der Auflösung bei 22° mit 1 dm Rohr gemessen. Das Ergebnis ist $\alpha = +0.44^\circ$. Also

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +59.70^\circ \text{ (CH}_3\text{OH, } c = 0.737\%, \text{ 12 Min.)}$$

Nach 22 Stunden wird die Drehung bei 21° mit dem Ergebnis $\alpha = +0.34^\circ$ gemessen. Also

$$[\alpha]_{\text{D}}^{21} = +46.13^\circ \text{ (CH}_3\text{OH, } c = 0.737\%, \text{ 22 Std.)}$$

Trennung der rohen Amylolyose.

In 500 ccm Wasser werden 20 g Reisstärke gelöst, in die Stärkelösung wird 0.5 g Diastase addiert und gelöst. Das Gemisch wird in einem Thermostat von der Temperatur 37–40° aufbewahrt. Die Verdauung der Stärke setzt man 24 Stunden lang fort.

Auf das Stärkehydralsat impft man *Saccharomyces cerevisiae*.

Das Gemisch wird bei 30° während 6 Tage aufbewahrt, und die Gärung der Lösung ist vollendet.

Die Gärlösung wird klar filtriert, das Filtrat wird unter 40° bei vermindertem Druck abgedampft. Zum Rückstand wird 80%iger Alkohol zugegeben. Die alkoholunlösliche Substanz wird durch Filtration beseitigt. Das klare Filtrat wird unter 40° bei vermindertem Druck bis zum Trocknen abgedampft.

Zur trocknen Massen wird 90%iger Alkohol zugegeben. Die alkoholunlösliche Substanz wird durch Filtration beseitigt. Das klare Filtrat wird unter 40° bei vermindertem Druck zum Sirup abgedampft. Der Sirup wird auf Phosphorsäureanhydrid bei vermindertem Druck getrocknet.

Man erhält ein weißes, sehr hygroskopisches Pulver, das in Wasser und Methylalkohol leicht löslich ist.

Das weiße Pulver geht bei 68° auf, sintert bei 96° und schmilzt bei 144°. 0.1164 g Pulver wird in 10 ccm Wasser gelöst, die optische Drehung der Lösung wird mit den folgenden Ergebnissen gemessen.

| Zeit (nach d. Lösung) | Temperatur | α | $[\alpha]_D$ |
|-----------------------|------------|----------|--------------|
| 5 Min. | 18° | +1.59° | +136.50° |
| 60 Min. | 19° | +1.54° | +132.30° |
| 120 Min. | 20° | +1.53° | +131.44° |
| 210 Min. | 21° | +1.53° | +131.44° |
| 24 Std. | 20° | +1.53° | +131.44° |

Man behandelt das Pulver mit Phenylhydrazin und Eisessig, wie vorher beschrieben, und erhält das Osazon. Das Osazon rekristallisiert man aus heißem Wasser dreimal.

Die Kristallform des erhaltenen Osazons ist identisch mit der des Osazons I und des Osazons II und III. Dies neu erhaltene bezeichnet man als Osazon IV.

Der Schmelzpunkt des Osazons IV ist 160–162°. 0.0960 g Osazon IV wird in 10 ccm Methylalkohol gelöst, die optische Drehung der Lösung wird 7 Minuten nach der Lösung bei 24° mit 1 dm Rohr gemessen. Das Ergebnis ist $\alpha = +0.57^\circ$. Also

$$[\alpha]_D^{24} = +59.37^\circ \text{ (CH}_3\text{OH, } c = 0.960\%, 7 \text{ Min.)}$$

Nach 20 Stunden wird die Drehung bei 22° mit dem Ergebnis $\alpha = +0.45^\circ$ gemessen. Also

$$[\alpha]_D^{22} = +46.87^\circ \text{ (CH}_3\text{OH, } c = 0.960\%, 20 \text{ Std.)}$$

Der Verfasser wiederholt die Behandlung in gleicher Weise mit Klebreisstärke und erhält ein weißes Pulver.

0.1170 g Pulver wird in 10 ccm Wasser gelöst, die optische Drehung der Lösung wird mit 1 dm Rohr mit den folgenden Ergebnissen gemessen.

| Zeit (nach d. Lösung) | Temperatur | α | $[\alpha]_D$ |
|-----------------------|------------|----------|--------------|
| 5 Min. | 19° | +1.60° | +136.75° |
| 60 Min. | 19° | +1.55° | +132.48° |
| 120 Min. | 19° | +1.54° | +131.62° |
| 180 Min. | 19° | +1.54° | +131.62° |
| 44 Std. | 20° | +1.54° | +131.62° |

Acetylierung der Amylolyse.

Die Überführung des weißen Pulvers (der rohen Amylolyse) (1 g) in Acetylderivat erfolgt durch Erwärmen mit 40 ccm Essigsäureanhydrid und 1 g wasserfreiem Natriumacetat. Das Erwärmen dauert 2 Stunden im siedenden Wasserbade unter dem Rückflußkühler. Dann wird das Reaktionsgemisch in 400 ccm Wasser gegossen, stark gerührt, über Nacht stehen gelassen, die Mutterlauge abgetrennt, der Rückstand mit frischem Wasser versetzt und damit tüchtig durchgearbeitet. Dabei zerfällt er nach wiederholtem Wechseln des zum Auswaschen benutzten Wassers zu einem Pulver. Letzteres wird in 50 ccm Chloroform gelöst, vom Wasser getrennt, hierauf dreimal mit je 150 ccm Wasser gewaschen, mit Chlorcalcium getrocknet und das Filtrat unter 40° bei vermindertem Druck stark eingeeengt. Der Rückstand wiegt ca. 1.5 g, und die Ausbeute ist ca. 75% der Theorie.

Das Rohprodukt wird in 10 ccm heißem Alkohol gelöst. Nach 24 Stunden wird die ausgeschiedene Kristallmasse getrennt. Die Kristallmasse wird mit Wasser gut gerührt, filtriert, in dem Filter mit Wasser weiter gewaschen und auf Phosphorsäureanhydrid bei vermindertem Druck getrocknet.

Die so erhaltene Octaacetylverbindung ist ein weißes Pulver. Die Substanz wiegt 0.8 g, und die Ausbeute ist ca. 40% der Theorie.

Der Schmelzpunkt der Octaacetylamilolyse ist 82°. 0.1174 g Octaacetylamilolyse wird in 15 ccm Chloroform gelöst, die optische Drehung der Lösung wird 5 Minuten nach der Auflösung bei 20° mit 1 dm Rohr gemessen. Das Ergebnis ist $\alpha = +0.65^\circ$. Also

$$[\alpha]_D^{20} = +83.05^\circ \quad (\text{CHCl}_3, c = 0.7826\%, 5 \text{ Min.})$$

Nach 24 Stunden wird die Drehung bei 20° mit dem Ergebnis $\alpha = +0.59^\circ$ gemessen. Also

$$[\alpha]_D^{20} = +75.38^\circ \text{ (CHCl}_3, c=0.7826\%, 24 \text{ Std.)}$$

Der Acetylgehalt wird wie folgend bestimmt: zur Substanz werden 20 ccm n/100 NaOH und 10 ccm Methylalkohol zugegeben. Das Gemisch wird 30 Minuten lang im Wasserbade unter dem Rückflußkühler schwach erwärmt und verseift. Die Lösung wird mit der Zugabe von Phenolphthalein als Indikator mit n/100 HCl rücktitriert.

4.577 mg Substanz: 5.38 ccm n/100 NaOH = 2.3145 mg CH₃CO
Gef. CH₃CO 50.57.

Octaacetylamylylose, C₁₂H₁₄O₁₁(OC₂H₃)₈ Ber. CH₃CO 50.75.

Reindarstellung der Amylylose.

2 g rohe Amylylose (weißes Pulver) werden in der vorher beschriebenen Weise acetyliert. Das Reaktionsprodukt wird nach der gleichen Behandlung in 40 ccm Chloroform gelöst, vom Wasser getrennt, hierauf dreimal mit je 120 ccm Wasser gewaschen.

Die Chloroformlösung wird mit 60 ccm Alkohol verdünnt, eine wäßrige Baryhydratlösung wird bis zur deutlichen alkalischen Reaktion zugesetzt und in Kältemischung stark gerührt. Die ausgeschiedene Barytverbindung wird in Wasser gelöst, die Chloroformschicht in einem Scheidetrichter abgetrennt und die wäßrige Lösung mit 5%iger Schwefelsäure bis zur sauren Reaktion versetzt.

Im Filtrat wird der Überschuß der Schwefelsäure quantitativ entfernt und die mit Kohle geklärte Lösung unter 40° bei vermindertem Druck stark eingeeengt, dann der Rückstand wiederholt mit Alkohol verdampft, um die Essigsäure zu entfernen.

Der Rückstand wird auf Phosphorsäureanhydrid unter vermindertem Druck bis zum konstanten Gewicht getrocknet.

Die hier erhaltene Substanz ist die reine Amylylose und ein weißes, sehr hygroskopisches Pulver, das in Wasser und Methylalkohol leicht löslich ist.

Die Amylylose fängt bei 107° zu schmelzen an und schmilzt bei 144° mit gleichzeitiger Färbung und Zersetzung, demnach ist der Schmelzpunkt der Amylylose 107° → 144° (Zersetzung). 0.1257 g Amylylose wird in 10 ccm Wasser gelöst, die optische

Drehung der Lösung wird mit 1 dm Rohr mit den folgenden Ergebnissen gemessen.

| Zeit (nach d. Lösung) | Temperatur | α | $[\alpha]_D$ |
|-----------------------|------------|----------|--------------|
| 4 Min. | 27° | +1.58° | +125.70° |
| 60 Min. | 27° | +1.54° | +122.51° |
| 140 Min. | 26° | +1.53° | +121.72° |
| 16 Std. | 24° | +1.53° | +121.72° |
| 42 Std. | 22° | +1.53° | +121.72° |

Das Reduktionsvermögen wird nach der BERTRANDSchen Methode bestimmt.

28.5 mg Substanz: 18.396 mg Cu.

Da 28.5 mg Glucose 56.25 mg Cu bilden muß, ergibt sich als Vergleichswert

$$18.396/56.25 = 0.32704.$$

Also das Reduktionsvermögen der Amylyolyse ist 32.70% der Glucose.

Da 28.5 mg Maltose (wasserfrei) 31.65 mg Cu bilden muß, ist der Vergleichswert

$$18.396/31.65 = 0.58123.$$

Also das Reduktionsvermögen der Amylyolyse ist 58.12% der Maltose (wasserfrei).

Abteilung III.

Zusammenfassung.

1. Durch die Hydrolyse der Stärke mit Diastase entstand ein neue Disaccharid. Das Disaccharid wurde als dessen Osazon isoliert.

2. Der Schmelzpunkt des Osazons war 160–162°, und das Drehungsvermögen war $[\alpha]_D^{20} = 59.28^\circ \rightarrow +46.39^\circ$ (CH₃OH, c = 1.164%).

3. Es wurde experimentell bewiesen, daß das Disaccharid eine 1,3-Bindung hatte und daß seine Konstitution 3-[α -d-glucosido <1,5>]-d-glucose <1,5> war.

4. Das Disaccharid wurde "Amylyolyse" genannt.

5. Die Amylyolyse ließ genau erkennen, daß auch die 1,3-Bindung als die Verzweigungsstelle im Stärkemolekül vorhanden war. Und zwar mußte das Stärkemolekül hauptsächlich durch 1,4-

Bindungen geradlinig lang und daneben durch 1,3- und 1,6-Bindungen verzweigt verbunden sein.

6. Die Methode der Trennung und Reinigung der Amylolyse wurde klar gemacht, und zwar wurde die Stärke mit Diastase hydrolysiert, auf das Stärkehydrolysat *Saccharomyces cerevisiae* geimpft, aus dem Gärungsrückstand die alkoholunlöslichen Substanzen beseitigt, und schließlich die rohe Amylolyse getrennt. Durch Acetylierung der rohen Amylolyse wurde reine Octaacetylamylolyse erhalten, bei der Deacetylierung des Produktes reine Amylolyse.

7. Die Amylolyse (wasserfrei) war ein weißes, sehr hygroskopisches Pulver, das in Wasser und Methylalkohol leicht löslich war. Der Schmelzpunkt war $107^{\circ} \rightarrow 144^{\circ}$ (Zersetzung), die optische Drehung war $[\alpha]_D = +125.70^{\circ} \rightarrow +121.72^{\circ}$ (H_2O , $c = 1.257\%$), und das Reduktionsvermögen war 32.70% der Glucose und 58.12% der Maltose (wasserfrei).

Bei der Veröffentlichung dieser Arbeit dankt der Verfasser Herrn Prof. Dr. K. MIYAKE, Herrn Prof. Dr. E. TAKAHASCHI, Herrn Prof. Dr. T. TADOKORO und Herrn Prof. Dr. F. HEMMI für die Leitungen der Untersuchungen und ihren stets fördernden Interessen an denselben. Ebenso ist er Herrn assist.-Prof. Y. SASAKI für die wertvolle Unterstützung während derselben zu großem Dank verpflichtet.

Literatur

1. E. FISCHER. Synthese einer neuen Glucobiose. Ber. **23**, 3687, 1890; Über die Isomaltose. Ber. **28**, 3024, 1895.
2. C. SCHMITT u. A. COBENZL. Über die Zusammensetzung der in käuflichen Stärkezucker enthaltenen unvergärbaren Substanz und deren Ermittlung. Ber. **17**, 1000, 1884.
3. C. SCHMITT u. J. ROSENHEK. Zur Kenntnis des Gallisins. Ber. **17**, 2456, 1884.
4. C. SCHEIBLER u. H. MITTELMEIER. Studien über die Stärke. 2. Über das Gallisin und dessen Entstehungsweise. Ber. **24**, 301, 1891.
5. J. GATTERBAUER. Zur Kenntnis des sogenannten Gallisins im technischen Stärkezucker. Zeitschr. Untersuch. Nahr. Genußmittel, **22**, 265, 1911.
6. LINTNER. Über das Vorkommen von Isomaltose im Bier und in der Würze. Zeitschr. gesamten Brauwesen **14**, 281, 1891; Walton, Comprehensive Survey of Starch Chemistry, vol. 1, part 2, 22, 1928.

7. SYNJEWSKY. Über die Konstitution der Stärke. Liebig's Ann. **324**, 212, 1902.
8. LING u. NANJI. Starch. I. The nature of polymerized amylose and of amylopectin. J. Chem. Soc. **123**, 2666, 1923.
9. SOMOGYI. The conversion products of starch and of glycogen in enzymic and acid hydrolysis. J. Biol. Chem. **105**, lxxxii, 1934.
10. H. PRINGSHEIM, A. BEISER, K. WOLFSOHN, W. KUSENACK u. J. LEIBOWITZ. Über die Konstitution der Stärke, des Glykogens und der Flechtenstärke. Ber. **57**, 1581, 1924; PRINGSHEIM u. LEIBOWITZ, Über die Konstitution der Polyamptosen. Beiträge zur Chemie der Stärke. 9. Ber. **57**, 884, 1924.
11. K. SJÖBERG. Spaltung der Stärke mit Sacch. Saké. Zeitschr. physiol. Chem. **162**, 223, 1927.
12. KARRER. Isolichenin und Stärkeabbau. Zeitschr. physiol. Chem. **148**, 62, 1926.
13. WEIDENHAGEN u. A. WOLF. Zur Kenntnis der Stärke. Zeitschr. V. D. Zuck. **80**, 264, 866, 1930.
14. PICTET u. VOGEL. Über eine neue Reihe von Depolymerisationsprodukten aus Stärke. Helv. Chim. Acta, **12**, 700, 1929; Chem. Zentbl. 1929, II, 1787.
15. O. EMMERLING. Synthetische Wirkung der Hefemaltase. Ber. **34**, 600, 1901.
16. CROFT HILL. Reversible zymohydrolysis. J. Chem. Soc. **73**, 634, 1898; Reversibility of enzyme or ferment action. J. Chem. Soc. **83**, 578, 1903.
17. ARMSTRONG. Studien über Enzymwirkung. Die synthetische Wirkung von Säuren, verglichen mit derjenigen der Enzyme. Synthese von Maltose und Isomaltose. Chem Zentbl. 1905, II, 1806.
18. PRINGSHEIM u. LEIBOWITZ. Über Reversionsynthesen I. Die Wirkung der Hefe-Maltase. Ber. **57**, 1576, 1924.
19. C. S. HUDSON, H. PRINGSHEIM u. J. LEIBOWITZ. Relation between rotatory power and structure in the sugar group. XI. The related rotations of amylobiose, amylotriose and glucose. J. Amer. Chem. Soc. **48**, 288, 1926.
20. K. H. MEYER u. H. MARK. Der Aufbau der hochpolymeren organischen Naturstoff. 1930, 212.
21. H. STAUDINGER u. H. EILERS. Über hochpolymere Verbindungen. 136. Über den Bau der Stärke. Ber. **69**, 819, 1936.
22. H. STAUDINGER u. E. HUSEMANN. Über hochpolymere Verbindungen. 161. Über die Bestimmung des Molekulargewichts von Polysacchariden nach der Endgruppenmethode. Ber. **70**, 1451, 1937.
23. K. FREUDENBERG u. H. BOPPEL. Methylierte Stärke. Ber. **71**, 2505, 1938.
24. ———, ———. Die Lage der Verzweigungsstelle in der Stärke. Ber. **73**, 609, 1940.
25. K. HESS u. E. STEURER. Über die Kettenverzweigungen in der Stärke. Ber. **73**, 1076, 1940.

26. K. MYRBÄCK u. K. AHLBORG. Über Grendextrine und Stärke. 8. Die Konstitution eines Stärkegrendextrins. Nachweis α -glykosidischer 1,6-Bindungen in Dextrin und Stärke. Biochem. Zeitschr. **307**, 69, 1940.
 27. G. ZEMPLÉN. Abbau der reduzierenden Biosen. 7. Konstitutions-Ermittlung der Maltose. Ber. **60**, 1555, 1927.
 28. E. FISCHER u. E. F. ARMSTRONG. Darstellung der Osone aus den Osazonen der Zucker. Ber. **35**, 3141, 1902.
-