

Partielle Hydrolyse der Tunicatencellulose. Bildung von Cellobiose.

Von

Emil Abderhalden und Géza Zemplén.

(Aus dem physiologischen Institute der tierärztlichen Hochschule, Berlin, und aus dem chemischen Institute der Hochschule für Forstwesen, Selmeczhánya.)

(Der Redaktion zugegangen am 27. März 1911.)

Die früheren Untersuchungen über das Tunicin, die Tunicatencellulose, haben ergeben, daß diese Substanz nach ihren physikalischen und chemischen Eigenschaften der Pflanzencellulose nahe steht.¹⁾ Diese Ansicht erhielt eine weitere Stütze durch den Nachweis von Glukose bei der totalen Hydrolyse von Tunicin.²⁾ Ein Beweis für die Identität der Tunicatencellulose mit der Pflanzencellulose war mit diesem Befund noch nicht erbracht. Es ist immer noch die Möglichkeit gegeben, daß die Traubenzuckermoleküle in beiden Cellulosearten unter sich verschieden verknüpft sind. Wir stoßen hier auf die gleichen Probleme, wie sie bei der Diskussion der Resultate der vergleichenden Hydrolyse von Proteinen sich ergeben haben. Nur der stufenweise Abbau und die Vergleichung der einzelnen Abbaustufen kann die Frage nach der Identität eindeutig entscheiden.

Wir haben, um die Frage nach der Zugehörigkeit des Tunicins zur Gruppe der Cellulose weiterhin zu prüfen, die

¹⁾ C. Schmidt, Liebigs Annalen, Bd. LIV, S. 318 (1895). — Berthelot, Annales de Chemie et de physique, Bd. LVI, S. 149 (1859); Comptes rendus, Bd. XLVII, S. 227 (1858). — Schäfer, Liebigs Annalen, Bd. CLX, S. 312 (1871). — Löwig-Kölliker, Journal f. prakt. Chemie, Bd. XXXVII, S. 439 (1888).

²⁾ E. Winterstein, Diese Zeitschrift, Bd. XVIII, S. 43—56 (1894).

Tunicatencellulose der Einwirkung von Essigsäureanhydrid in Gegenwart von Schwefelsäure ausgesetzt. Dabei erhielten wir genau so, wie bei der gleichen Behandlung von Pflanzencellulose, eine Acetylverbindung, welche alle Eigenschaften der Oktaacetylcellobiose zeigt. Schmelzpunkt, Löslichkeit, Zusammensetzung und Drehungsvermögen stimmen mit dem in entsprechender Weise aus Filtrierpapier dargestellten Produkt überein. Zur weiteren Identifizierung stellten wir noch das Osazon der Cellobiose dar. Ferner glückte es uns, durch Verseifung des Acetylproduktes mit Barytwasser in der Kälte krystallisierte Cellobiose zu gewinnen.

Unsere Resultate liefern einen weiteren Beweis für die Annahme, daß Tunicin und Pflanzencellulose sehr nahe verwandt und vielleicht identisch sind. Es wird die Aufgabe weiterer Untersuchungen sein, nun noch komplizierter gebaute Abbaustufen zu isolieren, um auch hier Vergleiche zu ziehen. Hier fehlt vorläufig noch die Vorarbeit mit Pflanzencellulose.

Experimentelles.

Die Darstellung der Tunicatencellulose geschah mit einigen zweckmäßigen Abänderungen im wesentlichen nach der Methode von E. Winterstein.¹⁾ Die frischen Tunicatenmäntel von *Phallusia mammillaris* wurden zunächst 2 Tage in 1%ige Salzsäure eingelegt, dann mit warmem Wasser gewaschen und von den verschiedenen Verunreinigungen mechanisch möglichst befreit. Nach dem Verschwinden der Chlorreaktion in den Waschwässern wurden die Mäntel in Alkohol eingelegt, nach 24 Stunden koliert, unter 200 Atmosphären Druck ausgepreßt, wieder in Alkohol gelegt, das Auspressen unter 250 Atmosphären Druck wiederholt und dann das Rohprodukt bei 80—90° 3 Stunden lang getrocknet. Das Rohprodukt betrug 45 g. Die fein zermahlene Masse wurde jetzt 2 Stunden mit 1%iger Natronlauge (2,200 ccm) auf 90° erwärmt, dann bis zum Verschwinden der alkalischen Reaktion durch Dekantieren aus-

¹⁾ E. Winterstein, Diese Zeitschrift, Bd. XVIII, S. 43—56 (1894).

gewaschen, nunmehr mit 2%iger Schwefelsäure (2,200 ccm) 2 Stunden auf 90° erwärmt, vollständig durch Dekantieren mit Wasser ausgewaschen, darauf das Wasser durch Alkohol verdrängt und das Produkt nach scharfem Absaugen im Vakuumexsikkator über Phosphorpentoxyd getrocknet. Ausbeute 19 g.

Zur Verwandlung in die Oktaacetylcellobiose wurden 6 g der Substanz mit 24 ccm Essigsäureanhydrid, dem 3,2 ccm konzentrierte Schwefelsäure unter Kühlung zugegeben waren, übergossen und die Masse geschüttelt. Bald beginnt die Reaktion unter Erwärmung. Sie wird unter vorsichtigem Erwärmen auf dem Wasserbade so geleitet, daß die Temperatur möglichst rasch auf 100° steigt. Dann wird die gelbbraune Lösung durch Eintauchen in Wasser etwas abgekühlt und in etwa $\frac{3}{4}$ l Eiswasser gegossen. Es scheidet sich das Rohprodukt der Oktaacetylcellobiose aus. Es wird durch mehrmaliges Dekantieren mit Wasser gewaschen. Hierbei erstarrt die Masse vollständig krystallinisch. Es wird scharf abgesaugt, gepreßt und zweimal aus heißem Alkohol umkrystallisiert. Man erhält dabei farblose lange Nadeln, die sämtliche Eigenschaften der Oktaacetylcellobiose zeigen. Ausbeute in 2 Versuchen 1 g bzw. 1,2 g, oder im Mittel 18% der angewandten Tunicatencellulose. (Etwas weniger als bei der Acetylierung von Filtrierpapier.) Die Substanz sintert bei 220° und schmilzt vollständig bei 225° zu einer klaren Flüssigkeit, während Skraup und König¹⁾ den Schmelzpunkt 228°, W. Schliemann²⁾ 221 $\frac{1}{2}$ —222° angeben. Die Analyse gab folgende Zahlen nach dem Trocknen über Phosphorpentoxyd im Vakuumexsikkator.

0,2282 g Substanz: 0,4168 g CO₂ und 0,1220 g H₂O.

Berechnet für Oktaacetylcellobiose C₁₂H₁₄(C₂H₃O)₈O₁₁
= C₂₈H₃₈O₁₉ (Mol.-Gew. 676,29):

49,54% C, 5,65% H

Gefunden: 49,81% C, 5,98% H.

¹⁾ Zd. Skraup und J. König, Monatshefte für Chemie, Bd. XXII, S. 1011 (1901). — Maquenne und Goodvin, Bulletin de la société chimique [3], Bd. XXXI, S. 854 (1907).

²⁾ W. Schliemann, Liebigs Annalen, Bd. 378, S. 366—381 (1911).

Wir haben das Präparat in Chloroformlösung auf das Drehungsvermögen geprüft.

0,2322 g Substanz in Chloroform gelöst, Gesamtgewicht der Lösung 9,2480 g, Spez. Gew. 1,473, drehte $1,56^\circ$ nach rechts, mithin $[\alpha]_D^{20} = +42,19^\circ$.

Die Zahl stimmt gut mit den Werten, die bisher für das Drehungsvermögen der Oktaacetylcellobiose in der Literatur vorhanden sind, überein. Geinsperger¹⁾ fand $+43,64^\circ$, W. Schliemann²⁾ $+41,5^\circ$.

Um das Osazon der Cellobiose darzustellen, führten wir folgenden Versuch aus. 0,5 g der Oktaacetylverbindung wurden in 40 ccm heißem Alkohol suspendiert, rasch abgekühlt, sofort 1,5 ccm 33%ige Kalilauge zugesetzt, etwa 10 Minuten geschüttelt, dann langsam in kleinen Portionen unter Schütteln Wasser zugesetzt, bis eine klare Lösung entstand (45 ccm). Um die Verseifung zu vollenden, wurde die Lösung noch 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen, dann mit Essigsäure neutralisiert, der Alkohol unter vermindertem Druck abdestilliert und die Lösung bis auf etwa 6 ccm eingengt. Nach Zusatz von 0,5 g Phenylhydrazinchlorhydrat wurde jetzt $1\frac{1}{2}$ Stunden im Wasserbade erwärmt, wobei die Lösung klar blieb. Beim Erkalten erfolgte die Ausscheidung von langen zitronengelben Nadeln, die abgesaugt und aus heißem Wasser umkrystallisiert wurden. Ausbeute 0,07 g. Die Substanz schmilzt beim raschen Erhitzen gegen 195° unter Gasentwicklung und Zersetzung. Es lag demnach zweifellos Cellobiosazon vor.

Wir haben ferner aus dem Oktaacetat die freie, krystallisierte Cellobiose abgeschieden. 0,7 g Oktaacetylverbindung wurden in 50 ccm Aceton gelöst und unter Schütteln mit 50 ccm Barytwasser versetzt. Unter fortwährendem Schütteln wurde jetzt Wasser in Portionen von 25 ccm zugesetzt und weiter geschüttelt. Nach etwa 10 Stunden war die Substanz

¹⁾ Zd. H. Skraup, Über Stärke, Glykogen und Cellulose. — E. Geinsperger, Monatshefte für Chemie, Bd. XXVI, S. 1415 (1905).

²⁾ Wilhelm Schliemann, Über die Cellobiose und die Acetolyse der Cellulose. Liebigs Annalen, Bd. 378, S. 366—381 (1911).

bis auf Spuren gelöst. Die Menge des angewandten Wassers betrug etwa 300 ccm. Es wurde noch 14 Stunden lang weiter geschüttelt, dann der Baryt mit Schwefelsäure quantitativ entfernt und das Filtrat unter vermindertem Druck auf etwa 2 ccm eingedampft. Nach 3tägigem Stehen im Exsikkator beginnt die Ausscheidung von Cellobiosekrystallen, die sich auf Zusatz von Alkohol vermehren. Nach weiteren 2 Tagen betrug die Ausbeute 0,05 g. Die Mutterlauge scheidet nach längerem Stehen weitere Mengen der Substanz aus. Das isolierte Produkt zeigte das für die Cellobiose charakteristische Drehungsvermögen.
