Chemische Untersuchungen über das Glukomannan aus "Konjak".

III. Mitteilung. Acetylierung des Glukomannans.

Von

Kituji NISHIDA und Hideo HASHIMA.

(Aus dem Forstchem. Institut, Kiushu Kaiserl. Universität)

(Eingegangen am 10. Dez. 1930)

Zur Acetylierung des Glukomannans verwendeten wir Essigsäureanhydrid bei Gegenwart von Pyridin, Zinnchlorid und Zinkchlorid. Die folgende Tabelle enthält die Werte der nach verschiedener Acetylierung erhaltenen Produkte:

Katalysator	Schmelzpunkt	Essigsäure
Pyridin	218~226°C	31,50%
Zinnchlorid	210~220°C	59,79~64,20%
Zinkchlorid	180~190°C	62,68%

Wenn Pyridin als Katalysator verwendet wurde, so war das entstehenden Produkt hauptsächlich ein Glukomannomonacetat (Essigsäure 29,41%). Wenn mit Zinnchlorid und Zinkchlorid acetyliert wurde, so enthielt es im wesentlichen ein Triacetat (Essigsäure 62, 50%). Die Schmelzpunkte der Ester waren sehr unscharf und weit schwankender. Wenn man ein Gemisch von Chlor und Schwefeldioxyd benutzt, so erhält man Ester, die in ihrer Grundzusammensetzung nur sehr wenig verändert sind. In einem Falle wurden die Mischung von Eisessig und Essigsäureanhydrid, das 0,84% Chlor und 6,08% Schwefeldioxyd enthielt, auf dem Wasserbade erhitzt. Es wurde allmählich gelatinös und nach 5 Minuten langer Erhitzung wurde Alkohol hinzugefügt, dann der Ester mit Chloroform und mit Petroleumäther als ein weisser, feiner Niederschlag abgeschieden. Das Produkt enthielt 60,77% Essigsäure und hatte einen Schmelzpunkt von 170~187°C. Wenn Essigsäureanhydrid anstatt Eisessig verwendet wurde, der Prozentsatz von Chlor und Schwefeldioxyd verschieden war und bei Zimmertemperatur 1~3 Stunden lang geschüttelt wurde, erhielt man fast die gleichen Produkte:

	Essigsäure	Schmelzpunkt
Verfahren-B	63,65%	185~194°C
" -B	60,33%	188~195°C
" -C	63,30%	176~187°C

Es wurde weiter versucht, die Triester möglichst einheitlich durch Auscheidung mit Chloroform und Petroleumäther zu trennen. Durch mehrmaliges Umlösen liess sich der Schmelzpunkt auf 187°C bis 190°C bringen, dabei 174~180°C fing es zu sintern an. Es ist wenig niedriger als bei Fruktoglukomannan (197~221°C). Die Präparate lösen sich leicht in Chloroform mit Alkohol, Aceton, Bromoform, aber nicht in Wasser, Aether, Alkohol, Benzol und Petroleumäther.

Das spezifische optische Drehungsvermögen des Esters (in 1:9 Alkohol-Chloroform) ist $[\alpha]_D^{15} = -21^{\circ},5$.

Triacetyllester wurde vakuumtrocknen analysiert und gab folgende Zahlen:

	Gefunden:		Berechnet für
	I	II	$[C_6H_7O_2 \cdot (OCOCH_3)_3]_x$
C	50,01	50,30	49,98
H	6,32	6,79	5,60

Als Molekulargewicht fanden wir, durch Gefrierpunktserniedrigung der bromoformigen Lösung, die Zahlen 2299 und 2383; aus den Formeln $[C_6H_7O_2$

$(\text{OCOCH}_3)_3]_9$ und $[\text{C}_6\text{H}_7\text{O}_2(\text{OCOCH}_3)_3]_6$ berechnen sich die Molekulargewichte 2592 und 1782. Die Wahrscheinlichkeit spricht für die Formel $[\text{C}_6\text{H}_7\text{O}_2(\text{OCOCH}_3)_3]_9$.

Chemische Untersuchungen über das Glukomannan aus "Konjak".

IV. Mitteilung. Acetolyse des Glukomannans.

Von

Kituji NISHIDA und Hideo HASHIMA

(Eingegangen am 9 Mar. 1931)

Aus den Ergebnissen der Hydrolyse mit Salz- und Schwefelsäure geht also hervor, dass das Glukomannan ein Mannose- und Glukosederivat (2:1) ist, darüber hinaus haben wir eine Reihe neuartiger Umsetzungsprodukte durch Acetolyse zu Tage fördern können. Aus dieser Klarstellung kommen wir der Frage von Stellung der Mannose und der Glukose in dem Glukomannan bedeutend näher.

Wir haben die Acetolyse des Glukomannans in der Wärme und in der Kälte mit einem Gemisch aus Essigsäureanhydrid und konz. Schwefelsäure nach Skraup und Koenig ausgeführt. Dabei fiel kein flockiges Produkt aus, das war wahrscheinlich in der Hitze über das Zwischenprodukt zum Hexoseacetat abgebaut worden. Wir haben uns bemüht diese Umsetzung so zu vermindern und durch geeignete Versuchsbedingungen die Acetolyse so zu leiten, dass eine möglichst gute Ausbeute des Zwischenproduktes gewonnen wurde. Mit Essigsäureanhydrid, Eisessig und konz. Schwefelsäure in der Kälte war die Ausbeute eine bessere und die Reinigung des erhaltenen Produktes leichter durchführbar.

Aus den verschiedenen Experimentellen geht die Ausbeute je nach den Variationen der Versuchsbedingungen hervor, sie betrug von 98% bis 133%. Die maximale Ausbeute an Rohacetat geht aus diesen Versuchen mit ca. 67% d. Theorie, entsprechend ca. 72% d. Theorie für absolutes trockenes Glukomannan, hervor. Das folgende Verhältnis der Reagentien wurde als zweckmässig gefunden.

8 g. Glukomannan, 40 g. Essigsäureanhydrid, 46 g. Eisessig, 4 g. konz. Schwefelsäure,

Die Reaktionsdauer bei Zimmertemperatur ($22\sim 26,5^\circ\text{C}$) oder in dem Schrank (23°C) wurde mit etwa $15\sim 20$ Tagen als die günstigste gefunden.

Das Rohacetat war hauptsächlich in kaltem Alkohol löslich, aber ein Teil war unlöslich. Versuche zur Trennung und Reinigung des Rohacetates wurden in dieser Hinsicht (Löslichkeit) durchgeführt, alle Bemühungen seiner Isolierung aber blieben erfolglos. Die Schmelzpunkt schwankte also zwischen $88\sim 95^\circ\text{C}$, bei dem unlöslichen Teil erhöhte er sich auf $131\sim 140^\circ\text{C}$ bis $145\sim 149^\circ\text{C}$, und war etwas schwankend. Das Produkt fing zuerst an zu sintern, bei $3\sim 5^\circ$ unter dem Endpunkte, ging es hauptsächlich in die Schmelze über und wurde schliesslich unter Verfärbung zersetzt. Die Essigsäuregehalt schwankte zwischen $65,04\%$ und $70,64\%$ im löslichen Teil, zwischen $62,26\%$ und $63,61\%$ im unlöslichen Teil. Es ist bemerkenswert, dass in dem Alkohol unlöslichen Teil, d. h. in dem durch der Acetolyse bei geringer Reaktionsdauer ($8\sim 10$) Tagen) gewonnenen Produkte der Essigsäuregehalt ein niedriger ist. Es bedeutet daher diese Schwankung zunächst einen Beweis dafür, dass in diesen Produkten ein hochmolekulares Acetat vorhanden ist. Bei der ersten Einwirkung des Acetolysemittels auf das Glukomannan hat die Veresterung zu Acetylglukomannan stattgefunden, dann wurde es über hochmolekulare Acetate zu Glukose- und Mannosepentaacetat umgewandelt, wie das folgende Schema zeigt:

Glukomannan $\rightarrow$ Triacetylglukomannan (Essigsäure $62,50\%$) $\rightarrow$ Hochmolekulare Acetate des Glukomannans (Zwischenprodukt) $\rightarrow$ Hendekaacetylglukomannotrihexose (Essigsäure $68,29\%$) $\rightarrow$ Octaacetylmannobiose oder Octaacetylglukomannobiose (Essigsäure $70,80\%$) Pentaacetylmannose und -glukose (Essigsäure $76,92\%$).

Das Acetat löste sich in weniger kaltem Alkohol nach vielmaligem Ausziehen mit heissem Wasser teilweise auf. Der zurückbleibende Sirup gab nach mehrmaligem Umfällen die Kristalle von Hendekaacetylglukomannotrihexose, die $69,78\%$ Essigsäure enthalten, und bei denen $[\alpha]_D^{20} 15^\circ,1$ ist. Sie besitzen weisse Wetzsteinform, fangen bei $90\sim 93^\circ\text{C}$. an zu sintern und schmelzen bei $108\sim 110^\circ\text{C}$. unter Bräunung und Zersetzung. Die Elementaranalyse erbrachte den Beweis dafür, dass es sich bei den Kristallen um Hendekaacetylglukomannotrihexose handelt;

Gefunden :		Berechnet für :
I	II	$\text{C}_{40}\text{H}_{54}\text{O}_{27}$
C $49,65\%$	$49,38\%$	$49,67\%$
H $5,72\%$	$5,77\%$	$5,63\%$

Das Molekulargewicht wurde durch Gefrierpunktserniedrigung der ben-

zolgen Lösung ausgeführt, und die Zahl war 924 und 1014; aus den Formeln $[\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{O}_5(\text{OCOCH}_3)_{11}]$ und $[\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_3(\text{OCOCH}_3)_8]$ berechnet sich das Molekulargewicht auf 966 und 678. Da das gefundene Molekulargewicht ein wenig zur Hendekaacetylglukomannotrihexose überstimmte, ist anzunehmen, dass die Kristalle wahrscheinlich noch kleine Mengen nieder- oder hochmolekularen Acetate enthielten.

Wenn auch die Löslichkeit der Acetate nur wenig Unterschiede zeigt, so ist doch die Durchführung der Trennung sehr schwierig. Viel besser kommt man zum Ziel, wenn man mit Aether bis zur Erschöpfung auszieht. Bei ständiger Extrahierung klebte das Acetat als klumpige Masse zusammen, diese wurde herausgenommen, dann pulverisiert, wieder von neuem mit Aether ausgezogen. Es wurde nach mehrmaligem Ausziehen mit Alkohol als der Kristall erhalten. Aus diesen Versuchen geht also hervor, dass der ätherlösliche Teil viele Acetylgruppen aufnimmt und zwar rund 70,7%, darin wahrscheinlich Hexoseacetat vorhanden ist. Der Schmelzpunkt von dem ätherlöslichen Acetate war niedriger als der des ätherunlöslichen Teiles. Das Drehungsvermögen war in Chloroform erhöht und nach der Ausziehung mit Aether zeigte das Produkt ein höheres spezifisches Drehungsvermögen. Das gefundene Molekulargewicht stimmt an besten mit der Formel $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{O}_5(\text{OCOCH}_3)_{11}$ überein.

Eine Reihe von Versuchen der Trennung wurde weiter fortgeführt, wobei Pentaacetylhexose durch die wiederholte Ausziehung mit heissem Wasser abgetrennt wurde. Schliesslich hat die Abtrennung der Einheiten durch viermalige fraktionierte Ausscheidung mit 50 % igem Methylalkohol nur ergeben, dass die Hendekaacetylglukomannotrihexose löslich ist, und durch langsames Abkühlen auf $5\sim 0^\circ\text{C}$. isolieren werden kann. Schmelzpunkt: $95\sim 110^\circ\text{C}$., $[\alpha]_D^{20}$ in Chloroform $+18^\circ$, in Benzol $+6^\circ$. Es löst sich in Chloroform, Bromoform, Methyl- und Aethylalkohol, ziemlich schwer in Aether und nicht in Wasser und Petroleumäther.

Die Verseifung wurde mit Barytwasser unter fortwährendem Schütteln bei 30°C . ausgeführt. Nach etwa 6 Stunden wurde das Baryt mit Schwefelsäure quantitativ entfernt und das Filtrat unter vermindertem Druck eingeeengt. Nach langem Stehen im Exsiccator stellte sich keine Ausscheidung von Kristallen der Glukomannotrihexose ein, die aber bei Zusatz von Alkohol als weisses Pulver ausfiel, in dem noch ein Spur Barium zurückgeblieben war. Schmelzpunkt: $118\sim 120^\circ\text{C}$. unter Sintern, etwa 175°C . unter starkem Aufschäumen, 182°C . unter Zersetzung mit Braunverfärbung.

Die Darstellung der reinen Glukomannotrihexose aus Acetat gelang nur mit absolutem methylalkoholischem Ammoniak, in dem das Acetat wurde bei 0°C . ausgelöst. Die Mischung wurde 20 Stunden lang im Eisschrank aufbe-

wahrt, dann im Vakuum eingedampft und mit absolutem Methylalkohol ausgezogen. Der Methylalkoholauszug kristallisierte nach dem Zusatz von Aether am Wande der Schale. Die erhaltene Glukomannotrihexose zeigte unter dem Mikroskope die in nadelige Form.

Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Methylalkohol und Aether zeigte die Glukomannotrihexose den Schmelzpunkt $216,5 \sim 217^\circ\text{C.}$, unter Sintern von 206°C. , $[\alpha]_D^{20}$ in Wasser $-16,^\circ 4$. Die Mikroelementaranalyse ergab.

Gefunden :			Berechnet für : $\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_{16}$
C	42,38%	42,64%	42,83%
H	6,94%	9,94%	6,40%

Das Molekulargewicht fand sich durch Gefrierpunktserniedrigung der wässerigen Lösung, welche Zahl 513 betrug, entsprechend der Formel $\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_{16} = 504$. Der Mutterlaugerückstand nach Zusatz von Aether wurde als Glukomannotrihexose abgeschieden, davon ein Anteil als nadelige Kristalle und andere Anteile als weisses Pulver dargestellt wurden. Der Schmelzpunkt der Kristalle war gleich gross wie der Glukomannotrihexose.

Die Spaltung der Glukomannotrihexose mit 2 % iger Schwefelsäure hat ergeben, dass der Bestandteil der Glukomannotrihexose als Mannose- und Glukosederivate (2:1) in vollkommen gleicher Menge wie der des Glukomannans vorhanden ist. Diese Ergebnis ist der Schlüssel zu dem Verhältnis der Glukomannankonstitution geworden.

Hier war die Acetolyse schon über dem für Hendekaacetylglukomannotrihexose charakteristischen Zustand hinausgegangen und es waren darüber die zu sehr weit abgebauten Stoffe von kleinerem Molekulargewicht z. B. Bioseacetat, Hexoseacetat, abgespalten. Dabei konnte man zwei Arten Disaccharide gewinnen.

Disaccharid (A) war ein Mikrokristall, Schmelzpunkt $150 \sim 160^\circ\text{C.}$, spezifische Drehung $[\alpha]_D^{20} + 10,^\circ 5$. Das Molekulargewicht fand sich durch Gefrierpunktserniedrigung mit den Zahlen 296 und 375, die der Formel $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_{11} = 342$ entsprechen. Durch Hydrolyse mit 2 % iger Schwefelsäure lieferte es ein Mol Mannose und ein Mol Glukose.

Disaccharid (B) gab ein warzenförmiges Kristall, das die folgenden Konstanten aufwies: $[\alpha]_D^{20}$ in Wasser $-7,^\circ 9$, Molekulargewicht = 324. Der Schmelzpunkt war unscharf und lag $135 \sim 140^\circ\text{C.}$ Es liess sich in zwei Mol Mannose hydrolysieren, war also eine Mannobiose. Hierdurch waren die Präparate (A) und (B) nicht einheitlich, aber es liess sich erfassen, dass die Acetolyse mit Essigsäureanhydrid und Schwefelsäure über Trisaccharid- und

2 Arten Disaccharidacetat bis zu dem Mannose- und Glukoseacetat führt, daraus muss man sich das Glukomannanmolekül aus 2 Mol Mannoseresten und 1 Mol Glukoserest, wie folgende Schema zeigt, aufgebaut denken.

Über das Vorkommen von Lyso-Lecithin in poliertem Reis.

Von

Motoe IWATA.

(Mitgeteilt von U. Suzuki, Biochemisches Laboratorium des Instituts für
physikalische und chemische Forschung, Tokio.)

(Eingegangen am 9. Mar. 1931)

Wenn polierter Reis mit Wasser gewaschen, getrocknet und wiederholt mit warmem 94 % igem Alkohol extrahiert und der alkoholische Extrakt im Vakuum eingedampft wird, so erhält man einen hellbraunen Sirup, welcher etwa 1% des Ausgangsmaterials beträgt. Der Verfasser hat nun aus diesem alkoholischen Extrakt, ausser Neutralfetten und Fettsäuren, wie Palmitin-, Olein- und Linolsäuren, eine stark hämolytisch wirkende Substanz isoliert und als Lyso-Lecithin identifiziert: