

IV. Peressigsäure-Oxydation des Dialdehyds.

0.95 g Dihydrolycorinon und 1.53 g $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ (110% d. Th.) wurden in 75 ccm Benzol 3 Stdn. digeriert, sodann wurde die Reaktionsflüssigkeit von dem dabei gefällten Niederschlag abgetrennt, der Niederschlag mit 75 ccm und 50 ccm Benzol ausgekocht; die Benzollösungen wurden vereinigt. Diese Aldehydlösung wurde mit 1.38 ccm 17.6-proz. Peressigsäure ($\frac{1}{2}$ d. Th.) vermischt und über Nacht stehen gelassen. Da dann immer noch unveränderte Peressigsäure vorhanden war, wurde noch bis zur Beendigung der Reaktion mehrere Stdn. erhitzt. Dann wurde der Rest der berechneten Menge Peressigsäure zugefügt und bei 50° 8 Stdn. und dann bei 55° 10 Stdn. erhitzt. Die Reaktionsflüssigkeit wurde mit 5-proz. Na_2CO_3 -Lösung in einen sauren Teil (A) und einen neutralen Teil (B) getrennt. A wurde mit 5-proz. Salzsäure angesäuert und mit Chloroform geschüttelt. Der Chloroformauszug wurde in 1-proz. NaHCO_3 -Lsg. gelöst und mit Salzsäure wieder gefällt. Der Niederschlag lieferte, aus Alkohol und dann aus Essigester wiederholt umgelöst, Krystalle vom Zers.-Punkt 245°. Ausb. nur 20 mg.

3.130 mg Sbst.: 6.955 mg CO_2 , 1.210 mg H_2O . — 3.392 mg Sbst.: 1.22 ccm n_{D}^{100} -NaOH ($F=1.00$).

$\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{O}_6\text{N} = \text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{NO}_3(\text{CHO}) \cdot \text{CO}_2\text{H}$. Ber. C 60.6, H 4.7, CO_2H 14.2.

Gef. C 60.60, H 4.32, CO_2H 16.00.

B löste sich nicht in kalter, jedoch in heißer Natronlauge und schied sich beim Erkalten nicht wieder aus. Bei Zusatz von Salzsäure trat Ausscheidung ein; diese löste sich nicht in kalter Lauge.

23. Kurt Hess und Lauge W. Lauridsen*): Über die Konstitution des Lichenins (IV**).

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut f. Chemie, Abteil. Hess, Berlin-Dahlem.]

(Eingegangen am 23. Dezember 1939.)

1. Einleitung.

Die Endgruppenbestimmung für Polysaccharide nach der Methode von K. Hess und F. Neumann hat bei Cellulose¹⁾ und Kartoffelstärke²⁾ zu dem bemerkenswerten Ergebnis geführt, daß in den natürlichen Cellulosefasern eine Endgruppe überhaupt nicht nachweisbar ist, in den natürlichen Stärkekörnern hingegen ein namentlich im Hinblick auf die Viscosität der Präparate unverhältnismäßig hoher Endgruppengehalt vorkommt (1 Endgruppe/ ~ 50 Glucosegruppen). Es hat ein besonderes Interesse, nach dieser sehr zuverlässigen Methode nunmehr auch den Endgruppengehalt des verbreiteten Flechtenkohlenhydrats Lichenin³⁾ zu ermitteln, das nach seinen Eigenschaften eine Zwischenstellung zwischen Cellulose und Stärke einnimmt.

*) Dissertat. L. W. Lauridsen, T. H. Berlin, Dezember 1939 (D 11).

) I. Mittell. K. Hess, Ztschr. angew. Chem. **37, 1002 [1924]; II. Mittell. K. Hess u. G. Schultze, A. **448**, 116 [1926]; III. Mittell. K. Hess u. H. Friese, A. **455**, 180 [1927].

¹⁾ B. **70**, 728 [1937].

²⁾ K. Hess u. K. H. Lung, B. **71**, 815 [1938].

³⁾ J. J. v. Berzelius, Schweiggers Journ. **7**, 342 [1813]; Ann. Chim. **90**, 277 [1814]; P. Karrer, M. Staub u. J. Staub, Helv. chim. Acta **7**, 159 [1924].

Die Konstitution des Lichenins scheint auf Grund der Hydrolyse zu ausschließlich *d*-Glucose⁴⁾, der Cellobiosebildung⁵⁾ sowie der Bildung von 2,3,6-Trimethylglucose⁶⁾ aus Methyllichenin der der Cellulose recht ähnlich zu sein. Aus der allgemeinen Verbreitung eines Lichenin spaltenden Enzymkomplexes (Lichenase) im Pflanzen- und Tierreich folgert P. Karrer⁷⁾ das Vorkommen des Kohlenhydrats auch in sehr vielen anderen Pflanzen, wie in den Samen von Gerste, Mais, Weizen, Bohnen, Hyazinthenzwiebeln u. a. und weist ihm den Charakter eines Reservestoffes von allgemeinerer Bedeutung zu, der wegen der celluloseähnlichen Konstitution als „Reserve-cellulose“ bezeichnet wird.

Im folgenden wird im Zusammenhang mit der Endgruppenbestimmung auch über die Verknüpfung der Glucosegruppen im Licheninmolekül berichtet.

2. Versuchsführung und Versuchsergebnisse.

Als Ausgangsmaterial wurden Licheninpräparate gewählt, die nach den früheren Vorschriften⁸⁾ aus *Cetraria islandica* durch Heißwasser-Extraktion und durch vollständige Abtrennung des Isolichenins durch Umfällung erhalten worden waren. Eine Isolierung des Lichenins nach Aufschluß mit Chlordioxyd-Natriumsulfit unterblieb geflissentlich, um jede Möglichkeit eines Abbaus und damit Irrtümer infolge von Zersetzungsprodukten (teilweise Hydrolyse) von vornherein auszuschließen.

Nach den bisherigen Vorschriften ist Lichenin nur schwer zu methylieren⁶⁾. Zur Erzielung von Präparaten mit einem Methoxylgehalt von 41.9% (für Trimethyllichenin berechnet sich 45.59% OCH_3 ⁹⁾) benötigt man eine 16-malige Wiederholung der Behandlung mit Dimethylsulfat-Alkali und eine anschließende 4-malige Behandlung mit Jodmethyl-Silberoxyd. Die Übertragung der bei Cellulose ausgearbeiteten Methylierungsbedingungen¹⁰⁾ auf Lichenin, wobei ebenfalls zur Vermeidung von Komplikationen Luft-sauerstoff peinlichst ferngehalten wurde, führte in einem Methylierungsansatz zu Präparaten von regelmäßig 41—43% OCH_3 . Damit war die wichtigste Voraussetzung für die Durchführung von Endgruppenbestimmungen am Lichenin gegeben.

Zur Prüfung der Frage, ob im Licheninmolekül jeweils mehr als 2 Glucosegruppen an eine Glucosegruppe gebunden sind (verzweigte Kette), war es erforderlich, vollständig methylierte Licheninpräparate herzustellen. Auch dies gelang jetzt verhältnismäßig leicht. Bereits nach 4-maliger Einwirkung von Jodmethyl-Silberoxyd ergänzten sich die mit Dimethylsulfat erhaltenen Methylierungsprodukte des Lichenins im Methoxylgehalt auf 45.5% OCH_3 .

⁴⁾ M. Hönig u. St. Schubert, Monatsh. Chem. 8, 452 [1887].

⁵⁾ P. Karrer u. B. Joos, Biochem. Ztschr. 136, 537 [1923]; H. Pringsheim u. W. Kusenack, Ztschr. physiol. Chem. 137, 265 [1924]; W. Graßmann u. H. Rubenbauer, Münch. med. Wschr. 78, 1818 [1931].

⁶⁾ P. Karrer u. K. Nischida, Helv. chim. Acta 7, 363 [1924].

⁷⁾ P. Karrer, M. Staub, A. Weinhausen u. B. Joos, Helv. chim. Acta 7, 152 [1924]; vergl. P. Karrer, Polymere Kohlenhydrate, Leipzig 1925, S. 109/110.

⁸⁾ M. Hönig u. St. Schubert, Monatsh. Chem. 8, 452 [1887]; K. Hess u. H. Friese, A. 455, 190 [1927].

⁹⁾ Ber. unter der Annahme, daß keine Endgruppe vorhanden ist.

¹⁰⁾ K. Hess u. F. Neumann, B. 70, 724 [1937].

Für die Endgruppenbestimmungen genügen die unvollständig methylierten Präparate, wenn man für die Umrechnung auf den vollständig methylierten Teil der Präparate wie früher annimmt, daß der unvollständig methylierte Teil im wesentlichen Dimethylglucosegruppen enthält.

Die Endgruppenbestimmungen wurden nach der Vorschrift von Hess und Neumann¹⁰⁾ durchgeführt, wobei die unvermeidlichen Verluste durch Parallelversuche an Kunstmischungen aus Tri- und Tetramethylglucose so exakt wie möglich bestimmt wurden. Das Ergebnis der in zwei Versuchen durchgeführten Bestimmung ist in Tafel 1 zusammengestellt.

Tafel 1. Die Endgruppenbestimmung bei Lichenin.

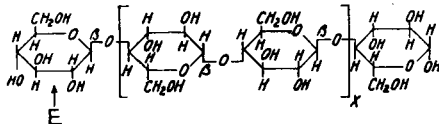
Versuch Nr.	Verwendetes Methyllichenin			Tetra*) mg	Endgruppen %	Polymeri- sationsgrad
	g	% OCH ₃	g Trimethyllichenin ber.			
1	9.8	42.9	7.77	83.5	0.88	114
2	10.0	42.2	7.38	77.8	0.86	116

*) Tetramethyl-methylglucosid unter Berücksichtigung der Verluste.

Bei der Hydrolyse des höchst methylierten Lichenins (ber. unter Berücksichtigung des ermittelten Endgruppengehaltes 45.77% OCH₃, gef. 45.52% OCH₃) entsteht neben Tetramethylglucose praktisch ausschließlich 2.3.6-Trimethylglucose. Die Hydrolyse von 2.1 g Trimethyllichenin und die anschließende Glucosidifizierung ergaben 2.0 g eines Destillates, dessen Konstanten anzeigten, daß neben Tetramethyl-methylglucosid ausschließlich Trimethyl-methylglucosid vorhanden war, während im Kolben nur 8 mg eines Rückstands mit einem Methoxylgehalt von 28.6 % OCH₃ zurückblieben. Dieser Rückstand dürfte durch die Bildung geringfügiger Mengen minder methylierter Zucker bedingt sein, die auf eine nicht ganz 100-proz. Permethylierung zurückzuführen ist.

3. Folgerungen für die Konstitution des Lichenins.

Die Abwesenheit von Dimethylglucosegruppen im permethylierten Lichenin zeigt, daß für das Lichenin eine verzweigte Glucosekette, wie sie kürzlich für Stärke erörtert wurde¹¹⁾, sicher auszuschließen ist. Die mehrfach erwiesene Bildung von Cellobiose bei der acetolytischen und enzymatischen Spaltung, die Bildung von 2.3.6-Trimethylglucose sowie der Nachweis einer Endgruppe legen es sehr nahe, für die Konstitution des Lichenins eine Glucosekette anzunehmen, wie sie bisher für Cellulose vorgeschlagen wird (I). Daß



I.

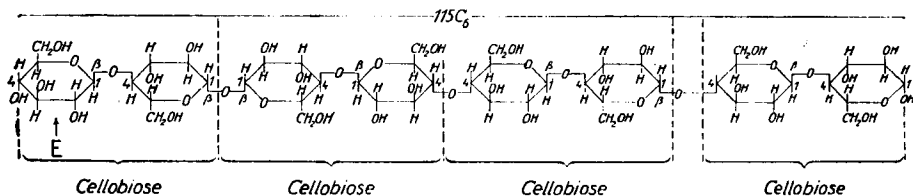
Konstitutionsschema für Cellulose; E = Endgruppe.

indessen Lichenin und Cellulose keine chemisch identischen Stoffe sein können, geht aus dem Vergleich der Drehwerte hervor. Acetyl- und Methyl-

¹¹⁾ K. Hess u. K. H. Lung, B. **71**, 821 [1938]; H. Staudinger u. E. Husemann, A. **527**, 217 [1937].

Lichenin zeigen gegenüber den Cellulosederivaten wesentlich nach der negativen Seite hin verschobene Drehwerte. $[\alpha]_D^{20}$ (in Chloroform): Licheninacetat -40.3° , Celluloseacetat -22° ; Licheninmethylat -13.7° , Cellulosemethylat -4.7° ; auch durch die Drehwertskurven der Kupferamminlösungen¹²⁾ unterscheiden sich beide Kohlenhydrate charakteristisch. Die Feststellung, daß das Röntgendiagramm des Lichenins^{13a)} mit keinem Diagramm der drei Modifikationen^{12b)} der Cellulose übereinstimmt, bestätigt die chemische Verschiedenheit der beiden Kohlenhydrate. Behält man also Formel I¹³⁾ für die Cellulose bei, so bleibt für das Lichenin im Falle einer Kettenform keine andere Möglichkeit, als gegenüber I eine andere Verknüpfung der Glucosegruppen an C-Atom 1 und C-Atom 4 anzunehmen. Die Annahme von gemischten α - und β -Bindungen, die an und für sich eine Stellung des Lichenins zwischen Cellulose und Stärke verständlich machen würde, entfällt wegen der verhältnismäßig stark negativen Drehung der Licheninderivate.

Es bleibt dann nur die Annahme von 1.1- und damit zwangsläufig von 4.4-Bindungen für die Verknüpfung der Glucosegruppen, die so anzuordnen wären, daß bei der Spaltung auch die Bildung von Cellobiose verständlich wird. H. Pringsheim und W. Kusenack⁵⁾ haben angegeben, daß Lichenin durch cellobiassefreien Malzauszug quantitativ zu Cellobiose spaltbar sei. In Übereinstimmung mit dieser Angabe teilen W. Grassmann und H. Rubenbauer⁵⁾ mit, daß durch ein Ferment aus *Aspergillus oryzae* Lichenin zu fast 100% zu Cellobiose spaltbar ist. Formel II gibt eine Kettenanordnung wieder,



II.

Konstitutionsschema für Lichenin; E = Endgruppe.

die bei gleichzeitiger Verknüpfung der Glucosegruppen durch 1.1-Bindungen (Isotrehalose-Bindungen¹⁴⁾) und 4.4-Bindungen einen 100-proz. Aufbau aus Cellobiosegruppen vorsieht¹⁵⁾.

Will man durch diese Formel die 100-proz. Spaltung zu Cellobiose verständlich machen, dann muß man annehmen, daß die von den genannten

¹²⁾ K. Hess, Ztschr. angew. Chem. **37**, 1002 [1924]; K. Hess u. E. Meßner, A. **455**, 190 [1927].

^{12a)} R. O. Herzog, Ztschr. physiol. Chem. **152**, 119 [1926].

^{12b)} K. Hess u. J. Gundermann, B. **70**, 1788 [1937].

¹³⁾ Dann allerdings wegen der nicht nachweisbaren Endgruppe mit einem sehr hohen Kondensationsgrad.

¹⁴⁾ Vergl. E. Fischer u. K. Delbrück, B. **42**, 2776 [1909].

¹⁵⁾ Formeln I u. II würden auch die Bildung zweier verschiedener Triosen aus Cellulose und Lichenin verständlich machen; das von P. Karrer dargestellte Lichtotriosazon (Helv. chim. Acta **8**, 248 [1925]) hat den Schmp. 178° u. $[\alpha]_D^{20}$: -46.47° (Alkohol), während Cellotriosazon bei 208° schmilzt und einen Drehwert von -16° (Alkohol) zeigt (L. Zechmeister u. G. Toth, B. **64**, 869 [1931]). Wir kommen auf diesen Vergleich bei späterer Gelegenheit zurück.

Autoren benutzten Fermentkomplexe die $\beta 1-\beta 1$ - und die 4.4-Bindungen leichter als die $\beta 1-4$ -Bindungen spalten. Daß $\beta 1-\beta 1$ -Bindungen durch Fermente leicht spaltbar sein können, geht aus dem bekannten Verhalten der β, β -Isotrehalose gegenüber Hefe und Emulsin hervor¹⁴⁾. Wir möchten es auch nicht für unwahrscheinlich halten, daß die Isotrehalose-Bindungen der Formel II gegebenenfalls leichter als die Cellobiosebindungen gespalten werden. Über fermentative Spaltungen von 4.4-Bindungen ist bisher nichts bekannt. Hält man die fermentative Spaltung derartiger Äther-Brücken überhaupt für möglich, dann erscheint es aber vorerst mindestens zweifelhaft, ob diese 4.4-Brücken leichter als die $\beta 1.4$ -Bindungen durch Fermente spaltbar sind. Man wird daher Formel II nur mit Vorbehalt für die Konstitution des Lichenins annehmen können und sich bewußt bleiben, daß sie hinsichtlich einer 100-proz. fermentativen Bildung von Cellobiose nicht völlig befriedigt. Andererseits werden die besprochenen Versuchsergebnisse kaum einer anderen Formel als II gerecht, wenn es richtig ist, die Entstehung von Tetramethylglucose aus Methyllichenin als Endgruppe einer Hauptvalenzkette im Rahmen der geläufigen Betrachtungsweise zu deuten.

4. Lichenin im Vergleich mit Cellulose und Stärke.

Nimmt man gemäß der Abwesenheit mindermethylierter Glucosen in den Spaltprodukten der permethylierten Kohlenhydrate für die Konstitution von Cellulose, Stärke und Lichenin unverzweigte Kettenmoleküle aus Glucosegruppen an, dann erscheinen die in Tafel 2 zusammengestellten Eigenschaften recht bemerkenswert.

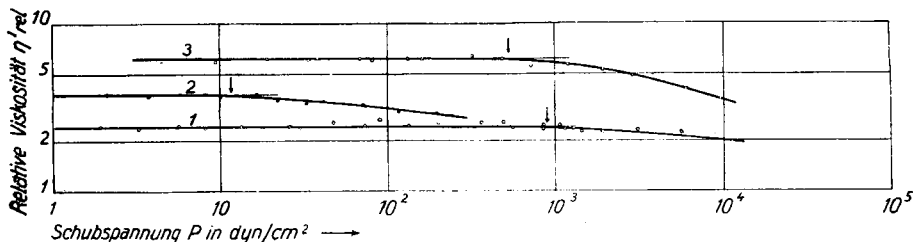
Tafel 2. Vergleich von Cellulose (Baumwolle), Stärke (Kartoffel) und Lichenin (*Cetraria islandica*).

Kohlenhydrat	Endgruppen- gehalt in %	Polymeri- sations- grad	Löslichkeit in Wasser	
			kalt	warm
Cellulose	0	∞	0	0
Stärke	1.90	52	0	Verkleisterung
Lichenin	0.87	115	0.2%	leicht löslich

Es entspricht zunächst durchaus der geläufigen Betrachtungsweise, wenn sich Lichenin in seinem Verhalten gegen Wasser nicht der hochpolymeren Cellulose, sondern der wesentlich kürzerkettigen Stärke anschließt. Daß aber zwischen der Kettenlänge und dem Verhalten gegen Wasser kein einfacher Zusammenhang bestehen kann, wird offenbar, wenn man berücksichtigt, daß Cellulosepräparate mit einer noch erheblich kleineren Kettenlänge als Lichenin, wie sie im Rahmen der üblichen Betrachtungsweise z. B. für die kristallisierten Cellulosepräparate¹⁶⁾ angenommen wird (30—40 C_6 und weniger) in kaltem und warmen Wasser völlig unlöslich sind. Der durch 1.1- bzw. 4.1-Bindungen bedingte Unterschied im Aufbau der Lichenin- und Cellulose-Kette erscheint nicht erheblich genug, um dieses grundsätzlich verschiedene Verhalten gegenüber Wasser verständlich zu machen.

¹⁶⁾ K. Dziengel, C. Trogus u. K. Hess, A. **491**, 52 [1931]; K. Hess, C. Trogus u. K. Dziengel, A. **501**, 49 [1933].

Auch im Vergleich von Lichenin und Stärke sind Wasserlöslichkeit und Kettenlänge keine symbat sich ändernden Eigenschaften. Bei wesentlich kleinerer Kettenlänge der Stärke, die sich nach weiteren Feststellungen durch Verschärfung der Fehlerbestimmung bei der Endgruppenbestimmung noch etwas erniedrigt¹⁷⁾, ist Lichenin bei längerer Kette in Wasser löslicher als die natürliche Kartoffelstärke.



Abbild. 1. Strukturviscosität (\downarrow) bei Methyllichenin (1) im Vergleich mit Methylstärke (2) und Methylcellulose (3).

Hinsichtlich der Strukturviscosität ähnelt Lichenin der Cellulose. In Abbild. 1 ist die Abhängigkeit der relativen Viscosität von der Schubspannung für Methyllichenin in Dioxan¹⁸⁾ in Vergleich mit Trimethylcellulose^{18a)} und Trimethylstärke^{18a)} wiedergegeben. Methyllichenin zeigt danach ebenso wie Trimethylstärke und Trimethylcellulose ausgeprägte Strukturviscosität, d. h. eine Abnahme der relativen Viscosität bei bestimmter Schubspannung. Bei Methyllichenin und Methylcellulose setzt im Gegensatz zu Methylstärke die Strukturviscosität bei etwa gleicher Schubspannung ein (vergl. die Pfeile in Abbild. 1). Das Auftreten von Strukturviscosität bedeutet im Rahmen der geläufigen Theorie¹⁹⁾, daß die Teilchen der Lösungen eine längliche Form besitzen²⁰⁾. Die weitgehende Ähnlichkeit im Verhalten von Methyllichenin und Methylcellulose zeigt, daß die Teilchen bei beiden Kohlenhydraten etwa ein gleiches Achsenverhältnis besitzen.

Schließlich sei erwähnt, daß die Konzentrationsabhängigkeit der Viscosität auch bei den Licheninlösungen befriedigend dem 8. Potenzgesetz²¹⁾ folgt. Auf weitere Folgerungen aus den Viscositätsmessungen für die Teilchengröße muß verzichtet werden, da eine geeignete Vergleichsgröße fehlt. In Übereinstimmung mit den Erfahrungen von S. R. Carter und B. R. Record²²⁾ hat sich ergeben, daß die Werte für den osmometrischen Druck in Abhängigkeit von der Konzentration und dem verwendeten Licheninpräparat schwanken²³⁾.

¹⁷⁾ Vergl. eine demnächst erscheinende Mitteilung.

¹⁸⁾ Wir danken Hrn. Dr. Philippoff für seine Hilfe bei der Durchführung dieser Versuche.

^{18a)} W. Philippoff u. K. Hess, B. **71**, 846 [1938].

¹⁹⁾ W. Philippoff u. W. Buchheim, Naturwiss. **42**, 694 [1938]; A. Peterlin, Ztschr. Physik **111**, 232 [1938]; Kolloid-Ztschr. **86**, 230 [1939].

²⁰⁾ Oder kugelig, aber plastisch verformbar sind, so daß sie bei laminarer stationärer Strömung zu Ellipsoiden verformt werden (vergl. dazu K. Hess, H. Kießig u. W. Philippoff, Naturwiss. **26**, 184 [1938]). Auf diese weitere Möglichkeit sei indessen hier zunächst nicht eingegangen.

²¹⁾ K. Hess u. W. Philippoff, B. **70**, 639 [1937].

²²⁾ Journ. chem. Soc. London **1939**, 665.

²³⁾ Diese Versuche sind von Hrn. Dr. E. Steurer ausgeführt worden, worüber in einem anderen Zusammenhang später berichtet werden wird.

Beschreibung der Versuche.

Darstellung des Lichenins.

300 g lufttrocknes isländisches Moos (*Cetraria islandica*, 11.8% Feuchtigkeit, 2.1% Asche) werden zur Entfernung der Gerbstoffe 6-mal je 24 Stdn. mit je 5 l 2-proz. Kaliumcarbonat-Lösung extrahiert und alkalifrei gewaschen. Das Lichenin wird durch 24-stdg. Kochen mit 5 l destilliertem Wasser ausgezogen, die heiße Lösung durch Leinengewebe filtriert und das abgekühlte Filtrat zur Erzielung einer gut filtrierbaren Form nach A. Ulander und B. Tollens²⁴⁾ ausgefroren. Nach dem Auftauen wird das Lichenin auf Leinengewebe koliert und zur Entfernung des Isolichenins so lange mit kaltem Wasser gewaschen, bis das Waschwasser keine Blaufärbung mehr mit Jod-Jodkaliumlösung zeigt. Zur vollständigen Entfernung des Isolichenins muß das ausgewaschene Präparat noch 4—5-mal aus kochendem Wasser umgelöst und dabei jeweils ausgefroren werden.

Zur Vermeidung schwer handhabbarer verklebter, klumpiger Massen wird das wasserfeuchte Lichenin nicht direkt getrocknet, sondern gemäß den Angaben von P. Karrer, B. Joos und M. Staub²⁵⁾ durch vorsichtige Behandlung mit Alkohol und Äther entwässert. Das lockere graubraune Pulver (10—15% Luftfeuchtigkeit) löst sich leicht in kaltem Wasser und enthält etwa 1% Asche²⁶⁾. Die Ausbeuten schwanken zwischen 6 und 9% (bezogen auf trockne und aschefreie Flechte).

Der Drehwert der Hauptfraktion liegt ähnlich wie bei den fraktionierten Präparaten von Hess und Friese. Dies bedeutet, daß bei den von diesen Autoren angewendeten Reinigungsverfahren tatsächlich keine Anreicherung einer besonderen Licheninkomponente eingetreten ist, wie dies gelegentlich von H. Pringsheim²⁷⁾ erörtert wurde. Es ist nicht wahrscheinlich, daß diese Hauptfraktion ein einheitliches Präparat darstellt. Die Endgruppenbestimmungen wurden nur an nicht fraktioniertem Material durchgeführt, so daß es sich bei den Bestimmungen am Lichenin ähnlich wie im Falle der Stärke um einen „mittleren“ Endgruppengehalt handelt.

Methylierung.

Vormethylierung mit Dimethylsulfat: Die Methylierung wurde nach K. Hess und F. Neumann²⁸⁾ in 45-proz. Natronlauge unter Ausschluß von Luftsauerstoff bei 60° in der angegebenen Apparatur durchgeführt. Dabei muß das Licheninpulver zur Vermeidung von Störungen bei der Methylnahme portionsweise zu der gut entlüfteten Lauge (nicht umgekehrt!) unter schnellem Turbinieren und Einleiten von Wasserstoff zugegeben werden. Es werden bei Verwendung des beschriebenen 3-l-Gefäßes zweckmäßig jeweils nur 10 g Lichenin auf einmal verarbeitet. Gegen Ende der Dimethylsulfatzugabe tritt bei Verwendung des Pulvers leicht starkes Schäumen auf (Entwicklung von Dimethyläther), dem durch Änderung der Zugabegeschwindigkeit für das Dimethylsulfat sowie der Rührgeschwindigkeit begegnet wird.

²⁴⁾ B. **39**, 402 [1906].

²⁵⁾ Helv. chim. Acta **6**, 801 [1923].

²⁶⁾ Die Asche löst sich im Gegensatz zu den Angaben von H. Pringsheim u. W. Kusenack leicht in verd. Salzsäure und enthält sicher keine Kieselsäure.

²⁷⁾ Die Polysaccharide, J. Springer, Berlin 1931, S. 97.

²⁸⁾ B. **70**, 721 [1937].

Zur Isolierung des Methylierungsproduktes wird die Reaktionsmasse abgenutscht und der Niederschlag auf einem Uhrglas auf dem Wasserbade getrocknet. Nach dem Pulverisieren wird im Soxhlet-Apparat mit Chloroform erschöpfend extrahiert, die Chloroformlösung stark eingedunstet und nach Abzentrifugieren der anorganischen Salze mit etwa dem doppelten Volumen Benzin versetzt (120—140°). Beim Abdunsten des Chloroforms im Vak. scheidet sich das Methyllichenin in gut handhabbarer Form ab. Die Fällung wird durch Kühlen mit Eiswasser vervollständigt und nach dem Abnutschen zur Entfernung des hochsiedenden Benzins und gegebenenfalls letzter Anteile von Chloroform gründlich mit Petroläther gewaschen. Derartig isolierte Präparate sind im Gegensatz zu der leicht auftretenden filmigen Form in Äther spielend löslich. Durch Fällung der ätherischen Lösung mit Petroläther läßt sich das Lichenin gegebenenfalls in ein noch lockereres, feines (übrigens schneeweißes) Pulver überführen. Gemäß Tafel 3 schwankt der Methoxylgehalt²⁹⁾ von Methylierung zu Methylierung zwischen 41 und 43%.

Tafel 3. Methylierung von Lichenin.

Nr.	g Lichenin (15 % H ₂ O)	g Methyl- Lichenin	Methoxyl ²⁹⁾ %	Asche %	Ausbeute ²⁹⁾ % d. Th.
1	10.0	7.6	41.3	0.4	74.9
2	10.0	7.4	43.4	0.4	71.5
3	10.0	8.5	43.1	0.1	86.0
4	10.0	6.7	42.8	0.1	65.7 ³¹⁾
5	10.0	5.2	41.5	0.2	51.9
6	10.0	4.8	42.5	0.4	47.5 ³¹⁾

Hochmethylierung. 2.5 g Methyllichenin (41.9% OCH₃) werden in 40 ccm Jodmethyl mit 20 g Silberoxyd am Rückflußkühler gekocht³²⁾. Den Silbersalzen wird das Methyllichenin durch wiederholtes längeres Schütteln auf der Maschine mit Äther (je 100 ccm) entzogen. Jodmethyl- und Äther-Rückstand werden scharf getrocknet und die Methylierung wie angegeben noch 3-mal wiederholt. Bei der letzten Methylierung wird die äther. Lösung auf 50 ccm eingengt und das Methyllichenin mit Petroläther gefällt. Das schneeweiße sehr lockre pulvrige Methylierungsprodukt ist praktisch aschefrei.

Tafel 4. Hochmethylierung.

Methylierung	g	% OCH ₃	Methylierung	g	% OCH ₃
	2.5	41.95			
1	2.4	43.57	3	2.2	45.15
2	2.3	44.67	4	2.1	45.54

²⁹⁾ Bestimmt nach F. Neumann, B. 70, 734 [1937].

³⁰⁾ Bezogen auf absolut trockne und aschefreie Substanz.

³¹⁾ Diese ungünstige Ausbeute ist durch Übersäumen während der Methylierung verursacht gewesen.

³²⁾ Auf völlige Wasserfreiheit und Analysenreinheit der Reagenzien ist besonderer Wert zu legen.

Endgruppenbestimmung.

Wegen des verhältnismäßig hohen Endgruppengehalts genügt die Verwendung von 10 g Methyllichenin, wobei auch auf die Abtrennung der Hauptmenge Trimethylglucose durch Krystallisation verzichtet werden kann.

Hydrolyse. Methyllichenin wird in der 10-fachen Menge konz. Salzsäure gelöst, die Lösung mit Chlorwasserstoff bei -20° gesättigt, nach 6-tägigem Stehenlassen im Eisschrank Chlorwasserstoff unter vermindertem Druck möglichst weitgehend entfernt und die wäßr. Lösung mit Bariumcarbonat neutralisiert. Nach Zusatz von etwa der 5-fachen Menge Aceton wird filtriert, im Vak. eingeeengt, durch Aceton der Rest an Bariumsalz gefällt, das Filtrat eingedampft und schließlich über Phosphorpentoxyd getrocknet.

Glucosidifizierung. Die Spaltzuckermischung wird mit der 10-fachen Menge 1-proz. Methanol-Salzsäure 18 Stdn. am Rückflußkühler gekocht. Nach dem Neutralisieren mit Silbercarbonat und Filtrieren wird unter vermindertem Druck vorsichtig eingedampft und getrocknet. Zur Abtrennung der mindermethylierten Zucker werden etwa zwei Drittel des Rückstandes im Hochvakuum ($5 \cdot 10^{-3}$) abdestilliert. Das Destillat enthält die gesamte Menge an Tetramethyl-methylglucosid.

Phosphorylierung. Das Destillat wird genau nach der Vorschrift nach Hess und Neumann phosphoryliert und nach der Reaktion zur Zerstörung des überschüssigen Oxychlorids mit 100 ccm Wasser versetzt, mit Bariumhydroxyd bis zur schwach alkalischen Reaktion neutralisiert, gewaschen und mit Kohlensäure gesättigt. Die durch Bariumsalze getrübbte Lösung wird im Vak. ($40-45^{\circ}$) eingedampft, wobei die Flüssigkeit durch einen Tropftrichter nachgefüllt wird.

Abtrennung des Tetramethyl-methylglucosids. Der trockne Rückstand wird mit trockenem Aceton durch Schütteln extrahiert von Bariumsalzen abfiltriert, das Aceton bis auf einen kleinen Rest abgedampft und die Hauptmenge von organischen Bariumsalzen durch absol. Äther gefällt. Nach Abdunsten der Ätherlösung bis auf ein kleines Volumen wird der Rest der Bariumsalze durch Petroläther gefällt und das Filtrat auf etwa 20 ccm eingeeengt.

Um die unvermeidlichen Verluste an Tetramethyl-methylglucosid beim Abdampfen der Lösungsmittel reproduzierbar zu gestalten, wurden die Flüssigkeitsmengen stets gleich gehalten: Pyridin-Wasser 160 ccm, Aceton 300 ccm, Äther 300 ccm und Petroläther 150 ccm.

Destillation. Nach Überführung des Petrolätherrückstandes in das von Hess und Neumann angegebene Mikrokölbchen wird in wenig Benzol gelöst und zur Zerstörung des noch vorhandenen Trimethyl-methylglucosids 1 Stde. über frischen Na-Späncchen gekocht. Nach Abdestillieren des Benzols wird im Hochvakuum destilliert und die Behandlung mit Benzol-Natrium bis zum konstanten Destillationsverlust gemäß Tafel 5 wiederholt.

In Tafel 5 ist zur Ermittlung der Verluste an Tetramethyl-methylglucosid bei der Endgruppenbestimmung das Ergebnis für einen Trennungsversuch einer künstlichen Mischung aus Trimethylglucose und Tetramethylglucose angegeben, wobei sämtliche Operationen wie bei der Endgruppenbestimmung durchgeführt wurden. Das Mischungsverhältnis in der Kunstmischung betrug 1:144.

Tafel 5. Destillation des Endgruppenpräparates aus Methyllichenin und eines Modellversuches (Kunstmischung).

Nr.	Versuch 1 mg	Verlust mg	Versuch 2 mg	Verlust mg	Modellvers. mg	Verlust mg
1	56.2		54.2		37.6	
2	47.2	9.0	42.8	11.4	28.6	9.0
3	46.0	1.2	40.8	2.0	27.4	1.2
4	44.5	1.5	39.6	1.2	26.1	1.3
5	43.9	0.6	38.7	0.9	24.9	1.2
6	43.2	0.7	37.6	1.1	23.7	1.2
7	42.6	0.6	36.6	1.0		
	konstant. Verlust ~ 0.6			~ 1.0		~ 1.2
Tetramethyl-methylglucosid . . .			46.8 mg	43.6 mg		30.9 mg
% OCH ₃ (ber. 62.0)			60.6	61.0		60.5

In Tafel 6 sind die Einzelheiten der Trennungsversuche zusammengestellt.

Tafel 6. Versuchsergebnisse bei der Isolierung von Tetramethyl-methylglucosid.

Vers.	Methyl- lichenin g	Chloro- form [η]	OCH ₃ %	Spalt- zucker g	Glucoside g	Abdest. Glucoside g	Tetra gef. mg	Tetra korr. *) mg	End- gruppe %	Poly- meri- sat.- grad
1	9.8	1.29	42.9	9.8	10.0	6.8	46.8	83.5	0.88	114
2	10.0	1.27	42.2	9.9	9.9	6.4	43.6	77.8	0.86	116
3	Kunstmischg. 7.55			7.1	7.1	4.5	30.9	55.5		

*) Auf Grund des bei der Kunstmischung bestimmten Gesamtverlustes von 44 %.

Hydrolyse des permethylierten Lichenins.

Das permethylierte Lichenin wurde wie oben hydrolysiert und glucosidifiziert. Aus 2.10 g Trimethyllichenin (45.54% OCH₃) ergaben sich 2.10 g Spaltzuckergemisch und daraus 2.05 g Methylglucoside. Das Glucosidgemisch wurde in zwei Fraktionen zerlegt (Badtemperatur nicht über 83°, 10⁻⁴ mm) und zeigte dann die in Tafel 7 zusammengestellten Eigenschaften.

Tafel 7. Fraktionierung des Glucosidgemisches aus permethyliertem Lichenin.

Fraktion	g	OCH ₃ %	[α] _D Wasser	n_D^{20}
1	1.40	52.62	+48.5	1.45613
2	0.60	52.52	+70.0	1.45758
Kolbenrückstand	8 mg			
Trimethyl-methylglucosid		52.54	+70.0	1.45750

Die Eigenschaften von Fraktion 2 stimmen genau mit denen von Trimethyl-methylglucosid überein.

Erwartungsgemäß enthält Fraktion 1 neben Trimethyl-methylglucosid die der Endgruppe entsprechende Menge Tetramethyl-methylglucosid. Bei einem Drehwert von $+48.5^\circ$ würde der Brechungsindex für reines Trimethyl-methylglucosid 1.45650 sein. Auf Grund der Endgruppenbestimmung ist in der ersten Fraktion von 1.40 g 0.0222 g Tetramethyl-methylglucosid vorhanden. Eine quantitative Nachprüfung durch die angegebenen Konstanten läßt sich infolge der unbekannten Lage des α, β -Gleichgewichts nicht durchführen, sondern nur feststellen, daß die Abweichung des Brechungsindex der Fraktion 1 von dem des reinen Trimethyl-methylglucosids der Richtung nach mit der Erwartung übereinstimmt.

Viscositätsmessungen.

Konzentrationsabhängigkeit. Die Viscositätsmessungen wurden an Lösungen von Methyllichenin (41.0% OCH_3) in Dioxan im Viscosimeter von Ubbelohde mit hängendem Niveau durchgeführt. Aus Tafel 8 geht hervor, daß Methyllichenin ebenso wie Methylstärke und Methylcellulose dem 8. Potenzgesetz befriedigend folgt³³⁾.

Tafel 8. Konzentrationsabhängigkeit von Methyllichenin in Dioxan.

Konzentrat. g/100 g Lösg.	η_{rel}	$[\eta]$	Konzentrat. g/100 g Lösg.	η_{rel}	$[\eta]$
1.048	2.416	0.897	0.2075	1.206	0.915
0.623	1.721	0.902	0.1109	1.103	0.892
0.354	1.371	0.907	0.0585	1.054	0.902
					$[\eta] = 0.902 \pm 0.013$

Bestimmung der Strukturviscosität. Es wurde eine Lösung von Methyllichenin (41.0% OCH_3) in Dioxan bei 20° und einer Konzentration von 1.048 g/100 g Lösung gemessen. Der Meßbereich betrug 1.80 bis 11320 Dyn/qcm Schubspannung. Die Messungen wurden in folgenden Viscosimetern vorgenommen: a) Tsuda-Viscosimeter ($R = 0.311$ mm, $L = 173$ mm), b) Glasviscosimeter (Kap. 0, $R = 0.151$ mm, $L = 120$ mm), c) Hochdruckviscosimeter (Kap. 00, $R = 0.104$ mm, $L = 120$ mm und Kap. 000, $R = 0.069$ mm, $L = 120$ mm).

Die Messungen sind in Abbild. 1 im Vergleich mit Trimethylcellulose in Chloroform und Trimethylstärke in Chloroform wiedergegeben. Man ersieht, daß die strukturviscosimetrischen Verhältnisse von Methyllichenin und Methylcellulose sehr ähnlich sind, während Methylstärke etwa 100-mal schubspannungsempfindlicher ist.

³³⁾ Vergl. dazu K. Hess u. W. Philippoff, B. 71, 846 [1938].

Tafel 9. Messungen mit Tsudaviscosimeter.

p mm WS	t sek.	p x t	η_{rel}	Schubsp.
2.032	71.6	145.2	2.43	1.80
3.700	38.1	141.0	2.36	3.28
6.408	22.8	146.0	2.45	5.70
9.128	15.6	143.0	2.39	8.15
15.018	9.6	144.2	2.42	13.45
20.193	7.00	142.5	2.39	17.90
29.027	4.95	144.0	2.41	26.00

Eichung mit Dioxan: $p \times t = 59.7$.

Tafel 10. Messungen mit Glasviscosimeter Kap. 0.

p cm Hg	t sek.	Schubsp.	Geschw.-Gefäll. D	η_{rel}
3.60	15.2	30.1	975	2.36
5.75	10.2	48.0	1450	2.54
8.80	6.40	73.5	2320	2.43
10.90	5.60	91.0	2650	2.64
12.15	4.80	101.5	3100	2.52
16.10	3.52	134.0	4200	2.45
24.10	2.40	201	6150	2.51
30.0	1.92	250	7700	2.50
43.5	1.36	363	10900	2.56
59.1	1.00	495	14800	2.57

Tafel 11. Messungen mit Hochdruckviscosimeter Kap. 00.

p At.	t sek.	Schubsp.	Geschw.-Gefälle	η_{rel}
1.5	2.24	640	20000	2.46
2.0	1.68	852	26600	2.47
2.5	1.36	1065	33000	2.48
3.0	1.08	1278	41300	2.38
3.8	0.84	1620	53000	2.35
4.5	0.68	1920	65500	2.25

Messungen mit Kap. 000.

2.0	8.40	566	18200	2.38
3.0	5.45	850	28100	2.33
4.0	4.12	1132	37100	2.34
5.0	3.20	1416	47900	2.27
7.0	2.31	1982	66100	2.30
11.0	1.48	3114	103300	2.32
15.0	1.08	4250	142000	2.30
20	0.87	5660	196000	2.22
30	0.50	8500	306000	2.13
40	0.35	11320	437000	1.99