

schöne Nadeln vom Smp. 82—84°, leicht löslich in organischen Lösungsmitteln.

$C_{15}H_{15}O_3NS$ Ber. N 4,85 Gef. N 5,08%

Additionsprodukt des Benzoessäure-m-sulfochlorids (II) an Pyridin (XII).

4,4 g Benzoessäure-m-sulfochlorid (III) werden langsam unter Rühren in 30 cm³ eiskühletes, wasserfreies Pyridin eingetragen (Feuchtigkeitsausschluss). Nach längerem Rühren oder rascher beim Erhitzen auf 70° scheiden sich aus der Lösung gelbe Krystalle des Additionsproduktes (XII) ab. Nach zweistündigem Köhlen mit Eis saugt man ab, wäscht mit absolutem Äther und trocknet im Vakuum über Kaliumhydroxyd und Phosphorperoxyd. Die Substanz lässt sich durch Umkrystallisieren in gut ausgebildeten gelben Krystallen erhalten, ist aber äusserst empfindlich und zeigt daher nur einen unscharfen Schmelzpunkt (120—130°).

Dieselbe Verbindung wird aus m-Sulfo-benzoylchlorid und Pyridin erhalten.

Das Additionsprodukt wurde unter verschiedenen Bedingungen mit ätherischem Anilin umgesetzt, wobei sich stets das Anilinsalz des m-Sulfo-benzanilids (VII) bildet, während das isomere Sulfanilid (VIII) nicht beobachtet wird. In kleiner Menge entsteht letzteres jedoch als Nebenprodukt, wenn man Benzoessäure-m-sulfochlorid (II) und Pyridin in äquivalenten Mengen in Äther zusammenbringt und, ohne erhitzt zu haben, die ausfallenden Krystalle mit Anilin umsetzt. Offenbar tritt bei der starken Verdünnung in der Kälte nur eine unvollständige Umlagerung ein.

Zerlegt man das Additionsprodukt (XII) in ätherischer Suspension durch zweistündiges Einleiten von trockenem Chlorwasserstoff, so scheiden sich Krystalle ab, die bei weiterem Einleiten schmelzen, beim Stehen in der Kälte aber wieder erstarren. Man dekantiert rasch vom Pyridin-hydrochlorid und verdampft den Äther, dessen sirupöser Rückstand im Vakuum über Kaliumhydroxyd und Phosphorperoxyd erstarrt, Smp. 55°. Es liegt ein teilweise zersetztes m-Sulfo-benzoylchlorid (Smp. 45°) vor, zumal die Umsetzung mit Anilin zum Anilinsalz des m-Sulfo-benzanilid führt.

Universität Basel, Anstalt für Organische Chemie.

25. Recherches sur l'amidon XI.

Sur la dextroine résiduelle de l'amidon de maïs (érythrogranulose)

par Kurt H. Meyer, M. Wertheim et P. Bernfeld.

(15. II. 41.)

Lors de la dégradation par la β -amylase de l'amylopectine, il reste, comme l'on sait, une dextroine résiduelle de poids moléculaire élevé, l'« érythrogranulose » de *Wijsman*. Dans l'espoir d'obtenir des renseignements sur l'action de la β -amylase, nous avons examiné de plus près la dextroine qui résulte de la dégradation par cet enzyme de l'amidon de maïs, notamment en déterminant la teneur en groupes terminaux (restes de glucose avec les hydroxyles 2, 3, 4, 6 libres).

Dans la littérature, on ne trouve pas de données concernant les groupes terminaux de la dextroine résiduelle obtenue à partir de

l'amidon natif de maïs. Par contre, *Haworth* et collaborateurs¹⁾ ont dosé les groupes terminaux de dextrines résiduelles obtenues à partir de l'amidon de pomme de terre dégradé. Ils ont trouvé 7,1 % de groupes terminaux dans une dextrine obtenue en partant d'un amidon de pomme de terre dégradé par l'action de l'acide chlorhydrique alcoolique, et 9,8 à 10,4 % de groupes terminaux dans une dextrine préparée à partir d'un amidon soluble du commerce.

Nous avons employé une amylopectine de maïs, obtenue par extraction prudente de l'amylose de l'amidon de maïs. D'après nos expériences antérieures, cette amylopectine contient 3,7 % de groupes terminaux; elle a été solubilisée à l'aide d'hydrate de chloral, puis, en solution aqueuse, soumise à l'action de la β -amylase. 59 à 60 % de l'hydrate de carbone furent ainsi saccharifiés. La dextrine résiduelle (40 à 41 %) a été méthylée; ensuite, les groupes terminaux ont été dosés d'après la méthode de *Hirst* et *Young*²⁾ en suivant exactement les indications données pour l'amylopectine de maïs³⁾: puisqu'il est possible que les résultats des méthodes soient entachés d'une erreur systématique, on ne peut comparer que les résultats obtenus par l'application d'une seule et même méthode.

Cette dextrine résiduelle contient 8,9 % de groupes terminaux, donc 2,4 fois la teneur de la substance primitive. D'autre part, la quantité de cette dernière était 2,5 fois celle de la dextrine obtenue: il en résulte que l'on retrouve tous les groupes terminaux de l'amylopectine dans la dextrine résiduelle. On sait que l'enzyme attaque les groupes terminaux de l'amylopectine; chaque rameau est progressivement dégradé avec formation de maltose jusqu'à ce qu'une bifurcation de la chaîne arrête l'action de l'enzyme. Suivant le nombre pair ou impair de résidus glucosiques des rameaux, on obtiendra les groupements indiqués ci-dessous aux bifurcations (v. page suivant).

Si la β -amylase agit comme une α -maltosidase, on peut admettre que les résidus maltosiques des arrangements 1, 2 et 3 peuvent être scindés aux endroits marqués d'un astérisque dans les schémas de la p. 214. Mais alors le nombre de groupes terminaux doit diminuer, ce qui est en contradiction avec les données expérimentales. Il faut donc conclure que les groupements indiqués sont résistants à l'action de la β -amylase. La vitesse de libération du maltose d'un α -maltoside — et les groupements mentionnés doivent être considérés comme tels — dépend essentiellement de la nature de l'« aglucon ». Ainsi les α -arylmaltosides ne sont pas attaqués par la β -amylase (*Helferich*⁴⁾). Les liaisons entre le maltose et les restes des schémas

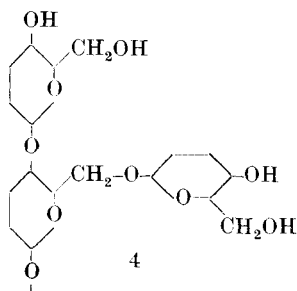
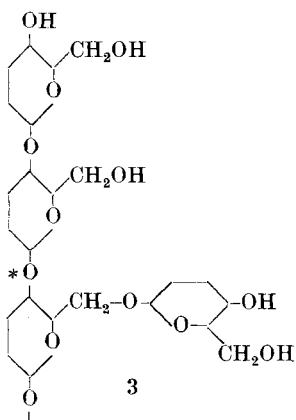
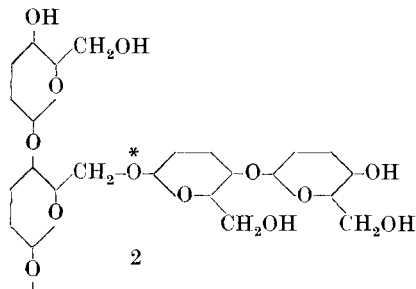
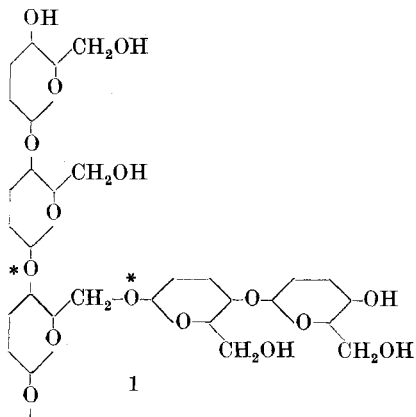
¹⁾ *W. N. Haworth et E. Hirst, Soc. 1935, 1299. — W. N. Haworth, E. Hirst et S. Peat, Soc. 1937, 791.*

²⁾ *E. Hirst et G. T. Young, Soc. 1939, 1471.*

³⁾ *Helv. 23, 865 (1940).*

⁴⁾ *B. Helferich et S. R. Petersen, B. 68, 790 (1935).*

1, 2 et 3 paraissent toutes résistantes également à l'action de la β -amylase. Il ne nous semble du reste pas exclu que la très faible action de la β -amylase sur la dextrine résiduelle, action qui est environ 270 000 fois plus lente que l'action sur l'amidon, est due précisément à la libération de maltose (ou glucose) de l'un ou l'autre de ces groupements.



Partie expérimentale.

La préparation d'amylopectine soluble et sa dégradation.

Simplifiant le procédé décrit antérieurement, nous avons suspendu 160 gr. d'amidon natif de maïs dans 500 cm³ d'eau froide; cette suspension a été versée en agitant lentement dans 7,5 litres d'eau de 80°. On a continué à agiter pendant une heure à 80° et on a laissé reposer pendant la nuit. Ensuite, la liqueur trouble surnageante a été décantée et l'empois dilué à 8 litres avec de l'eau de 80°. On a agité de nouveau pendant une heure à 80°, puis laissé reposer le liquide pendant une nuit. Après décantation de la liqueur surnageante, on a obtenu 3,2 litres d'empois d'amylopectine contenant 78,2% de la substance primitive, soit 125 gr. d'amylopectine sèche. Dans 800 cm³ de cet empois, on a dissous à froid 400 gr. d'hydrate de chloral, puis chauffé pendant 10 minutes à

80°. Cette solution a été introduite dans 2 litres d'acétone d'après la méthode décrite précédemment¹⁾, et le précipité obtenu extrait par l'acétone et par l'éther dans un appareil de Soxhlet.

L'amylopectine imbibée d'éther a été dissoute dans 2 litres d'eau bouillante, filtrée à travers un filtre en verre fritté (Iéna 17G3) et, après refroidissement à 35°, additionnée de 15 cm³ de soude caustique 2-n. On a neutralisé avec 30 cm³ d'acide chlorhydrique 1-n. et ajouté immédiatement 250 cm³ d'une solution tamponnée de β -amylase²⁾ (activité: 0,2 cm³ donnent 20 mgr. de maltose hydraté). On a maintenu la température à 35° pendant 15 heures, puis ajouté une nouvelle portion de 250 cm³ de la solution de l'enzyme. Après un nouveau repos de 15 heures à 35°, l'enzyme est désactivé par chauffage à 90°.

Dans trois autres essais, le reste de l'amylopectine a été traité d'une manière analogue. De cette façon nous avons préparé 10,1 litres d'un liquide qui se colorait en rouge-violacé par l'adjonction d'iode. Une prise de 5 cm³ de ce liquide, après hydrolyse par l'acide chlorhydrique, consomme 6,20 cm³ d'iode 0,1-n., ce qui correspond à 55,8 mgr. de glucose (méthode de Willstätter et Schudel). La solution contenait donc 1,115% d'hydrate de carbone ($C_6H_{12}O_6$)_x. Une autre prise de 10 cm³, mais sans hydrolyse préalable, consommait 3,75 cm³ d'iode 0,1-n., ce qui correspond à 67,5 mgr. d'hydrate de maltose ou à une teneur de 0,675% de maltose de la solution. De ces chiffres, on peut déduire que le taux de dégradation de l'amylopectine par la β -amylase est de 60,5%; la formation de la dextrine résiduelle correspond donc aux 39,5% de l'amylopectine ou à 30,5% de l'amidon.

D'après les expériences de Hanes³⁾, dont nous pouvons confirmer les résultats, de petites quantités de glucose prennent naissance à côté du maltose. La quantité de maltose est donc un peu plus faible et la proportion de dextrine un peu plus forte: on peut l'estimer aux 40 à 41% de l'amylopectine.

Isolement de la dextrine résiduelle.

Par évaporation sous 12 mm. et à 35°, le volume de la solution a été réduit à 2 litres. L'adjonction de 2,5 litres d'alcool à 90% a provoqué la précipitation d'une masse gélatineuse. Ce produit a été trituré avec de l'acétone; il s'est alors transformé en grumeaux que l'on a séchés.

Le produit a été redissous dans 900 cm³ d'eau et la solution trouble a été soumise à l'électrodialyse. Après avoir changé l'eau des cellules de nombreuses fois, l'intensité du courant est tombée à 15 mA. sous 180 V. L'électrodialyse a été poursuivie ensuite sous 20 à 30 V; un précipité floconneux ne tardait pas à se déposer au fond de la cellule, de sorte que l'on pouvait procéder à la décantation par siphonnage du liquide sur-nageant. Le précipité redispersé à plusieurs reprises dans de l'eau fraîche s'est déposé chaque fois de nouveau sous l'influence du courant et il a été extrait de cette manière. À la fin des opérations, la dispersion du précipité ne donnait qu'une faible coloration bleu-violacée avec l'iode et ne contenait par conséquent, à côté des protéines, qu'une faible quantité d'hydrates de carbone.

Les solutions claires décantées ont été réunies et leur volume a été réduit à 240 cm³ par évaporation dans le vide. Cette liqueur a été traitée par 550 cm³ d'alcool à 95%; le précipité, lavé à plusieurs reprises avec de l'alcool et ensuite par l'éther, et finalement séché à l'air, pesait 9 gr. Cette substance est facilement soluble dans l'eau; sa solution se colore en rouge-brun avec l'iode. Sa rotation spécifique dans l'eau a été trouvée $[\alpha]_D^{20} = +192^\circ$ (calculé sur $C_6H_{12}O_6$).

Méthylation. 5 gr. de dextrine résiduelle ont été dissous dans 100 cm³ d'eau; on a chassé l'air de cette solution par un courant d'hydrogène, et procédé à la méthylation entre 45 à 55° à l'aide de soude caustique et de sulfate de méthyle en suivant la méthode

¹⁾ Helv. **23**, 881 (1940).

²⁾ Helv. **23**, 1472 (1940).

³⁾ C. S. Hanes, Can. J. Res. [B] **13**, 185 (1935).

décrite antérieurement¹⁾. Le produit obtenu a été traité à 8 reprises par 300 cm³ d'acétone, 30 cm³ d'eau et 80 cm³ de sulfate de méthyle. Par évaporation de l'acétone, l'éther méthylique de la dextrine résiduelle se rassemble chaque fois à la surface du liquide. Le produit obtenu finalement a été dissous dans l'eau, soumis à l'électrodialyse, évaporé à sec et desséché dans le vide, dissous dans du benzène et précipité de cette solution par la ligroïne. Cette dernière opération a pour but d'éliminer l'oxyde de mésityle et des substances analogues. Le produit, qui se présente d'abord sous une forme gélatineuse, devient parfaitement pulvérulent après trois lavages à la ligroïne; il pèse après dessiccation dans le vide, 4 gr. Sa teneur en méthoxyle est de 41,0% et il ne laisse aucun résidu à la calcination. Il est soluble dans le benzène, l'éther, l'eau froide, le chloroforme et l'acétone, mais insoluble dans la ligroïne, l'éther de pétrole, l'eau bouillante. Sa solution aqueuse donne une coloration violet-brunâtre avec l'iode. Les films préparés avec ce produit sont encore plus friables que ceux de l'amylopectine. La viscosité dans le chloroforme à 25,5° a été trouvée (pour $c = 1$ g/100 cm³) $\eta_{rel} = 1,085$. La rotation est de $[\alpha]_D^{20} = 182^\circ$ dans l'eau ($c = 1\%$).

Hydrolyse. Une prise de 3 gr. du produit a été chauffée pendant 24 heures au bain-marie en présence de 100 cm³ d'acide chlorhydrique à 5% et de 50 cm³ d'acide acétique glacial. Ensuite, on a neutralisé avec 20 gr. de carbonate de baryum, évaporé à sec dans le vide entre 40 à 50° et extrait le résidu par le chloroforme pendant 12 heures.

Glucosidification. Les sucres méthylés ont été chauffés à reflux au bain-marie en présence de 100 cm³ d'une solution à 1% d'acide chlorhydrique dans l'alcool méthylique anhydre. Après 12 heures d'ébullition, on a neutralisé au carbonate d'argent, filtré, chassé les dissolvants, puis repris le résidu sec dans un peu d'éther. Après avoir chassé l'éther, on a distillé dans le vide poussé.

Distillation du méthylglucoside sous une pression de 0,01 mm. de mercure.

Fraction	Durée (heures)	Temp. du bain	Dist. poids gr.	n_D^{16}	Tétraméthyl- glucose		$[\alpha]_D^{20}$
					%	poids	
1	$\frac{1}{2}$	98—102	0,130	1,4468	82	0,107	70,5
2	1	100—105	0,149	1,4500	56	0,085	62
3	1	112—115	0,288	1,4564	5	0,014	33,4
4	1	112—115	0,149	1,4601			50
5	$\frac{1}{2}$	115—120	0,252	1,4600			
6	$\frac{1}{2}$	115—120	0,342	1,4610			
7	2	120—130	0,491	1,4616			
8	4	130—170	0,499				
Résidu			0,255				
			2,555			0,206	

On ajoute aux 206 mgr. de tétraméthyl-glucose 10% pour tenir compte des pertes pendant la distillation. Il en résulte une teneur en groupes terminaux d'environ 8,9% rapportée à la masse totale.

Genève, Laboratoires de Chimie inorganique et
organique de l'Université.

¹⁾ Helv. **23**, 869 (1940).