

Mittheilungen.

186. H. Kiliani und F. Koehler: Ueber die Einwirkung von Kalkhydrat auf *l*-Arabinose.

[Aus der medicinischen Abtheilung des Universitätslaboratoriums Freiburg i/B.]

(Eingegangen am 7. März 1904.)

Eine Mittheilung von Hauers und Tollens¹⁾ und besonders die kürzlich erschienene interessante Abhandlung von E. Buchner und Meisenheimer²⁾, erstere die Darstellung von *l*-Arabinose, letztere die Theorie des Zerfalls der Zuckermoleküle berührend, veranlassen uns zur Veröffentlichung der Erfahrungen, welche wir bei der Darstellung von *l*-Arabinose und bei der Zersetzung derselben durch Kalkhydrat gemacht haben, obwohl wir in letzterer Beziehung zuvor eine experimentelle Vervollständigung gewünscht hätten.

Darstellung von *l*-Arabinose. Hauers und Tollens haben die Hydrolyse des Kirschgummi bei kleinen Proben genau studirt, und sie schliessen aus ihren Beobachtungen, dass man behufs Darstellung von Arabinose »bei 1 kg Kirschgummi, 500 g concentrirte Schwefelsäure, 7.5 L Wasser und 10-stündigem Kochen im Wasserbade gute Resultate erhalten wird« (l. c. S. 3309). Demnach sollten 8 Theile 6.2-procentiger Schwefelsäure zur Anwendung kommen. Uns hat sich nun (schon im Sommer 1902) folgendes Verfahren bestens bewährt:

Man bringt 3 Theile 2-procentiger Schwefelsäure in geräumige Jenaer Kolben, fügt hierzu einen Theil feingepulverten Kirschgummi, schüttelt um und lässt behufs gleichmässigen Aufweichens über Nacht stehen. Dann werden die Kolben in kochendem Wasser 10 Stunden erhitzt; zur Erzielung homogener Mischung genügt es, wenn nach etwa 2—3-stündigem Erhitzen die Kolben ein Mal umgeschüttelt werden. Schliesslich wird die entstandene Lösung in grosse, tarirte Schalen gegossen und unter kräftigem Umrühren mit heiss gesättigtem Barytwasser versetzt, bis sie nur noch ganz schwach sauer reagirt und keine Schwefelsäure mehr enthält. Dann verdampft man, ohne vorherige Filtration, auf dem Wasserbade bis zum doppelten Gewicht des verwendeten Gummi, rührt die noch warme, concentrirte Mischung direct in den Schalen mit 1.5 Theilen³⁾ 95-procentigem Alkohol kräftig durch und lässt unter Schutz vor Verdunstung 12—24 Stunden stehen. Nun wird die klar gewordene Lösung von dem gummiartigen Rückstand abgegossen und durch Verdampfung (wenn möglich im Vacuumapparat) genügend concentrirt. Nach völligem Erkalten erstarrt in kurzer Zeit die ganze

¹⁾ Diese Berichte 36, 3306 [1903]. ²⁾ Diese Berichte 37, 417 [1904].

³⁾ Wieder bezogen auf den Gummi.

Masse zum Krystallbrei, der nach Absaugen der Mutterlauge und Nachwaschen mit Alkohol vom spec. Gewicht 0.82—0.825 direct ein völlig weisses Präparat liefert, dessen Menge sich auf ca. 10 pCt. des angewandten Kirschgummis beläuft. Die Mutterlauge sowohl wie der durch Alkohol ausgefällte Gummi enthalten aber noch beträchtliche Mengen des Zuckers. Aus letzterem werden nochmals nahezu 5 pCt. Zucker gewonnen dadurch, dass der Gummi durch Zusatz von 6—7 pCt. seines Gewichtes an Wasser und Erwärmen wieder in Syrup verwandelt wird und dieser durch eine zweite Behandlung mit Alkohol in der oben geschilderten Weise extrahirt wird. Die Mutterlauge werden concentrirt und liefern noch eine Krystallisation, nach deren Beseitigung sie dann zum dünnen Syrup verdampft und durch Schütteln mit Alkohol von den noch gelösten gummiartigen Bestandtheilen zum grössten Theil befreit werden. Beim Einengen der alkoholischen Lösung erhält man die darin noch enthaltene Arabinose. Aus 9.4 kg Kirschgummi wurden so 1980 g Zucker dargestellt, von dem nur etwa 250 g gelb bis grau gefärbt waren. Die Ausbeute entspricht also 21 pCt.; sie liesse sich etwa noch um 1 bis 2 pCt. vermehren, wenn man die Gummirückstände ein drittes Mal mit Alkohol schütteln würde.

Zur Reinigung kleinerer Mengen von roher *l*-Arabinose bedient man sich zweckmässig einer Modification von Kiliani's Vorschrift¹⁾: 1 Theil Zucker wird in 0.4 Theilen Wasser auf dem Wasserbade gelöst und darauf werden 3 Theile heissen 95-procentigen Alkohols zugesetzt. Wenn nöthig, wird die klare Lösung mit Blutkohle aufgeköcht und heiss filtrirt. Beim langsamen Erkalten der Flüssigkeiten scheidet sich der Zucker in schneeweissen Krystallkrusten aus.

Das Umkrystallisiren grösserer Mengen bewerkstelligt man leicht in folgender Weise:

Der Rohzucker wird in einer Schale mit $\frac{1}{3}$ seines Gewichtes Wasser versetzt und auf dem Wasserbade zum Schmelzen gebracht. Den Syrup lässt man unter Umrühren erkalten und zur Vollendung der Krystallisation mindestens 24 Stunden (besser 2 Tage) stehen. Hierauf zerdrückt man die Krystallmasse gut, nutschts so weit als möglich ab, bringt die Krystalle dann in eine tarirte Reibschale und verreibt sie mit wenig 85-procentigem Alkohol ($\frac{1}{3}$ ihres Gewichtes). Durch abermaliges Abnutschen und Nachwaschen mit 90-procentigem Alkohol wird die *l*-Arabinose völlig weiss und rein erhalten.

Dass wirklich reine Arabinose vorlag, ergab sich aus dem Drehungsvermögen (gefunden + 105.25⁰) und aus der Oxydation durch verdünnte Salpetersäure, wobei keine Spur von Schleimsäure entstand.

Unsere Methode liefert also ganz befriedigende Ausbeuten von reinem Zucker trotz Anwendung einer wesentlich schwächeren Säure, wogegen eine stärkere Säure den Gummi zwar vollständiger hydrolysiren, gerade dadurch aber die Entstehung eines Zucker-Gemenges bedingen dürfte. Gegenüber der älteren Vorschrift bedeutet

¹⁾ Diese Berichte 19, 3030 [1886].

das neue Verfahren eine ganz wesentliche Vereinfachung, und die Anwendung von Barytwasser (statt Carbonat) zur Neutralisation kann bei vorsichtigem Arbeiten ohne jeden Nachtheil erfolgen.

Einwirkung von Kalkhydrat auf *l*-Arabinose. Hierüber war bei Beginn dieser Untersuchung noch nichts bekannt¹⁾. Wir haben eine Lösung von einem Theil Arabinose in 10 Theilen Wasser mit 0.2 Theilen gebranntem Kalk (nach dessen Ablöschung und Wiedererkaltung) versetzt und in gut verschlossener Flasche bei den ersten Versuchen 4 Wochen, später nur mehr 14 Tage stehen gelassen. In den ersten Tagen ist häufiges Umschütteln nöthig bis zur völligen Auflösung des Kalks. Die Flüssigkeit färbt sich bald stark braunroth; es entsteht aber nur ein minimaler flockiger Niederschlag. Dass die Reaktionsdauer auf 14 Tage beschränkt werden darf, schliessen wir aus zwei Beobachtungen: 1. der Verbrauch von Kalk, soweit er durch Säurebildung bedingt wird, ist nach 14 Tagen der nämliche wie innerhalb 4 Wochen; er wurde ermittelt durch Titration des Kalküberschusses mittels Oxalsäurelösung (bis zum Verschwinden der alkalischen Reaction) und Berechnung aus der Differenz; zur Bildung von neutralen Calciumsalzen waren in beiden Fällen verbraucht worden 0.37 Moleküle gebrannter Kalk auf je 1 Molekül Arabinose; 2. die empirische Zusammensetzung der Rohproducte ist für beide Reaktionszeiten die gleiche.

Behufs Charakterisirung der Reactionsproducte wurde bei den ersten einschlägigen Versuchen die ursprüngliche Reactionsmischung zunächst in der Kälte mit gesättigter Oxalsäurelösung versetzt bis zum Verschwinden der alkalischen Reaction. Dann erst wurde auf dem Wasserbade erwärmt und nun der sämmtliche gelöste Kalk quantitativ durch heissgesättigte Oxalsäurelösung gefällt. Die filtrirte Säurelösung wurde zum dünnen Syrup verdampft, wobei gegen Schluss deutlich das Auftreten saurer Dämpfe (Essigsäure?) zu bemerken war. Der Syrup wurde dann 10 Mal mit dem 1—1½-fachen Volumen Aether geschüttelt, bis durch die letzten Schüttelungen von dem Aether kaum noch etwas aufgenommen wurde. Der Aether hatte hauptsächlich die gebildete Milchsäure aufgenommen, welche durch ihr Zinksalz identificirt wurde.

Als weitere Extractions- und Trennungs-Mittel dienten ein Gemisch von 4 Gewichtstheilen Aether und 1 Theil Alkohol und nachher noch Essigester. Denjenigen Theil des Syrups, welcher auch hiervon

¹⁾ Araki (Zeitschr. für physiol. Chem. 19, 463) und Katsuyama (diese Berichte 35, 669 [1902]) haben nur festgestellt, dass relativ starke Alkalilaugen beim Erhitzen mit Arabinose die Bildung von Milchsäure veranlassen.

nicht aufgenommen wurde, zerlegten wir durch Auflösen in absolutem Alkohol und allmählichen Zusatz von absolutem Aether nochmals in eine Anzahl von Fractionen. Aber in keiner von diesen und eben so wenig in den vorher erhaltenen Aether- etc. -Extracten entstand auch bei monatelangem Aufbewahren der Syrupe über Schwefelsäure irgend eine Krystallisation. Reinigung durch Dialyse oder durch Sättigung mit Magnesiumsulfat, Darstellung der verschiedensten Salze, Hydrazone und Hydrazide, endlich auch die Benzoylirung lieferten ebenfalls kein günstigeres Resultat. Gleichzeitig wurde aber beobachtet, dass nahezu sämtliche Säurefractionen Fehling's Lösung reducirten, und bei der titrimetrischen Bestimmung dieses Reductionsvermögens ergab sich, dass die am stärksten reducirende Fraction noch 8.9 pCt. ihrer Trockensubstanz an Arabinose enthalten müsste, wenn diese die Reduction veranlasst. Wahrscheinlich wird es sich wohl um reducirende Zersetzungsproducte handeln; jedenfalls aber ist zu vermuthen, dass diese mindestens ebenso labiler Natur sind wie der ursprüngliche Zucker, und deshalb musste getrachtet werden, diese reducirenden Stoffe möglichst abzutrennen und bis zur erfolgten Beseitigung derselben die Anwendung höherer Temperaturen thunlichst zu vermeiden. Diese Erwägung führte dazu, die fractionirte Fällung der neutralen Calciumsalze durch Alkohol zur Trennung der Reactionproducte zu benutzen und zunächst direct die Rohfractionen vollständig zu analysiren, um über ihre empirische Zusammensetzung Klarheit zu schaffen und dadurch vielleicht Anhaltspunkte für die weitere Untersuchung zu gewinnen.

Zu diesem Zwecke wurden zwei Portionen *l*-Arabinose. A = 158 g, B = 120 g nach obiger Vorschrift mit Kalk behandelt und A schon nach 14 Tagen, B erst nach vierwöchentlicher Reactionsdauer in ganz gleicher Weise verarbeitet, wie folgt:

Die Lösungen wurden bei gewöhnlicher Temperatur mit heiss gesättigter Oxalsäurelösung genau neutralisirt, durch Absitzenlassen geklärt, durch doppeltes Filter decantirt und dann unter beständigem Umschwenken allmählich mit 1.25 Theilen ihres Gewichtes¹⁾ 95-procentigem Alkohol vermischt. Nach völliger Klärung (12—14 Stunden) wurde die Lösung von dem dunklen, klebrigen Niederschlag I abgegossen, mit 0.75 Theilen Alkohol vermischt: Niederschlag II, und endlich wurde nach gleichem Princip mittelst 1.5 Theilen Alkohol noch ein Niederschlag III erzielt. Die hiervon abgegossene Flüssigkeit wurde in Soxhlet's Vacuumapparat auf ein kleines Volumen gebracht und schliesslich im Vacuum über Schwefelsäure zum Syrup

¹⁾ Die späteren »Theil«-Angaben beziehen sich ebenfalls auf dieses Gewicht.

verdunstet. Eine Portion desselben wurde mit $\frac{1}{3}$ Wasser verdünnt und dann allmählich mit der $2\frac{1}{2}$ -fachen Menge Alkohol vermischt, wodurch eine weitere Fractionirung in Niederschlag IV und eine »letzte Lösung« erfolgte. Sämmtliche Niederschläge liessen sich im Vacuum ohne Schwierigkeit austrocknen, nur bei der »letzten Lösung« war dies unmöglich: man musste eine Probe derselben längere Zeit auf 100° erhitzen, um eine Calciumbestimmung damit ausführen zu können. Die Analysen selbst sind in der Dissertation von Köhler niedergelegt; hier sollen nur die Ergebnisse angeführt werden:

Versuch	Fraction	pCt. C	pCt. H	pCt. Ca ¹⁾	Hieraus berechnet:
A	I	—	—	11.00	
B	I	34.94	5.33	11.44	C _{10.1} H _{18.4} O _{10.5} Ca (1)
»	»	35.28	5.44	10.85	C _{10.8} H _{19.9} O _{11.1} Ca (2)
A	II	35.89	5.88	9.35	C _{12.7} H _{24.9} O ₁₃ Ca (3)
B	II	35.98	5.78	9.77	C _{12.2} H _{23.4} O _{12.4} Ca (4)
A	III	35.41	5.67	9.66	C _{12.2} H _{23.3} O _{12.7} Ca (5)
B	IV	38.56	6.10	8.78	C _{14.6} H _{27.6} O _{13.3} Ca (6)
B	letzte Lösung	—	—	4.48	—

Von den gefundenen Formeln entsprechen (1) und (2) sehr nahe den Werthen für $(C_5H_9O_5)_2Ca$, (3) (4) und (5) aber annähernd jenen für $(C_6H_{11}O_6)_2Ca$, und daraus darf gefolgert werden:

1) Bei der Hauptmenge der Zersetzungsproducte ist das Verhältniss C:O=1:1, wie bei den Saccharinsäuren; während an einer Stelle des Moleküls Oxydation unter Bildung von Carboxyl erfolgt, erleidet eine zweite Stelle eine Reduction zu CH_3 , CH_2 oder CH (abgesehen von etwaigen Umwälzungen in der C-Kette).

2) Die früher ausgesprochene Hypothese²⁾, wonach die Moleküle der Zuckerarten unter dem Einflusse des Kalkhydrats wenigstens theilweise zertrümmert und deren Bruchstücke zum synthetischen Aufbau neuer Moleküle (zum Theil mit verzweigter Kohlenstoffkette) verwendet werden, hat jetzt sehr an Wahrscheinlichkeit gewonnen, da nach obigen Resultaten aus einem Zucker mit C_5 Verbindungen mit C_6 entstehen, und an diesem letzteren Ergebnisse wurde nichts geändert, als die Fraction A III neuerdings in Wasser gelöst und wieder durch Alkohol gefällt wurde; ihre Analyse führte dann zu der Formel $C_{11.6}H_{22.6}O_{11.7}Ca$. Bedenkt man ferner, dass in der Fraction IV die Hauptmenge des milchsauren Calciums (mit einem Calciumgehalte von 18.3 pCt.) steckt, wie wir durch besonderen Versuch festgestellt haben, so erscheint

¹⁾ Die abgewogenen Salzproben sind mit Oxalsäure zu durchtränken (diese Berichte 19, 229 [1886]), um ein allzustarkes Aufblähen bei der Zersetzung zu vermeiden.

²⁾ Kiliaani, diese Berichte 17, 1302 [1884].

der gefundene, relativ geringe Metallgehalt dieser Fraction nur verständlich durch die Beimengung eines grossen Procentsatzes kalkarmer Salze, d. h. durch die Gegenwart von Säuren mit noch mehr als 6 Kohlenstoffatomen im Molekül¹⁾. Die Gesamtmenge der am Ende der Reaction vorhandenen Milchsäure kann auch hier (wie beim Milchzucker) nur eine sehr geringe sein.

Bei der beschriebenen fractionirten Fällung der Calciumsalze durch Alkohol²⁾ befinden sich die reducirenden Stoffe schliesslich fast vollständig in der »letzten Lösung«. Diese muss offenbar benutzt werden, wenn man jene Stoffe näher charakterisiren will.

Vorläufig wurden nur die Calciumsalzfractionen in Angriff genommen und hierbei festgestellt, dass man aus Fraction II ein krystallisirtes Chininsalz und aus III ein krystallinisches Calciumsalz gewinnen kann, deren nähere Untersuchung im Gange ist.

187. H. Kiliani und J. Schweissinger: Ueber Digitogen-säure und ihre Abbauproducte³⁾.

[Aus der medicin. Abtheilung des Universitätslaboratoriums Freiburg i/Br.]

(Eingegangen am 7. März 1904).

Die letzte Publication⁴⁾ über obige Stoffe hatte besonders zwei wichtige Ergebnisse enthalten: 1. die auffallende Leichtigkeit, mit der die Digitogensäure schon durch Erhitzen ihrer neutralen Lösung auf 100° verändert wird; 2. die sichere Bestätigung einer älteren Beobachtung Kiliani's, wonach bei der Einwirkung von concentrirter Salpetersäure auf Digitogensäure eine gut krystallisirende Säure mit 44 Atomen Kohlenstoff im Molekül entsteht. Die letztere Beobachtung

¹⁾ O. Ruff (diese Berichte 35, 2361 [1902]) hat die Vermuthung geäussert, dass »die Bildung dieser Lactone (der Saccharine) in der eigenthümlichen, nach E. Fischer wahrscheinlich glykosidartigen Bindungsart begründet ist, durch welche die Einzelzucker zum Polysaccharid verknüpft sind.« Diese Erklärungsweise könnte zur Zeit nur für das Isosaccharin in Frage kommen, weil dieses bisher allerdings nur aus Maltose und aus Milchzucker, d. h. aus Disacchariden, gewonnen wurde. Alle anderen Saccharine entstehen aus einfachen Hexosen.

²⁾ Die Anwendung der gleichen Methode auf die Producte aus *d*-Glucose und Kalkhydrat führte schon zu der Auffindung eines krystallisirten Calciumsalzes, worüber später berichtet werden soll.

³⁾ Auszug aus der Dissertation von J. Schweissinger, Freiburg i/Br. 1903.

⁴⁾ Kiliani und Merk, diese Berichte 34, 3562 [1901].