

196. Karl Freudenberg und Han's Walpuski: Der Gerbstoff der Edelkastanie. (8. Mitteilung über Gerbstoffe und ähnliche Verbindungen¹⁾.)

[Aus d. Chem. Institut d. Universität Kiel und d. Chem. Labor. d. Bayerischen Akademie d. Wissenschaften zu München.]

(Eingegangen am 4. April 1921.)

Die wenigen Arbeiten, die über den technisch sehr wertvollen Gerbstoff der Edelkastanie (*Castanea vesca*) vorliegen²⁾, haben ergeben, daß er bei der Aufspaltung mit verdünnter Mineralsäure Ellagsäure, Glucose und Spuren von Gallussäure liefert. Von den beiden erstgenannten Bestandteilen sind, wie es scheint, gleichfalls nur geringe Mengen festgestellt worden. Die Gerbstoffe der Blätter, der Rinde und des Holzes lassen keinen Unterschied erkennen.

Unsere Versuche hatten zunächst das Ziel, das Gerbstoffgemisch der Edelkastanie als Ganzes zu erfassen und es zugleich von dem beigemengten Quercetin, das bisher nicht in der Edelkastanie vorgefunden war, von freier Ellagsäure und Gallussäure, von Kohlenhydraten, Salzen und anderen Fremdkörpern zu befreien. Dies gelingt mit einer Ausbeute von mehr als 5% Rohgerbstoff aus dem Holze, woraus geschlossen werden darf, daß kein wesentlicher Anteil des Gerbstoffgemisches entgangen ist.

Daß der Rohgerbstoff tatsächlich ein Gemisch ist, ergibt schon die Hydrolyse mit verdünnter Schwefelsäure. Wiederum wird etwas Quercetin, Gallussäure in Spuren, 2% Zucker — zur Hauptsache Glucose — und 15—20% Ellagsäure gewonnen. Auch für die spurenweise Gegenwart von nicht aromatischen Oxyssäuren sind Anzeichen vorhanden. Alle diese Bestandteile enthält der Rohgerb-

¹⁾ Bisherige Mitteilungen über Gerbstoffe: 1. B. 52, 177 [1919]: Hamameli-Tannin; 2. B. 52, 1238 [1919]: Chebulinsäure; 3. B. 53, 232 [1920]: Chlorogensäure; 4. B. 53, 953 [1920]: Hamameli-Tannin; 5. B. 53, 1416 [1920]: Catechin; 6. B. 53, 1728 [1920]: Chebulinsäure; 7. B. 54, 1204 [1921]; vgl. Z. Ang. 34, 247 [1921]: Catechin.

²⁾ P. Naß, Dissertat., Dorpat 1884; H. Trimble, Journ. Franklin Inst. 132, 303 [1891]; Chem. News 67, 7 [1893]; Th. Curtius und H. Franzen, Sitz.-Ber. d. Heidelberg. Akad. Math.-naturw. Kl. [1916].

stoff in gebundener Form. Durch die Behandlung mit Schwefelsäure gelingt zwar ihre Abtrennung, zugleich erleidet aber der unbekannte Hauptbestandteil des Kastanien-Gerbstoffs eine weitgehende Zersetzung, die an der Abscheidung kohligter Massen erkannt wird.

Daraus ergibt sich als zweite Aufgabe, den erwähnten Hauptbestandteil möglichst unversehrt von den übrigen Beimengungen abzusondern. Versuche, durch fraktionierte Fällung aus Lösungsmitteln oder durch Salzbildung dieses Ziel zu erreichen, blieben erfolglos. Dagegen führt der fermentative Abbau weiter.

Anfänglich wurde Emulsin versucht, aber weder Zucker noch andere Bestandteile wurden abgespalten. Für das gebundene Quercetin ist das nicht verwunderlich; denn es ist nicht ausgeschlossen, daß es in der Form seines Rhamnosids, des Quercitrins, vorliegt. Daß dagegen die gebundene Ellagsäure nicht in Freiheit gesetzt wird, steht einigermaßen im Widerspruch zu der herkömmlichen Annahme, daß die Ellagsäure in Glucosid-Bindung in den Pflanzen vorkomme. Als danach gefunden wurde, daß der Ellagsäure führende Bestandteil auch durch verdünnte Alkalien in der Kälte zerlegt wird, erwies sich der Zweifel an der Glucosid-Bindung der Ellagsäure als berechtigt.

Durch *Aspergillus*-Tannase wird die Hauptmenge der Ellagsäure abgespalten, wenn auch langsam und nur unter Anwendung unverhältnismäßig großer Fermentmengen¹⁾; bei mehrfach wiederholter Einwirkung wird schließlich ein Präparat erhalten, das mit Schwefelsäure weniger als 3% Ellagsäure abgibt. Zugleich wird die in geringer Menge vorhandene, Quercetin führende Beimengung (Quercitrin²⁾) gespalten, was bei der bekannten Vielseitigkeit des als »Tannase« bezeichneten Fermentgemisches nicht wunder nimmt²⁾. Gallussäure tritt nur in Spuren auf, Zucker, zumeist Glucose, zu etwa 2%. Die Tannase ist offensichtlich behindert durch den stark sauren Charakter der Gerbstoffes, obwohl dieser in großer Verdünnung angewendet wurde. Neutralisationsmittel lassen sich aus verschiedenen Gründen nicht anwenden. Zur raschen Bestimmung des Zuckers kann jedoch folgender Ausweg dienen: Der Gerbstoff wird auf Hautpulver niedergeschlagen und in diesem Zustande der Tannase-Wirkung aus-

¹⁾ Über die Bewertung der Tannase wird eine demnächst erscheinende Mitteilung Aufschluß geben.

²⁾ Vergl. Freudenberg, Die Chemie der natürlichen Gerbstoffe, Berlin 1920, S. 50. Die Abspaltung gebundenen Quercetins ist bereits von K. Freudenberg, Naturwiss. 8, 903 [1920], erwähnt. Inzwischen hat K. Noack, Zeitschr. f. Bot. 13, 179 [1921], mitgeteilt, daß Quercitrin durch Tannase zerlegt wird.

gesetzt. Der im Gerbstoff gebundene Zucker geht nebst wenig Gallussäure alsbald in Lösung. Die Gallussäure läßt sich mit Tonerde entfernen und der Zucker im Filtrat bestimmen. Der Versuch entspricht der früher mitgeteilten Beobachtung¹⁾, daß Tannase aus der wäßrigen Suspension der Adsorptionsverbindung von Hamameli-Tannin oder Chinesischem Tannin mit Tonerde die Zucker abspaltet und herauflöst.

Der von den genannten Spaltstücken oder Beimengungen befreite Gerbstoff macht über die Hälfte des Rohgemisches aus. Er wird durch Tannase nicht weiter verändert und ebensowenig durch andere hydrolysierende Mittel in einfache Bausteine zerlegt. Wenn er somit aus der Klasse der Ester-Gerbstoffe, zu denen die Galläpfel-Tannine zählen, auszuschließen ist, so zeigt er auch keine Ähnlichkeit mit den Catechinen; denn er enthält kein Phloroglucin, ist stark sauer und in Essigäther fast unlöslich. Die Acidität läßt auf ein Molekulargewicht von etwa 400 oder einem Vielfachen dieser Zahl schließen. Die gelbrote Farbe scheint dem Stoffe eigentümlich zu sein; seine Eisenreaktion ist blau. Bromwasser gibt keine Fällung; im übrigen zeigt er die gewohnten Gerbstoff-Reaktionen.

Im Kastanien-Gerbstoffe liegt somit der Vertreter einer neuen Gerbstoffklasse vor. Diese Feststellung gewinnt an Interesse durch die neuerdings beobachtete Verwandtschaft mit dem Gerbstoffe der einheimischen Eiche²⁾, der nicht nur in der Zusammensetzung der Beimengungen, sondern auch in den Eigenschaften des unzerlegbaren Grundstoffes eine unverkennbare Ähnlichkeit mit dem Gerbstoffe der Edelkastanie aufweist. Die Untersuchung der neuen Gerbstoffart wird zunächst am Eichen-Gerbstoffe fortgeführt, da sich in den Eichenblättern ein geeigneteres Ausgangsmaterial gefunden hat. Zuvor muß jedoch unsere Kenntnis der Tannase erweitert werden.

Versuche³⁾.

Darstellung des Rohgerbstoffs.

2 kg helles, in kurze Späne zerrissenes Holz⁴⁾ werden mit 100 l $1\frac{1}{2}$ -proz. Schwefelsäure während mehrerer Wochen kalt perkoliert. Aus den braunen

¹⁾ K. Freudenberg und D. Peters, B. 53, 956 [1920].

²⁾ Vergl. K. Freudenberg, Naturwiss. 8, 905 [1920].

³⁾ Auszug aus H. Walpuski, Dissertat., Kiel 1921.

⁴⁾ Hr. Dr. W. Möller, Direktor der Gerb- und Farbstoffwerke H. Renner & Co. in Hamburg, hat mir in liebenswürdiger Weise das ausgesuchte und für diese Zwecke hergerichtete Holz zur Verfügung gestellt. Ich sage ihm hierfür, wie für die Überlassung zahlreicher ausländischer Gerbematerialien auch an dieser Stelle meinen wärmsten Dank. K. Freudenberg.

Anzügen wird der Gerbstoff nebst der Schwefelsäure durch Bleiacetat gefällt; der Niederschlag wird mit insgesamt 100 l Wasser in vielen Portionen dekantiert, durch sehr verdünnte Schwefelsäure in geringem Überschuß kalt zerlegt und erneut mit Bleiacetat abgeschieden. Dieses Verfahren wird 2–3-mal wiederholt, bis sich eine Probe des Gerbstoffs nach der Entgerbung mit Tonerde frei von beigemengtem Zucker erweist. Schließlich wird wieder mit Schwefelsäure zerlegt, vom Bleisulfat filtriert, mit Baryt von der Schwefelsäure befreit und mit Äther während 20–30 Stdn. im Extraktionsapparate erschöpft. Dann wird im Vakuum eingedampft, in 3–400 ccm Alkohol gelöst und mit Äther versetzt, bis die Hauptmenge der anorganischen Bestandteile niedergeschlagen ist. Nach 24 Stdn. wird von dem zusammengefallenen, sehr dunklen Niederschlage abgegossen, im Vakuum eingedampft, mit 200 ccm Wasser aufgenommen und unter vermindertem Druck eingetrocknet. Die Ausbeute an Rohgerbstoff beträgt 135 g; er hinterläßt 1–3% Asche.

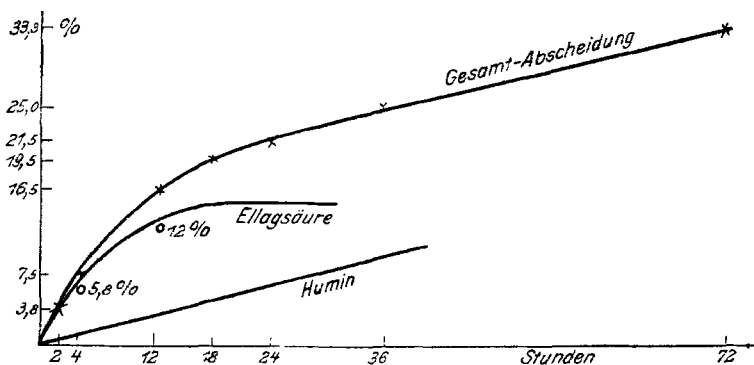
Die in den Äther übergegangenen Anteile lösten sich zum Teil in wenig lauwarmem Wasser. Beim Verdunsten schied sich Gallussäure in sehr geringer Menge ab, die an der Cyankalium-Reaktion leicht erkannt wurde. Der ungelöste Rückstand wurde zum größten Teil von heißem Eisessig aufgenommen und krystallisierte daraus in gelben Nadeln. Sie wurden nach der für Quercetin gegebenen Vorschrift¹⁾ in ein farbloses Acetylderivat übergeführt, das für sich und im Gemisch mit Acetyl-quercetin den für dieses angegebenen Schmelzpunkt zeigte. Der gleichfalls geringe, in Eisessig ungelöste Anteil krystallisierte aus Pyridin in farblosen Nadeln, die beim Befeuchten mit Wasser gelb würden — eine die Pyridin-Verbindung der Ellagsäure kennzeichnende Eigenschaft.

Hydrolyse mit Schwefelsäure.

Je 2.4 g Gerbstoff wurden in der 10-fachen Menge 2 $\frac{1}{2}$ -proz. Schwefelsäure 2, 4, 12 und mehr Stunden gekocht. Der dunkle Niederschlag (3.8, 7.5, 16.5 % des Gerbstoffs und so fort, siehe Kurve »Gesamt-Abscheidung«) vermehrte sich anfangs rasch und nahm nach 16-stündiger Kochdauer langsamer, aber gleichmäßig zu. Er bestand zu Anfang fast ganz aus Ellagsäure; denn nach 4 Stdn. erwiesen sich von 7.5 Tln. des Niederschlages 5.8, nach 12 Stdn. von 16.5 Tln. 12 Tle. als Ellagsäure (siehe Kurve des »Ellagsäure-Anteils«), die durch Krystallisation aus Pyridin von den humin-artigen Beimengungen befreit wurde. Bei länger erhitzten Proben überwog diese Beimengung derart, daß eine reinliche Abscheidung der Ellagsäure unmöglich wurde; eine wesentliche Vermehrung der Ellagsäure trat aber nicht mehr ein. Diese Versuche ermöglichen es, die Kurve der Gesamt-Abscheidung aufzulösen in eine anfangs rasch ansteigende, nach

¹⁾ C. Liebermann und O. Hörmann, A. 196, 320 [1879]; St. v. Kostanecki, V. Lampe und J. Tambor, B. 37, 1405 [1904].

16 Stdn. aber parallel der Abszisse verlaufende Kurve des Ellagsäure-Anteils und in eine stetig anwachsende des Humin-Anteils.



In Wirklichkeit ist der Ellagsäure-Gehalt um einige Prozente höher, da ein Teil der Säure gelöst bleibt.

Die Filtrate zweier Proben, die 36 und 72 Stdn. erhitzt waren, wurden von der Schwefelsäure befreit und mit Tonerde entgerbt. Sie enthielten, auf den angewendeten Gerbstoff bezogen, 1.9 und 1.7 % Zucker, der bei der Titration als Glucose berechnet wurde und tatsächlich, wie die Bildung von Glucosazon ergab, zur Hauptsache aus Glucose bestand.

Fermentativer Abbau.

Versuch mit Hautpulver. 1.5 g Hautpulver, das 24 Stdn. unter Wasser gequollen und dann gewaschen war, wurde mit der Lösung von 0.5 g Gerbstoff in 100 ccm Wasser 24 Stdn. geschüttelt. Dieses Gemisch wurde mit 0.1 g Tannase 72 Stdn. bei 35—38° unter Toluol aufbewahrt. Das Filtrat wurde mit Tonerde entgerbt und nach der Anfällung der Tannase durch Alkohol auf Zucker titriert, der 2.2 % des Gerbstoffs ausmachte. Hautpulver allein gab mit der Tannase kein die Fehlingsche Lösung reduzierendes Filtrat.

Abbau des Rohgerbstoffs. Die Lösung von 7 g Gerbstoff in 200 ccm Wasser wurde mit *Aspergillus niger* geimpft und 5 Tage bei 35—38° aufbewahrt. Der Pilz entwickelte sich infolge des Mangels an Stickstoff-Nahrung nur sehr schwach, bewirkte aber doch eine geringe Zersetzung, die sich an der Abscheidung von Ellagsäure zu erkennen gab. Das Filtrat wurde auf 700 ccm verdünnt, mit 0.5 g Tannase¹⁾ versetzt, mit Toluol überschichtet und weitere 6 Tage im

¹⁾ 0.04 g des Tannase-Präparats zerlegten bei 40° in 15 Stdn. von 1 g wasserfreiem Gallussäure-methylester in 200 ccm Wasser den vierten Teil. Diese und die folgenden Versuche hat Hr. E. Vollbrecht im Zusammenhang mit

Brutschranke aufbewahrt. Da sich abermals Ellagsäure abgeschieden hatte, wurde filtriert und erneut 6 Tage mit derselben Menge frischer Tannase behandelt. Jetzt war die Ellagsäure-Abscheidung bereits sehr gering und hörte nach zwei weiteren Wiederholungen völlig auf. Die Flüssigkeit wurde unter vermindertem Druck auf 200 ccm eingeeengt, filtriert und 48 Stunden im Extraktionsapparate ausgeäthert. Der Äther nahm Spuren von Ellagsäure, Quercetin und Gallussäure auf. Die wäßrige Lösung wurde solange mit wenig Bleiacetatlösung versetzt, bis sich anstelle des anfangs ausfallenden schmutzig-grauen Niederschlags bei weiterem Zusatze ein rein gelbes Bleisalz bildete. Das Filtrat wurde mit überschüssigem Bleiacetat versetzt, der Niederschlag zur Entfernung des Zuckers gründlich ausgewaschen und durch Schwefelwasserstoff zerlegt. Der aus dem Filtrat gewonnene Gerbstoff war jetzt gelbrot und wog 2.2 g. Der große Verlust wird durch die Adsorption am Bleisulfid verursacht. Zerlegt man mit Schwefelsäure, so wird eine bessere Ausbeute (4 g) erzielt, das Präparat ist aber dann weniger hell; im übrigen zeigt es dieselben Eigenschaften.

Auch die helle Substanz enthält noch mineralische Bestandteile, die sich nach einem Verfahren, das bei der Beschreibung des Eichen-gerbstoffs mitgeteilt werden soll, bis auf Spuren entfernen lassen. Sie ist frei von Stickstoff. Mit 100 Tln. 3-proz. Schwefelsäure 5 Stdn. auf 100° erhitzt, spaltete die Substanz noch immer etwas Ellagsäure, und zwar weniger als 3 %, ab. Die Zerlegung ist also noch nicht vollständig. Trotzdem glauben wir die folgenden analytischen Daten mitteilen zu dürfen, da wir Grund zur Annahme haben, daß sie durch die Ellagsäure führende Beimengung wenig beeinflußt sind. Das Präparat wurde unter 1 mm Druck bei 65° getrocknet.

0.1328 g Sbst.: 0.2471 g CO₂, 0.0397 g H₂O. — 0.1513 g Sbst.: 0.2808 g CO₂, 0.0445 g H₂O.

Der Verbrennungsrückstand wog als Sulfat im ersten Falle 0.5 mg, im zweiten 0.9. Für aschefreie Substanz (0.1326 g und 0.1509 g). Gef. C 50.82, 50.75; H 3.34, 3.29.

0.095 g brauchten zur Neutralisation 2.50 ccm $\frac{1}{10}$ -Natronlauge, 1 g verlangt demnach etwa 26 ccm. Die Acidität ändert sich kaum bei mehrstündigem Kochen mit 2.5-proz. Schwefelsäure.

einer noch nicht abgeschlossenen Untersuchung über den Eichen-Gerbstoff nachgearbeitet und ergänzt.
