

**324. Erik Hägglund und Helmut Urban:
Über den Einfluß von Bisulfit-Lösungen auf Zuckerarten
bei höherer Temperatur (II. Mittel.).**

(Eingegangen am 7. Juni 1929.)

Nachdem der eine von uns (Hägglund) in einer vorhergehenden Arbeit¹⁾ festgestellt hatte, daß Glucose beim Erhitzen mit Calciumbisulfit-Schwefligsäure-Lösung unter dem Einfluß der Bisulfit-Ionen zum Teil zu *d*-Gluconsäure oxydiert wird, untersuchten wir nunmehr, wie sich Mannose und Fructose unter diesen Bedingungen verhalten.

Von der Mannose war ja von vornherein zu erwarten, daß sie sich, ähnlich wie Glucose, zu der entsprechenden Aldonsäure oxydieren würde; denn Hägglund und Johnson²⁾ haben ja bereits feststellen können, daß sich unter den Zucker-Bestandteilen der Sulfit-Ablauge, je nach der Kochungsart in wechselnden Mengen, Mannonsäure befindet, die durch Oxydation der in der Hemi-cellulose vorkommenden Mannose unter Einwirkung der Sulfit-Kochsäure entstanden ist. Die Reaktion vollzieht sich so, daß der größte Teil der Mannose, die während der Druck-Erhitzung verschwindet, in Mannonsäure umgesetzt wird. Wir konnten ferner, wie bei Glucose, zeigen, daß eine Reversion zu polymeren Zuckern nicht eintritt. Es läßt sich einstweilen nicht entscheiden, ob bei dem Übergang von Mannose zu Mannonsäure, bzw. von Glucose zu Gluconsäure, Sulfonsäuren als Zwischenprodukte gebildet werden. In diesem Falle sind die so gebildeten Säuren sehr unbeständig, denn wir konnten in dem Reaktionsgemisch nur geringe Mengen einer schwefelhaltigen organischen Substanz auffinden. Die Identifizierung der Mannonsäure geschah in Form ihres Brucin-Salzes, welches durch Schmelzpunkt und Drehung charakterisiert wurde.

Bei Fructose waren die Verhältnisse weniger übersichtlich. In einer früheren Arbeit³⁾ wurde gezeigt, daß auch Fructose die Sulfit-Zersetzung beschleunigt, wenn auch in geringerem Maße als Aldosen. Merkwürdig war aber, daß frühzeitig ein starker Rückgang der Reduktionskraft bei der Druck-Erhitzung mit der Sulfit-Lösung eintrat. Im vorliegenden Falle war nicht vorauszusehen, welche Umsetzungsprodukte entstehen würden. Es lag natürlich am nächsten, auch hier anzunehmen, daß der Zucker durch Oxydation abgebaut wird. Bekanntlich wird aber Fructose in saurer Lösung von milde wirkenden Oxydationsmitteln nur schwer, gegebenenfalls unter Sprengung des Moleküls, angegriffen. Wendet man zur Oxydation Brom an, so entsteht bekanntlich u. a. α , β , γ -Trioxy-*n*-buttersäure. Nach dieser Säure haben wir zunächst gefahndet. Es ist uns dann auch gelungen, sie aufzufinden, aber wir müssen gleich hinzufügen, daß sie nur unter gewissen Bedingungen in solchen Mengen gebildet wird, daß sie rein abgetrennt werden kann. Bei höherer Zucker-Konzentration gelang es uns nicht. Die Isolierung geschah, wie im Versuchs-Teil näher beschrieben ist, durch fraktionierte Fällung der Calciumsalze mit starkem Alkohol, zur Identifizierung dienten das Calcium- bzw. das Brucin-Salz. Neben der Trioxy-buttersäure entstehen geringe Mengen Ameisensäure.

¹⁾ B. **62**, 437 [1929] (Mittel. I).

²⁾ Wochenblatt Papierfabrikat. **60**, 512 [1929]; vergl. auch Hägglund und Johnson, ebenda **60**, 353 [1929].

³⁾ Hägglund, B. **62**, 84 [1929].

Wurde die Fällung der Calciumsalze mit absol. Alkohol bzw. Alkohol und Äther vorgenommen, so fielen bedeutende Salzmengen mit einem Calciumgehalt von 7–8% aus. Diese Fraktion erwies sich als das Calciumsalz einer Sulfonsäure, und zwar zeigte sich, daß diese Säure als das Hauptreaktionsprodukt bei der Umsetzung der Fructose mit der Sulfit-Kochsäure entsteht. Aus dem Calciumsalz konnte ein schön krystallisiertes Brucin-Salz vom Schmp. 246.5° erhalten werden, aus welchem sich dann das Bariumsalz darstellen ließ. Das Brucin-Salz enthielt ein leicht austreibbares Molekül Wasser und war dann bei Temperaturen von 150° noch vollkommen beständig. Das Bariumsalz krystallisierte mit mindestens 1 Mol. Wasser und war bei höheren Temperaturen weniger beständig.

Auf Grund der Elementaranalysen ist zu schließen, daß wir es hier mit einer Fructose-sulfonsäure zu tun haben. Dies wird dadurch gestützt, daß die Säure sowohl die Pinoffsche⁴⁾ als auch die Seliwanoffsche⁵⁾ Reaktion auf Fructose zeigte. Bei diesen handelt es sich im wesentlichen um die Bildung von Oxymethyl-furfurol. Eine Oxymethyl-furfurol-sulfonsäure haben wir hier aber nicht vor uns; dagegen sprechen die Elementaranalyse und der Umstand, daß es uns nicht gelang, aus fertigem Oxymethyl-furfurol eine Sulfonsäure der erwähnten Art darzustellen.

Über die Eigenschaften der Säure und ihrer Salze ist folgendes zu sagen: Die freie Säure löst sich in 96-proz. Alkohol. Beim Eindampfen der wäßrigen Lösung auf dem Wasserbade zersetzt sie sich, sobald Sirup-Konsistenz erreicht ist, unter SO₂-Abspaltung. Beim Kochen mit 10–15% Schwefelsäure wird langsam schweflige Säure abgespalten. Gegen 2-n. Natronlauge in der Kälte ist die Säure beständig. Erst beim Kochen mit verd. Alkali spaltet sie je nach der Alkali-Konzentration mehr oder weniger langsam schweflige Säure ab. Die Säure und ihre Salze reduzieren Fehlingsche Lösung schwach. Diese Reduktionsfähigkeit dürfte kaum der Säure selbst, sondern ihren Verseifungsprodukten eigen sein.

Was die Konstitution dieser Sulfonsäure betrifft, so kann es sich kaum um eine einfache Bisulfit-Verbindung von Fructose handeln. Eine solche muß ja, nach den Versuchen von Kerp⁶⁾ zu schließen, außerordentlich unbeständig sein. Es gelang uns nicht einmal, nach der Vorschrift von Kerp für Glucose, Fructose-Bisulfit darzustellen, obwohl die Einwirkungszeit sehr lange ausgedehnt wurde. Die vorliegende Sulfonsäure ist ja gegen kalte Alkalilauge sehr beständig. Auch wird die freie Säure von Brom in wäßriger Lösung nicht oxydiert⁷⁾. Gegen starke Säuren ist sie ebenfalls relativ resistent, erst bei höherer Temperatur tritt Zersetzung ein. Bei dieser Zersetzung entsteht schweflige Säure, aber keine Schwefelsäure, was darauf hindeutet, daß die Sulfogruppe an ein Kohlenstoffatom gebunden ist, welches eine Hydroxylgruppe trägt⁸⁾.

Für die Sulfonsäure sind mehrere Formulierungen möglich. Das experimentelle Material reicht aber einstweilen nicht aus, um zwischen diesen die richtige Wahl zu treffen.

4) B. 38, 3308 [1905]. 5) In der Modifikation von Pinoff, B. 38, 3314 [1905].

6) Arbb. Reichs-Gesundheitsamt 21, 211 [1904].

7) vergl. Ruff, B. 32, 3678 [1900].

8) vergl. Raschig und Prahl, A. 448, 265 [1926]; B. 61, 179 [1928].

Beschreibung der Versuche.

A. Mannose.

Versuch 1: 6 g Mannose wurden $5\frac{1}{2}$ Stdn. in 300 ccm einer Lösung von der Zusammensetzung: 1.2 g CaO und 4.0 g SO₂ pro 100 ccm auf 130° erhitzt. In der klaren Flüssigkeit wurde dann mit Fehlingscher Lösung der Gehalt an nicht umgesetzter Mannose (4.37 g) bestimmt. 27.2% Zucker waren also umgesetzt. 2-stdg. Hydrolyse einer Probe der Lösung in 2-proz. Schwefelsäure ergab keine Vermehrung der Reduktionskraft. Die Lösung wurde mit Schwefelsäure auf eine Säure-Konzentration von 2% gebracht und dann 4 Stdn. auf dem Wasserbade erwärmt⁹⁾. Dann wurde mit Kreide auf dem Wasserbade neutralisiert, filtriert und das Filtrat noch $\frac{1}{2}$ Stde. mit Kreide gekocht. Das Filtrat wurde mit Tierkohle behandelt, im Vakuum auf 70 ccm eingeeengt und dann mit 280 ccm Alkohol (96-proz.) versetzt. Die ausfallenden Calciumsalze wurden mehrfach aus 80-proz. Alkohol umgefällt, bis sie frei von Gips waren. Ausbeute 1.2 g. Die Säure wurde mit der berechneten Menge Oxalsäure in Freiheit gesetzt und mit Brucin umgesetzt. Schmp. des Brucin-Salzes 205°¹⁰⁾.

Versuch 2: 15 g Mannose wurden in 750 ccm Kochsäure von der bei 1 angegebenen Zusammensetzung 7 Stdn. auf 130° erhitzt. Umsetzung 40%. Die Lösung wurde wie früher behandelt, neutralisiert und dann mit Hefe vergoren. Nach der Vergärung wurde die Lösung mit Tierkohle behandelt, im Vakuum eingeeengt und die Salze mit Alkohol gefällt. Ausbeute an Calciumsalz (mit 10.89% Ca) 5.9 g. Aus dem alkoholischen Fällbade konnten mit Äther noch 0.3 g Ca-Salze (mit 8.1% organisch gebundenem Schwefel) gefällt werden. Aus dem Ca-Salz wurde schließlich in der angegebenen Weise das Brucin-Salz dargestellt. Schmp. 205°. $[\alpha]_D = -25.96^{\circ 11)}$.

B. Fructose.

Es wurden, wie die folgende Zusammenstellung zeigt, mehrere Versuchsreihen durchgeführt mit verschiedenen Zucker-Konzentrationen.

Nr.	Kochsäure g/100 ccm	g Fructose in 100 ccm Kochsäure	Höchsttemp. von 130° in Stdn.	Umsetzung von Fructose in %
1.	1.20 CaO 4.02 ges. SO ₂	4	6 $\frac{1}{2}$	52.0
2.	1.20 CaO 4.35 ges. SO ₂	5	8 $\frac{1}{2}$	60.3
3.	1.10 CaO 4.30 ges. SO ₂	5.3	7 $\frac{1}{2}$	52.8
4.	1.20 CaO 4.36 ges. SO ₂	6	8	60.0

⁹⁾ Dies ist notwendig, um gebildete Polythionsäuren zu zerstören; vergl. Hägglund, B. 62, 438 [1929]. — In diesem Zusammenhang ist zu berichten, daß es in der Abhandlung B. 62, 85 [1929] im dritten Abschnitt „Thio-schwefelsäure“ an Stelle von „Dithionsäure“ heißen soll. ¹⁰⁾ vergl. Hägglund u. Johnson, a. a. O.

¹¹⁾ vergl. Hägglund u. Johnson, a. a. O.

Versuch 1: Angewendet 30 g Fructose in 750 ccm Kochsäure, umgesetzt 15.56 g. Die schwach gelb gefärbte Lösung wurde auf 1 l aufgefüllt, auf 2% Schwefelsäure-Konzentration gebracht und in 2 gleiche Teile geteilt.

I. Teil: 500 ccm der Lösung wurden 3 Tage im Apparat ausgeäthert. Der Äther wurde im Vakuum entfernt. Hierbei blieb in geringer Menge eine dunkle Flüssigkeit zurück, die 3 ccm n_{10} -Bariumhydroxyd verbrauchte und Silbernitrat, sowie Sublimat reduzierte. Es handelte sich mithin um eine Spur Ameisensäure. Die ausgeätherte Lösung wurde auf dem Wasserbade weiter behandelt, bis der Geruch nach SO_2 verschwunden war, dann neutralisiert und im Vakuum bis zum dünnen Sirup eingengt. Dieser wurde auf 70% Alkohol-Konzentration gebracht, erhitzt, von Gips abfiltriert und die alkoholische Lösung in 96-proz. Alkohol eingegossen. Hierbei fiel ein Calciumsalz aus, das, nach dem Waschen mit absol. Alkohol und Äther, im Vakuum bei gewöhnlicher Temperatur getrocknet wurde. Ausbeute: 1.5 g, mit 11.96% Ca. Trioxy-buttersaures Calcium mit $2\text{H}_2\text{O}$ erfordert nach Ruff¹²⁾ 11.56% Ca. Aus diesem Ca-Salz wurde mit Oxalsäure die freie Säure hergestellt und dann nach den Angaben von Ruff mit Brucin umgesetzt. Es resultierte ein schwach gelb gefärbtes Brucin-Salz mit einem Zers.-Pkt. von ca. 216° und dem $[\alpha]_D = -22.7^\circ$. Ruff gibt für ein durch Oxydation von Fructose mit Brom erhaltenes Präparat an: Zers.-Pkt. ca. 215° , $[\alpha]_D = -23^\circ$. Die im Alkohol noch gelöst vorhandene Fructose wurde nach Entfernung des Alkohols vergoren; dann wurden die restlichen Ca-Salze wie später angegeben aufgearbeitet.

II. Teil: Die saure Lösung wurde 4 Stdn. auf dem Wasserbade auf 75° erwärmt, dann mit Kreide neutralisiert und vergoren. Die vergorene Lösung wurde mit Tierkohle und etwas Kreide behandelt und im Vakuum zur Trockne eingengt. Der Rückstand wurde in 100 ccm warmem 70-proz. Alkohol aufgenommen, vom Gips abfiltriert und vorsichtig in $\frac{1}{2}$ l absol. Alkohol, unter lebhaftem Umrühren, eingegossen. Die Ausbeute an Calciumsalz (mit 11.28% Ca) war 7.5 g. Diese Fraktion war mit organisch gebundenem Schwefel verunreinigt. Die Säure wurde mit Oxalsäure freigemacht und vorsichtig zum Sirup eingedampft. Nach 1-tägigem Stehen schieden sich in dem Sirup Krystalle ab, wahrscheinlich α , β , γ -Trioxy-*n*-buttersäure-lacton. Beim Erwärmen auf dem Wasserbade trat teilweise Zersetzung des Sirups unter SO_2 -Abspaltung ein, und aus dem nicht zersetzten Anteil konnte wieder ein Brucin-Salz vom Zers.-Pkt. 215° gewonnen werden. Das alkoholische Filtrat von der ersten Fällung wurde eingengt und wiederum mit absol. Alkohol, sowie mit Äther gefällt. Es resultierten mehrere Fraktionen von Ca-Salzen einer Sulfonsäure mit einem Calciumgehalt von 7.5–7%. Die Untersuchung dieser Fraktionen wird in den folgenden Versuchen beschrieben.

Versuch 2: Angewendet 50 g Fructose in 1 l Kochsäure, umgesetzt 30.18 g. Die Lösung wurde in der bei Versuch 1, Teil II, beschriebenen Weise aufgearbeitet. Es resultierten 3 Fraktionen Roh-Calciumsalze.

Fraktion I:	Ausbeute	30.8 g	mit	8.06%	Ca
Fraktion II:	„	8.3 g	„	7.42%	„
Fraktion III:	„	1.7 g	„	7.28%	„

¹²⁾ a. a. O.

Der umgewandelte Teil der Fructose, 30.18 g, erscheint also nahezu quantitativ wieder in Form von einem sulfonsauren Ca-Salz, sowie von etwas trioxy-buttersaurem Calcium, zusammen 50.8 g Rohsalz. Es gelang durch mehrfaches Umfällen mit Alkohol nur unvollkommen, die beiden Komponenten zu trennen; als der beste Weg erwies sich, die Hauptfraktion über das Brucin-Salz zu reinigen. Arbeitet man nämlich so, daß man die mit Oxalsäure freigemachte Säure, nach Ausschütteln mit Äther, um nicht verbrauchte Oxalsäure zu entfernen, vorsichtig im Vakuum eindampft, so tritt keine Zersetzung ein. Der resultierende Sirup läßt sich dann, gegebenenfalls nach Umfällung aus Alkohol, in üblicher Weise mit Brucin umsetzen. Der eingeengte und gereinigte Sirup wird demgemäß mit einem Überschuß an Brucin und etwas Wasser versetzt und eine Zeit lang auf dem Wasserbade behandelt. Dann wird mit Wasser verdünnt, mit Eis abgekühlt, das ausgeschiedene Brucin abfiltriert, die Lösung zwecks Entfernung von noch gelöstem Brucin und von Verunreinigungen mehrfach mit Chloroform ausgeschüttelt und dann auf dem Wasserbade zum dünnen Sirup eingeeengt. Letzterer wird mit Alkohol versetzt, bis sich in der Wärme Krystalle abzuschneiden beginnen; dann wird erkalten lassen. Das Brucin-Salz, das in reinem Zustande in 96-proz. Alkohol sehr schwer löslich ist, erscheint sehr bald in gut ausgebildeten, prismatischen Krystallen. Nach mehrfachem Umlösen aus Alkohol, mit etwas Tierkohle, resultiert ein rein weißes, seidenartig glänzendes Produkt, Schmp, 246—247° (unt. Gasentwickl.).

Nach dem Trocknen bei 100° im Vakuum:

$C_{22}H_{26}O_4N_2$, H_2SO_3 , $C_6H_{12}O_6$. Ber. N 4.27, S 4.88. Gef. N 4.28 (Mittelwert), S 4.96, 5.07

Aus dem Brucin-Salz konnte mit Bariumhydroxyd in üblicher Weise das Bariumsalz hergestellt werden. Es wurde durch mehrfaches Umfällen aus Alkohol gereinigt und vor der Analyse 5 Stdn. bei 100° über P_2O_5 im Vakuum getrocknet.

$C_6H_{12}O_6 \cdot SO_3H \cdot \frac{Ba}{2} + H_2O$ Ber. Ba 19.75, S 9.23. Gef. Ba 19.92, S 9.32.

Während das Brucin-Salz, nach 3-stdg. Vortrocknen bei 100° im Vakuum, auch bei 150° vollkommen konstantes Gewicht behielt, verlor das so vortrocknete Bariumsalz schon bei 125° langsam an Gewicht, etwa soviel wie 1 Mol. Wasser entspricht. Bei höherer Temperatur trat ohne Veränderung der Farbe Sinterung ein, und gleichzeitig erfolgte weitere Gewichtsabnahme.

Beim Bestimmen der Reduktionskraft mit Fehlingscher bzw. Ostscher Lösung gab das Calciumsalz eine Kupferzahl von 11 und das Brucin-Salz eine solche von 7.3.

Bei der direkten Jod-Titration verbrauchten 0.2 g Ca-Salz 0.18 ccm $n/10$ -Jod. Wurden 0.2 g Ca-Salz $\frac{1}{2}$ Stde. mit 20 ccm 2-n. Natronlauge in der Kälte stehengelassen und dann nach Ansäuern mit Salzsäure titriert, so stieg der Jodverbrauch auf 0.35 ccm $n/10$ -Lösung. Die Sulfonsäure ist also gegen Alkali in der Kälte praktisch vollkommen beständig. Wurde mit Alkali in der Hitze behandelt, so stieg die SO_2 -Abspaltung: 1. 0.5 g Ca-Salz verbrauchten, direkt titriert, 0.42 ccm $n/10$ -Jod. 2. 0.5 g Ca-Salz verbrauchten nach 5 Min. langem Kochen mit 30 ccm $n/10$ -NaOH und Ansäuern nach dem Erkalten 3.3 ccm $n/10$ -Jod. 3. 0.5 g Ca-Salz verbrauchten nach 3 Min. langem Kochen mit 20 ccm Fehlingscher Seignettesalz-Lösung 9.5 ccm $n/10$ -Jod.

Beim Kochen mit 10-proz. Schwefelsäure wird aus der Sulfonsäure langsam SO_2 abgespalten, und es entstehen Zersetzungsprodukte mit höherer Reduktionskraft.

2.9609 g Ca-Salz, mit der Kupferzahl 11, wurden in 200 ccm Wasser gelöst, mit 10 ccm konz. Schwefelsäure versetzt und, unter Ersatz der abdestillierenden Flüssigkeit mit Wasser, 200 ccm in n_{10} -Jodlösung überdestilliert. Nach dieser Menge Destillat waren 113.68 ccm n_{10} -Jod verbraucht. Dies entspricht 0.364 g SO_2 oder 0.182 g S bzw. 6.14 % S. Die Abspaltung war also noch nicht vollkommen. Die zurückbleibende Lösung zeigte eine erhöhte Reduktionskraft: auf die Einwage umgerechnet, betrug die Kupferzahl nunmehr 41.

0.3 g Ba-Salz wurden mit 50 ccm Wasser und 50 ccm 37-proz. Salzsäure 11 Stdn. am Rückflußkühler gekocht¹³⁾. Es schieden sich Huminstoffe ab. Die Lösung wurde filtriert, ausgeäthert, der Äther mit Na_2SO_4 getrocknet und dann abgedampft. Die in geringer Menge zurückbleibende, dunkle Flüssigkeit wurde einige Zeit bei 60° im Trockenschrank aufbewahrt, um etwas Ameisensäure zu vertreiben. Als dann mit wäßriger Natronlauge und etwas Jod versetzt wurde, trat reichlich Jodoform-Ausscheidung ein. Dies deutet auf Laevulinsäure hin, die ja auch bei der sauren Zersetzung von Hexosen entsteht.

Ein Versuch, die freie Säure mit Brom zu oxydieren¹⁴⁾, wurde folgendermaßen durchgeführt:

8.96 g Ca-Salz wurden mit Oxalsäure umgesetzt, die freie Säure mit Äther behandelt und dann, in 50 ccm H_2O gelöst, in der Kälte langsam mit 4 g Brom versetzt. Die Mischung blieb über Nacht stehen, dann wurde das überschüssige Brom durch Erwärmen entfernt und die Lösung mit Bleicarbonat unter Erwärmen neutralisiert. Nach dem Erkalten wurde filtriert und das Filtrat mit Schwefelwasserstoff behandelt. Nach erneuter Filtration wurde im Vakuum bei 50° eingedampft. Der resultierende Sirup wurde mit Brucin, wie früher, umgesetzt. Es bildeten sich große Mengen eines Brucin-Salzes, das sich nach der Reinigung als das Brucin-Salz der Fructose-sulfonsäure herausstellte. Schmp. 246.5°. Trioxy-buttersaures Brucin konnte nicht isoliert werden. Durch die Brom-Behandlung hatte sich also die freie Säure nicht verändert.

Versuch 3 und Versuch 4 wurden in derselben Weise wie Versuch 2 aufgearbeitet und lieferten die gleichen Ergebnisse.

Åbo, Institut für Holzchemie der Akademie.

325. Fritz Wrede und Erich Strack: Zur Synthese des Pyocyanins und einiger seiner Homologen.

[Aus d. Physiol. Institut d. Universität Greifswald.]

(Eingegangen am 22. Juni 1929.)

Der Bacillus Pyocyaneus ist ein häufiger Schmarotzer der menschlichen Haut. Besonders oft findet er sich an schweißreichen Orten, z. B. in der Achselhöhle, wo er dann Blaufärbung des Schweißes bewirken kann. Siedelt er sich auf Wunden an, so entsteht der bekannte blaugrüne Eiter. Der Bacillus läßt sich leicht auf geeignetem Nährboden züchten. In früheren Veröffentlichungen zeigten wir¹⁾, daß der Farbstoff durch die Lebens-Tätigkeit seines Erzeugers zu einer Leukoverbindung reduziert wird. Beim Schütteln mit Luft werden die Kulturen durch Oxydation der Leukoverbindung blau. Der blaue Farbstoff, das Pyocyanin, läßt sich mit Chloroform ausschütteln; aus 10 l Kulturflüssigkeit werden etwa 100 mg gewonnen.

¹³⁾ Wehmer u. Tollens, A. **243**, 314 [1888].

¹⁴⁾ vergl. Ruff, a. a. O.

¹⁾ Wrede u. Strack, Ztschr. physiol. Chem. **140**, 1 [1924], **142**, 103 [1925], **177**, 177 [1928], **181**, 58 [1928].