

# Über das Vicin.

## I. Mitteilung.

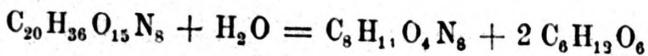
Von

E. Winterstein.

(Aus dem agrikulturchemischen Laboratorium der Eidgenössischen technischen Hochschule in Zürich.)

(Der Redaktion zugegangen am 12. April 1919.)

In einer in dieser Zeitschrift veröffentlichten Arbeit haben E. Schulze und G. Trier<sup>1)</sup> die Ansicht ausgesprochen, daß dem von Ritthausen<sup>2)</sup> aus Wickensamen (*Vicia sativa*) dargestellten Vicin möglicherweise die Formel  $C_{20}H_{36}N_8O_{15}$  zukommt und daß diese Verbindung bei der Hydrolyse gemäß der Gleichung



in eine Base, das Divicin, und 2 Moleküle Hexose gespalten wird. Das Divicin hatte schon Ritthausen aus dem Vicin neben einem Zucker erhalten. Nach Ansicht der genannten Autoren könnte das Divicin ein Pyrimidinderivat sein; diese Ansicht gründete sich auf der Tatsache, daß das in Wickensamen neben dem Vicin in geringer Menge vorhandene Convicin bei der Hydrolyse neben einer Hexose Alloxantin liefert.

Im Zusammenhang mit diesen Erörterungen hatte ich im Jahre 1913 Herrn J. Keller veranlaßt, das Vicin näher zu untersuchen. Zu diesem Zweck stellte ich dem Genannten eine größere Menge des von mir dargestellten Vicins zur Ver-

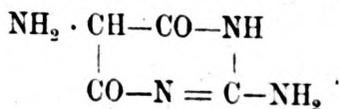
<sup>1)</sup> Über die Identität des Vernins und des Guanosins nebst einigen Bemerkungen über Vicin und Convicin Bd. 70, S. 143 (1910).

<sup>2)</sup> Journal f. prakt. Chemie [2] Bd. 2, S. 336 (1870), Bd. 24, S. 202 (1881), Bd. 59, S. 480 (1899). Ber. d. Deutsch. Chem. Gesellsch. Bd. 29, S. 2108 (1896), Bd. 9, S. 301 (1876).

fügung, außerdem aber sollten noch weitere 100 kg Wickensamen auf Vicin verarbeitet werden.

Aus äußeren Gründen konnte J. Keller die Untersuchung nicht fortsetzen, und da wir nun die Samen wieder beschaffen können, sollen die seinerzeit gewonnenen Resultate kurz veröffentlicht werden, da wir hoffen, einen weiteren Beitrag über die aus Vicin darstellbare Base bringen zu können.

Mittlerweile hat P. A. Levene<sup>1)</sup> eine Arbeit über das Vicin veröffentlicht, die mir im Original bisher nicht zugänglich war. Die Arbeit von Levene schließt an eine Bemerkung von T. B. Johnson und Johnson und Johns<sup>2)</sup> an, in welcher die letztgenannten Autoren die Ansicht aussprechen, daß das Divicin mit dem nach Traubes Angaben dargestellten 2,6-Dioxy-4,5-Diaminopyrimidin identisch sein soll, eine Ansicht, die durch E. Fischer<sup>3)</sup> widerlegt wurde. Die Traube'sche Verbindung hat große Ähnlichkeit mit dem Divicin, ist aber damit nicht identisch, denn sie gibt beim Erhitzen mit Harnstoff auf 180° Harnsäure, das Divicin gibt unter gleichen Bedingungen keine Harnsäure. Nach Levene könnte das Divicin eher 4,6-Dioxy-2,5-Diaminopyrimidin  $C_4H_6O_2N_4$



sein. Im folgenden sollen die bisher erhaltenen Resultate mitgeteilt werden.

**Darstellung des Vicins.** Feingemahlene Wickensamen werden mit so viel normaler Schwefelsäure zusammengebracht, daß ein recht dünner Brei entsteht. Die Flüssigkeit wird nach 12stündigem Stehen vom Unlöslichen abgepreßt, mit Kalkmilch neutralisiert, der ausgeschiedene Gips von der Lösung getrennt und diese mit Sublimatlösung und Bariumhydroxyd versetzt, bis keine weiße Fällung mehr auftritt. Die

<sup>1)</sup> Journal of Biological Chemistry Bd. 18, S. 305 (1914); Chem. Centralblatt Bd. 85, S. 646 (1914).

<sup>2)</sup> Journal Amer. Soc. Bd. 126, S. 337 (1914); *ibid.* Bd. 36, S. 545, 970 (1914).

<sup>3)</sup> Ber. d. Deutsch. Chem. Gesellsch. Bd. 47, S. 2611 (1914).

Quecksilberfällung wird auf einer Nutsche gesammelt, mit Wasser vollständig ausgewaschen und dann mit Schwefelwasserstoff zerlegt; da die Zersetzung des Niederschlags lange Zeit in Anspruch nimmt, ist es angezeigt, dem im Wasser fein verteilten Niederschlag Bariumhydroxyd bis zur stark alkalischen Lösung hinzuzufügen und dann Schwefelwasserstoff einzuleiten. Die Lösung befreit man mittelst Kohlensäure vom Barium, dunstet das farblose Filtrat bei niedriger Temperatur ein und filtriert vom ausgeschiedenen Bariumkarbonat ab. Aus der Lösung scheiden sich Kristalle aus, welche durch Umkristallisieren aus heißem Wasser gereinigt werden. Die Ausbeute beträgt höchstens 0,2 % an Rohvicin. Etwas bessere Ausbeuten erhält man, wenn man das Wickenpulver unter Zusatz von frischgefälltem Calciumkarbonat mit 80 % Weingeist extrahiert, den vom Alkohol befreiten sirupösen Rückstand mit Quecksilberchlorid und Natriumkarbonat ausfällt und im übrigen wie oben behandelt.

Das aus Wasser umkristallisierte Vicin bildet voluminöse, zu Büscheln vereinigte Nadeln; es schmilzt unter Zersetzung bei 239—242<sup>01)</sup>, je nach der Art des Erhitzens.

Das Vicin ist optisch aktiv: 1 g Substanz gelöst in 10 ccm 10 % iger Schwefelsäure dreht im 200-Millimeterrohr im Soleil-Ventzke-Apparat 5,1° nach links; daraus berechnet sich  $(\alpha)_D^{15} = -8,77^\circ$ .

Eine Lösung von 1 g Vicin in 15 ccm  $\frac{1}{5}$  n-Natronlauge drehte im gleichen Apparat im 200-Millimeterrohr 5° nach links, daraus berechnet sich  $(\alpha)_D = -12,1^\circ$ .

Spaltung des Vicins. Um zu prüfen, ob das Vicin ein oder zwei Moleküle Zucker enthält, wurden zunächst einige quantitative Spaltungen vorgenommen, von denen zwei hier aufgeführt werden sollen.

5 g Vicin wurden in 60 ccm normaler Schwefelsäure ge-

---

<sup>1)</sup> Nach Ritthausen, l. c., schmilzt Vicin bei 180°. Sein Präparat scheint somit nicht ganz rein gewesen zu sein, denn auch bei der Elementaranalyse wurden von uns Zahlen erhalten, die etwas von denjenigen abweichen, die Ritthausen erhalten hat.

löst und zunächst die Drehung dieser Lösung bestimmt; sie betrug im 200-Millimeterrohr  $-4,3^\circ$ . Daraus berechnet sich eine spezifische Drehung von  $-8,9^\circ$ . Diese Zahl stimmt mit der obigen sehr gut überein. Nach 4stündigem Aufbewahren der Lösung in der Kälte hatte die Drehung sich kaum verändert. Vicin wird also in der Kälte durch normale Schwefelsäure nicht gespalten. Diese Lösung wurde nun 1 Stunde in kochendem Wasserbade erwärmt, wieder auf 60 ccm gebracht und die Drehung bestimmt. Da die Lösung etwas gelb gefärbt war, konnte eine ganz genaue Ablesung nicht erfolgen, sie betrug im Mittel  $+13^\circ$ . 2 ccm dieser Lösung gaben bei der Zuckerbestimmung nach Allihn-Soxhlet 0,1922 Kupfer = 0,0985 g d-Glukose. Daraus berechnet sich 59,3 % d-Glukose.

7,500 g Vicin mit 50 ccm normaler Schwefelsäure  $\frac{3}{4}$  Stunden gekocht, gaben 60,05 % d-Glukose auf Vicin berechnet. Die Lösung drehte im 200-Millimeterrohr  $+12,6^\circ$ .

Berechnet man die Drehung nach der Formel

$$(\alpha)_D = \frac{a \times 0,344 \times 100}{2 \times p},$$

wobei a die abgelesenen Grade, p den Prozentgehalt bedeuten, so findet man für d-Glukose ein zu niedriges Drehungsvermögen, anstatt  $+52^\circ$  nur gegen  $+48^\circ$ . Dieser Unterschied ist nicht allzu bedeutend und findet eine Erklärung darin, daß die Lösungen nicht ganz farblos sind; außerdem aber ist es möglich, daß die vorhandene Säure und die bei der Spaltung auftretenden Basen einen Einfluß auf das Drehungsvermögen ausüben. Aus der Formel, die sich auf Grund der Elementaranalyse, der Ergebnisse von Ritthausen<sup>1)</sup> und Levene<sup>2)</sup> aufstellen läßt, berechnet sich ein Gehalt von 59,6 % d-Glukose; dieser Wert stimmt mit dem gefundenen gut überein.

Es sei noch bemerkt, daß man bei der Zuckerbestimmung nach Allihn den Glukosegehalt nicht aus der gefundenen

<sup>1)</sup> Journ. f. prakt. Chemie Bd. 24, S. 206 (1881), Bd. 59, S. 481 (1899). Ritthausen erhielt 30 % Divicin aus dem Vicin; berücksichtigt man die unvermeidlichen Verluste, so stimmt auch diese Zahl einigermaßen.

<sup>2)</sup> The Journal of Biological Chemistry Bd. 18, S. 305 (1899). Chem. Centralblatt. Vibid.

Kupferoxydulmenge nach der von Th. v. Fellenberg<sup>1)</sup> aufgestellten Tabelle ablesen kann, denn reduziert man das Kupferoxydul mit Wasserstoff, so findet man für Cu stets niedrigere Werte als die aus der Tabelle abgelesenen. Das Oxydul ist auch nie rein dunkelrot; es schließt etwas organische Substanz ein. Um diese zu entfernen, wurde das mit Wasserstoff reduzierte Kupfer im Luftstrom erhitzt, sodann nochmals reduziert, wobei man dann reines Kupfer und Resultate erhält, die sehr gut untereinander übereinstimmen.

Bei der Elementaranalyse des Vicins wurden folgende Resultate erhalten:

|   | Gefunden: | Berechnet für $C_{10}H_{16}O_7N_4$ : |
|---|-----------|--------------------------------------|
| C | 39,04%    | 39,47%                               |
| H | 5,34%     | 5,26%                                |
| N | 17,98%    | 18,42%                               |

Durch die Untersuchungen von E. Fischer<sup>2)</sup> und auch Levene<sup>3)</sup> ist die Natur des bei der Hydrolyse des Vicins auftretenden Zuckers als der Glukose erkannt worden. Folgende Ergebnisse bestätigen diesen Befund in jeder Hinsicht.

20 g Vicin wurden mit 200 ccm normaler Schwefelsäure ca. 2 Stunden<sup>4)</sup> im Wasserbade erwärmt. Schon nach 10 Minuten gibt diese Lösung mit Eisenchlorid und Ammoniak eine tiefblaue Lösung, die allmählich einen grauen Ton annimmt. Fügt man zu der mit Schwefelsäure kurze Zeit erhitzten Vicinlösung Bariumhydroxyd hinzu, so tritt eine rosarote Färbung auf, die beim Kochen sofort verschwindet<sup>4)</sup>. Die bei 2stündigem Kochen mit normaler Schwefelsäure erhaltene Lösung gab die beschriebenen Farbenreaktionen nicht mehr.

Die Lösung wurde mittels reinem Baryt von der Schwefelsäure vollständig befreit und die vom Bariumsulfat getrennte

<sup>1)</sup> Tabelle zur Ermittlung des Traubenzuckers, Invertzuckers, Milchezuckers und Malzzuckers aus dem gewogenen Kupferoxydul. Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene, veröffentlicht vom Schweizerischen Gesundheitsamt, Bd. IV S. 369 (1913). Es ist möglich, daß das  $Cu_2O$  etwas Base mit ausfällt.

<sup>2)</sup> Ber. d. Deutsch. Chem. Gesellsch., Bd. 47, S. 2615 (1914).

<sup>3)</sup> Ibidem.

<sup>4)</sup> Diese Reaktion ist von E. Ritthausen angegeben.

Flüssigkeit bei 40° zu einem dünnen Sirup eingedunstet und im Exsikkator aufbewahrt. Man erhält einen braunen zähen Sirup, der sich leicht in kochendem 90%igen Äthylalkohol und nahezu vollständig auflöst; die von einem geringen unlöslichen Rückstand getrennte alkoholische Lösung wurde mit Wasser verdünnt, mit konzentrierter Schwefelsäure sauer gemacht und konzentrierte Phosphorwolframsäure hinzugefügt, bis keine Fällung mehr auftrat. Die Fällung wurde auf der Nutsche mit 5%iger Schwefelsäure ausgewaschen, die Lösung mittels Baryt von den Säuren befreit und das säurefreie Filtrat vorsichtig eingedunstet. Der erhaltene hellgelbe Sirup, welcher 11,4 g wog, wurde oft mit 94%igem Alkohol ausgekocht, die alkoholische Lösung stehen gelassen und die nahezu farblose Lösung von einer kleinen Menge sirupöser Ausscheidung abgegossen. Die alkoholische Lösung wurde im Exsikkator aufgestellt, und nachdem der größte Teil des Alkohols verdunstet war, wurden einige Kristalle Traubenzucker eingimpft. Nach einiger Zeit erstarrte die Masse nahezu vollständig; sie wurde mit 95%igem Alkohol gewaschen und aus kochendem Alkohol umkristallisiert. Auf diese Weise wurden 5,4 g Traubenzucker erhalten. Eine Lösung von 1 g des Zuckers in 10 ccm Wasser drehte im Soleil-Ventzke-Apparat im 200-Millimeterrohr +14,9°. Daraus berechnet sich  $(\alpha)_D + 51,2^\circ$ , für Traubenzucker + 52°.

Die Kristalle gaben bei der Oxydation Zuckersäure, welche durch eine Silberbestimmung des Silbersalzes charakterisiert wurde. Erhalten 51,2% Ag, berechnet 50,93% Ag. Das Osazon schmolz bei 205°. Der Rohsirup gab mit essigsauerm Phenylhydrazin in der Kälte keine Fällung, die Reaktionen auf Pentosen und Fruktose waren negativ. Somit entsteht, wie E. Fischer auf Grund seiner Untersuchungen vermutet hat, aus dem Vicin nur Traubenzucker. Die neben dem Traubenzucker auftretende Base, das Divicin, ist nach den Angaben von Ritthausen recht unbeständig, die wäßrigen Lösungen zersetzen sich rasch, die anfänglich farblosen Kristalle werden bald braun oder rötlich. Nach E. Fischers Beobachtungen scheint das Vicinsulfat beim Umkristallisieren etwas Schwefelsäure abzugeben.

Spaltet man Vicin durch  $\frac{3}{4}$  Stunden langes Erhitzen mit normaler Schwefelsäure, neutralisiert die Lösung ganz genau mit Baryt und dunstet bei  $30^{\circ}$  oder im Vakuumexsikkator ein, so resultiert ein brauner Sirup, der, wie schon gesagt, sich nahezu vollständig in Alkohol auflöst; eine Lösung desselben gibt die von Ritthausen beschriebene violette Färbung mit Eisenchlorid und Ammoniak nicht mehr. Der Sirup enthält neben Ammoniak eine durch die bekannten Alkaloidfällungsmittel fällbare Base. Es ist denkbar, daß das Studium dieser Verbindung näheren Aufschluß über die Konstitution des Divicins bringen kann, worüber wir in einer zweiten Mitteilung berichten werden.