

# **Einfluß der Struktur der $\beta$ -Glukoside auf die Wirkung des Emulsins.**

Von  
**Emil Fischer.**

(Aus dem chemischen Institut der Universität Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 14. Juli 1919.)

Wie das Studium der Glukoside ergeben hat, ist die hydrolytische Wirkung der beiden Glukosidasen Emulsin und Hefenzym in hohem Grade abhängig von der Zusammensetzung und der Konfiguration des Zuckerrestes<sup>1)</sup>. Von geringerem Einfluß schien nach den bisher vorliegenden Beobachtungen die Natur der zweiten Glukosidkomponente zu sein, denn die d-Glukoside der aliphatischen ein- und mehrwertigen Alkohole sowie der ein- und mehrwertigen Phenole zeigen qualitativ keinen wesentlichen Unterschied, wenn auch in der Schnelligkeit der Hydrolyse erhebliche Differenzen bestehen. Dasselbe gilt für die  $\beta$ -Derivate der Phenolalkohole, Phenolaldehyde und der Phenolketone, die leicht von Emulsin angegriffen werden<sup>2)</sup>.

Anders lauten die Erfahrungen bei den Glukosidosäuren. Während manche Derivate der Phenolcarbonsäuren, z. B. Gluko-

---

<sup>1)</sup> E. Fischer, Diese Zeitschr. Bd. 26, S. 60 (1898).

<sup>2)</sup> Die Zahl der Stoffe ist zu groß, um hier einzeln angeführt zu werden. Ich verweise deshalb auf die Sammelwerke z. B. van Rijn, Glukoside, oder Abderhalden, Biochem. Handlexikon Bd. II.

vanillinsäure<sup>1)</sup>, Glukosyringasäure<sup>2)</sup>, Glukosidogallussäure<sup>3)</sup> von Emulsin gespalten werden, wurde die Glukosidoglykolsäure als widerstandsfähig gegen das Enzym erkannt im Gegensatz zu ihrem Amid, das leicht hydrolysiert wird<sup>4)</sup>.

Es schien mir deshalb wünschenswert, eine vergleichende Untersuchung über eine größere Anzahl von d-Glukosiden anzustellen, in denen der mit dem Zuckerrest verbundene Bestandteil erhebliche Strukturunterschiede zeigt. Ich habe dafür die jetzt durch Synthese zugänglichen Glukoside der Oxysäuren mit ihren Salzen, Estern, Amiden und Nitrilen gewählt, von denen die letzteren bekanntlich im Pflanzenreich weit verbreitet sind. Zur Untersuchung gelangten die Derivate der Glykolsäure,  $\alpha$ -Oxyisobuttersäure und Mandelsäure, ferner die Amygdalinsäure und Cellosidoglykolsäure.

Die Glukosidomandelsäure wurde schon früher aus dem Tetraacetat ihres Äthylesters<sup>5)</sup> durch Baryt als amorphe Masse gewonnen und war offenbar ein Gemisch der Glukoside von d- und l-Mandelsäure. Daraus läßt sich die reine kristallisierte Glukosido-d-mandelsäure mit Hilfe des Chininsalzes isolieren. Auf dieselbe Weise wurde aus der alten amorphen Amygdalinsäure<sup>6)</sup>, die bekanntlich ebenfalls ein Gemisch ist, mittels des Cinchoninsalzes die d-Verbindung, d. h. das Derivat der d-Mandelsäure gewonnen. Die bisher unbekannte Cellosidoglykolsäure wurde aus dem Heptacetat ihres Esters in der bekannten Weise durch Verseifung mit Bariumhydroxyd bereitet. Näheres über die Einzelheiten dieser präparativen Versuche finden sich am Schluß dieser Abhandlung.

---

<sup>1)</sup> F. Tiemann und Reimer, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 8, S. 515 (1875).

<sup>2)</sup> Körner, Gazetta Bd. 18, S. 209 (1888).

<sup>3)</sup> E. Fischer und H. Strauß, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 45, S. 3773 (1912).

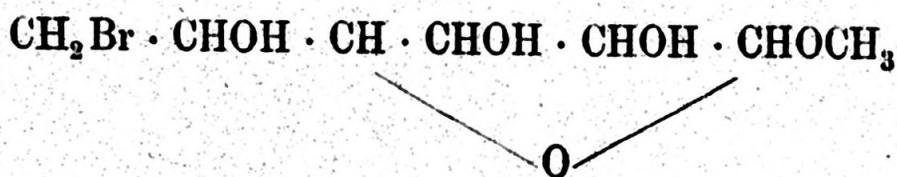
<sup>4)</sup> E. Fischer und B. Helferich, Liebigs Annal. d. Chem. Bd. 383, S. 66.

<sup>5)</sup> E. Fischer und M. Bergmann, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 50, S. 1053 (1917).

<sup>6)</sup> Wöhler und Liebig, Annal. Bd. 22, S. 11 (1837).

Das Verhalten aller dieser Stoffe gegen Emulsin erschien anfangs recht verwirrt. Denn die freien Säuren erwiesen sich als widerstandsfähig, während einige Salze, wie die Barium- und Zinkverbindungen, sowie Ester und Amid gespalten wurden. Die nähere Untersuchung<sup>1)</sup> zeigte aber, daß es sich hier um eine längst bekannte Erscheinung handelt, nämlich um die Abhängigkeit der Enzymwirkung von der Konzentration der Wasserstoffionen<sup>2)</sup>. Beträgt diese etwa  $10^{-5}$ , so werden die meisten oben erwähnten Stoffe von dem Emulsin hydrolysiert. Nur in der Schnelligkeit der Reaktion zeigen sich sehr erhebliche Unterschiede.

Ferner wurden noch zwei bromhaltige Glukoside geprüft. Das eine ist Bromallylglukosid<sup>3)</sup>  $C_3H_4Br \cdot C_6H_{11}O_6$ . Es wird von Emulsin außerordentlich leicht gespalten. Im Gegensatz dazu enthält das zweite Präparat das Brom im Zuckerrest. Es ist das 6-Bromhydrin des  $\beta$ -Methylglukosids von folgender Struktur



und entsteht nach Versuchen, die ich durch Herrn Paul Ostmann ausführen ließ, durch vorsichtige Verseifung seines schon bekannten Triacetats<sup>4)</sup>. Dieses bromhaltige, in Wasser leicht lösliche Glukosid, das sich gegen  $148^\circ$  zersetzt und  $[\alpha]_D^{16} = 34,9^\circ$  (in 6% iger wäßriger Lösung) hat, wird von Emulsin nicht

<sup>1)</sup> Vergl. vorläufige Notiz Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 52, S. 200 (1919).

<sup>2)</sup> S. P. L. Sørensen, Biochem. Zeitschr. Bd. 21, S. 131 (1909). L. Michaelis und Davidsohn, Biochem. Zeitschr. Bd. 35, S. 386 (1911). Vergl. ferner das treffliche Buch von Leonor Michaelis „Die Wasserstoffionen-Konzentration“ oder den Artikel von Sørensen in Asher-Spiros „Ergebnissen der Physiologie“ (1912).

<sup>3)</sup> Das Präparat wird in einer später folgenden Abhandlung über Allylglukosid beschrieben.

<sup>4)</sup> E. Fischer und K. Zach, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 45, S. 465 (1912).

angegriffen. Zum Vergleich wurde das früher schon mit positivem Erfolge geprüfte Methyl-isorhamnosid von neuem untersucht, weil es zu dem Bromhydrin in sehr naher Beziehung steht.

Für die in der nachfolgenden Tabelle zusammengestellten Versuche gilt folgendes:

Die schwierige Beschaffenheit mancher synthetischen Stoffe zwang zur Sparsamkeit. Deshalb wurde das Verfahren so ausgebildet, daß es auch mit kleinen Mengen verhältnismäßig zuverlässige Resultate gibt. Einige Versuche sind noch in der alten Weise ohne genaue Bestimmung der Konzentration der Wasserstoffionen ausgeführt. Bei der Mehrzahl aber ist die für das Emulsin als günstig bekannte Konzentration von etwa  $10^{-5}$  hergestellt. Das geschah meist nach der bequemen Vorschrift von Sørensen<sup>1)</sup> durch einen sogen. Puffer, d. h. durch ein Gemisch von primärem und sekundärem Natriumcitrat oder Natriumphosphat, in einigen Fällen auch nach dem sehr zweckmäßigen Vorschlag von L. Michaelis durch Natriumacetat und Essigsäure. Die Konzentration ist bei jedem einzelnen Versuch durch den von Sørensen eingeführten Ausdruck  $p_H$  angeführt.

Für die Versuche dienten die reinsten Präparate und die Ausführung geschah folgendermaßen:

Von neutralen Stoffen (Estern, Amiden, Nitrilen) wurden 0,75 g in 15 ccm  $n/_{10}$ -Natriumcitrat- oder  $n/_{15}$ -Natriumphosphatmischung gelöst und mit 3 Tropfen Toluol geschüttelt. Von dieser Flüssigkeit dienten 5 ccm für die Kontrollprobe, die übrigen 10 ccm wurden mit 0,05 g wirksamem Emulsin (E. Merck) sehr sorgfältig vermischt und genau 5 ccm dieser Lösung für den hydrolytischen Versuch in gut verschlossenen Röhrchen zusammen mit der Kontrollprobe im Thermostaten erwärmt. Der Rest der Mischung diente für die kolorimetrische Schätzung der Konzentration der Wasserstoffionen nach Sørensen.

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr. Bd. 21, S. 131 (1909).

Die freien Säuren wurden in der gleichen Konzentration und mit derselben Menge Emulsin und Toluol, aber selbstverständlich ohne Zusatz von Citrat oder Phosphat behandelt. Das Resultat war dann stets negativ. Nur bei der Amygdalinsäure, Cellosidoglykolsäure und Glukosyringasäure sind aus ganz besonderen Gründen, die später erörtert werden, noch Versuche mit viel größeren Mengen Emulsin angestellt und ergaben ein positives Resultat. Die Salze kamen zum kleineren Teil als reine kristallisierte Präparate zur Anwendung, meistens aber wurden sie aus der Säure durch Neutralisation mit der Base direkt für den Versuch dargestellt, z. B. wurden für Natrium- und Kaliumsalz 0,75 g Glukosidosäure in 2 ccm Wasser gelöst, mit n-Lauge vorsichtig gegen Lackmus neutralisiert und die etwa 3,5 ccm betragende Mischung mit  $\frac{n}{15}$  primärem Kaliumphosphat auf 15 ccm aufgefüllt. Die Lösung enthielt dann ungefähr 5% der Glukosidosäure als Natrium- und Kaliumsalz und hatte außerdem die geeignete Konzentration der Wasserstoffionen.

Für die Bereitung der Calcium- und Bariumsalze wurden wieder 0,75 g Säure in 2 ccm Wasser gelöst, mit überschüssigem reinem Calcium- oder Bariumcarbonat bis zur Neutralisation geschüttelt, dann abfiltriert, mit wenig Wasser nachgewaschen und mit Natriumcitratlösung auf 15 ccm und die richtige Konzentration der Wasserstoffionen gebracht.

Von den im Thermostaten behandelten Mischungen wurden nach einer bestimmten Zeit Proben von je 1 ccm entnommen, durch ein gewöhnliches Filterchen gegossen, sorgfältig nachgewaschen und das Filtrat genau auf 5 ccm gebracht. Je 1 ccm dieser fast klaren Flüssigkeit diente zu den Titrationen mit Fehlingscher Lösung. Das so erhaltene Resultat erfuhr noch eine Korrektur durch Abzug der kleinen Menge Fehlingscher Lösung, welche durch die Kontrollprobe und das Emulsin allein verbraucht wurde. Die verbesserten Zahlen dienten dann für die Berechnung des durch die Hydrolyse entstandenen Traubenzuckers, und daraus sind die Prozentzahlen für die Spaltung des Glukosids abgeleitet, welche in der Tabelle angeführt werden. Diese können um einige Ein-

heiten fehlerhaft sein infolge der Ungenauigkeit der Methode; aber das ist für den verfolgten Zweck gleichgültig.

Der unsicherste Faktor bei diesen Versuchen ist die Beschaffenheit des Emulsins, das bekanntlich mehrere Enzyme enthält, für die noch keine richtige Wertbestimmung ausgearbeitet ist. Da aber immer dasselbe Präparat benutzt wurde, so kann man die Zahlen als relativ richtig ansehen.

Den Gang der Hydrolyse in einer größeren Anzahl von Zeitabschnitten zu verfolgen und durch Kurven darzustellen, lag nicht in meiner Absicht, weil dafür mehr Material, eine genauere Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration nach der Gaskettenmethode und auch eine sorgfältigere Feststellung des Optimums dieser Konzentration für jede einzelne Substanz nötig gewesen wäre. Aus demselben Grunde habe ich darauf verzichtet, äquimolekulare Lösungen der verschiedenen Stoffe anzuwenden.

In der Tabelle (vgl. S. 182 ff.) sind mehrere ältere Beobachtungen über Hydrolyse durch Emulsin mit Literaturangaben aufgeführt. Nur bei den natürlichen Stoffen — Linamarin, l- und d-Mandelnitrilglukosid — habe ich darauf verzichtet, die ganze ältere Literatur zu zitieren. Wo sonst die Literaturangaben fehlen, ist der Versuch jetzt zum ersten Male ausgeführt.

Was die einzelnen Resultate betrifft, so ist folgendes hervorzuheben:

1. Die freien Säuren werden von kleinen Mengen Emulsin nicht angegriffen, offenbar weil die Konzentration der Wasserstoffionen zu groß ist. Durch starke Steigerung der Emulsinmengen können sich die Verhältnisse aber ändern, wie an dem Beispiel der Amygdalinsäure, Cellosidoglykolsäure und Glukosyringasäure gezeigt wurde.
2. Von den Derivaten sind die Amide, Ester und Nitrile am leichtesten hydrolysierbar. Bei den Nitrilen ist der Vorgang bekanntlich dadurch kompliziert, daß nicht allein der Zucker in Freiheit gesetzt, sondern auch die Cyangruppe als Blausäure abgespalten wird.



	Ver- suchs- tempe- ratur	Exponent der Konzen- tration der Wasserstoff- ionen pH	Dauer des Versuchs in Stunden	Prozent der Hydrolyse
Natriumsalz <sup>o</sup> (and. Präp.)	35°	—	24	negativ
Calciumsalz	37°	4,9 S.	65	nurSpuren
Methylester <sup>o</sup>	37°	5,0 Phos.	69	6
			136	13
Methylester (and. Präp.)	35°	—	24	negativ
Amid* <sup>o1)</sup>	34°	—	24	4
"	34°	—	168	15
" (and. Präp.)	37°	5,6 Citr.	40	nurSpuren
			238	11
Nitril (Linamarin) <sup>2)</sup> syn- thet.* <sup>o</sup>	37°	—	24	5
			168	17—20
" (and. Präp.)	36°	5 Citr.	38	8
			101	11
" " "	36°	5 Citr.	14	4
			465	16
Glukosido-mandelsäure (Gemisch v. d- u. l-Form)				
Freie Säure	35°	—	48	negativ
Natriumsalz	36°	4,9 Citr.	26	34
			465	61
Calciumsalz	36°	4,1 Citr.	26	44
			465	58
Bariumsalz	35°	S. sehr schwach sauer	48	25
Methylester <sup>o</sup>	36°	5 Citr.	26	47
			432	83
" (and. Präp.)	34°	5,9 Phos.	136	57
Nitril* <sup>3)</sup>	37°	—	—	starke Hydrolyse

<sup>1)</sup> Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 52, S. 859 (1919).

<sup>2)</sup> Ältere Literatur ist zusammengestellt Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 52, S. 854 (1919).

<sup>3)</sup> Hérissey, C 1906 I, 367; Journ. de Pharm. et de Chim. [6] Bd. 23, S. 5 (1906).

	Ver- suchs- tempe- ratur	Exponent der Konzen- tration der Wasserstoff- ionen pH	Dauer des Versuchs in Stunden	Prozent der Hydrolyse	
<b>Glukosido-d-mandel- säure*</b>					
Freie Säure* <sup>o</sup>	37°	—	—	negativ	
Natriumsalz	37°	4,9 Phos.	47 363	nur Spuren	
Calciumsalz	37°	4,1 S.	65	nur Spuren	
Chininsalz*	37°	4,9 Phos.	40 238	negativ	
Methylester* <sup>o</sup>	39°	—	15	44	
"	35°	—	38	45	
" (and. Präp.)	37°	5,0 Phos.	69 136	60 70	
" " "	35°	5,3 Phos.	40	43	
Amid <sup>o</sup>	37°	5,3 Phos.	48	negativ	
" (and. Präp.)	34°	—	20	"	
Nitril (Sambunigrin) <sup>1)</sup> syn- thet.* <sup>o</sup>	34°	—	24	90	
<b>Glukosido-l-mandelsäure</b>					
Amid <sup>2)</sup>	34°	—	20	starke Hydrolyse	
Nitril* <sup>3)</sup> (Mandelnitrilglu- kosid)	34°	—	22	86	
<b>Amygdalinsäure (Gemisch von d- und l-Form)</b>					
Freie Säure <sup>o4)</sup> m. <sup>1</sup> / <sub>10</sub> Emulsin	35°	2,3	ohne Zu- sätze	45	negativ
" " " <sup>1</sup> / <sub>1</sub> "	35°	3,6		45	33
" " " <sup>2</sup> / <sub>1</sub> "	35°	4,3		45	43
Natriumsalz <sup>o</sup>	35°	S. sehr schwachsauer		48	38

<sup>1)</sup> Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 50, S. 1065 (1917).

<sup>2)</sup> Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 50, S. 1054 (1917).

<sup>3)</sup> Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 50, S. 1065 (1917).

<sup>4)</sup> Vgl. Slimmer, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 35, S. 4160 (1902).

	Ver- suchs- tempe- ratur	Exponent der Konzen- tration der Wasserstoff- ionen pH	Dauer des Versuchs in Stunden	Prozent der Hydrolyse
Natriumsalz <sup>o</sup>	35 <sup>o</sup>	S. eben sauer	23	29
„ (and. Präp.)	37 <sup>o</sup>	5,0 Phos.	39	69
			231	73
Kaliumsalz	35 <sup>o</sup>	eben sauer	35	40
Calciumsalz <sup>o</sup>	35 <sup>o</sup>	„ „	23	41
Calciumsalz (and. Präp.)	37 <sup>o</sup>	5,5 Phos.	39	50
			231	61
„ (drittes Präp.)	33 <sup>o</sup>	neutral	39	28
Bariumsalz <sup>o</sup>	37 <sup>o</sup>	—	123	65
„	38 <sup>o</sup>	—	48	58
Magnesiumsalz	35 <sup>o</sup>	Spur sauer	23	19
Zinksalz	35 <sup>o</sup>	„	23	26
Methylester <sup>o</sup>	37 <sup>o</sup>	5,0 Phos.	69	65
			156	74
„ (and. Präp.)	38 <sup>o</sup>	—	41	72
„ (drittes Präp.)	38 <sup>o</sup>	—	41	73
<b>d-Amygdalinsäure</b>				
Freie Säure	35 <sup>o</sup>	—	45	negativ
Natriumsalz <sup>o</sup>	37 <sup>o</sup>	4,9 Phos.	47	45
„ (and. Präp.)	37 <sup>o</sup>	4,9 Phos.	47	44
Calciumsalz <sup>o</sup>	37 <sup>o</sup>	4,7 S.	65	31
„ (and. Präp.)	37 <sup>o</sup>	5,0 S.	65	40
Cinchoninsalz*	37 <sup>o</sup>	5,1	40	51
			238	51
Methylester	37 <sup>o</sup>	5,0	69	52
			136	58
<b>l-Amygdalinsäurenitril</b>				
(Amygdalin)*	37 <sup>o</sup>	—	24	fast vollst.
<b>Cellosidoglykolsäure*</b>				
Freie Säure mit $\frac{1}{10}$ Emulsin	34 <sup>o</sup>	—	22	negativ
„ „ „ $\frac{1}{2}$ „ <sup>o</sup>	34 <sup>o</sup>	—	30	33

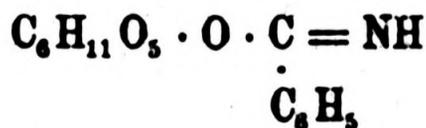
	Ver- suchs- tempe- ratur	Exponent der Konzen- tration der Wasserstoff- ionen pH	Dauer des Versuchs in Stunden	Prozent der Hydrolyse
Natriumsalz	34°	5,4 Ac.	30	41
„ (and. Präp.)	34°	5,3 Ac.	24	43
Amid * 1)	35°	—	26	92
„ (and. Präp.)	35°	—	26	95
Nitril <sup>0</sup> 1)	34°	—	24	92—96
Glukosidosyringasäure <sup>2)</sup> *				
„ mit 1/10 Emulsin	34°	3 S. (ungef.)	40	5
„ „ 1/2 „	34°	—	22	43
„ „ 1/2 „	34°	3,7 S. (ungef.)	22	45
Glukosidogallussäure *				
„ mit 1/10 Emulsin	34°	—	22	32
		—	40	44
„ „ 1/10 „ (and. Präp.)	34°	—	40	50
β-Bromallyl-d-Glukosid *	36°	—	24	96
β-Methylglukosid-6-brom- hydrin *	36°	—	24	negativ
	36°	5,3 Phos.	70	„
β-Methyl-d-iso rhamnosid *				
mit 1/10 Emulsin	36°	—	22	22
			140	67
„ 1/10 „	36°	5,3 Phos.	22	21
„ 1/5 „	36°	—	70	78
	36°	—	140	95

<sup>1)</sup> E. Fischer und G. Anger, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 52, S. 866 ff. (1919).

<sup>2)</sup> Die Säure ist in Wasser so schwer löslich, daß aus der 5%igen Lösung bei 34° langsam ein Teil auskristallisiert. Dadurch wird natürlich pH verändert, aber auch der Prozentsatz der Hydrolyse beeinflußt. Die angegebenen Werte sind also mit einem nicht unerheblichen Fehler belastet. Da sie aber für den verfolgten Zweck genügen, so sind keine weiteren Versuche angestellt worden.

3. Bei den Salzen zeigen sich kleine quantitative Unterschiede, die aber unregelmäßig sind und von Zufälligkeiten abhängen können.
4. Die Derivate der Glukosido- $\alpha$ -oxyisobuttersäure sind auffallend resistent; denn die Salze zeigen kaum eine Spaltung und auch bei Ester, Amid und Nitril (Linamarin) geht die Hydrolyse sehr langsam von statten. Bei dem Nitril ist diese Erscheinung längst bekannt, denn unsere Beobachtungen sind hier im wesentlichen nur eine Bestätigung der Angaben von H. Armstrong und Horton. Offenbar hängt das zusammen mit der Bindung des Zuckerrestes an das tertiäre Kohlenstoffatom. Auch bei dem Amylenhydratglukosid, wo ebenfalls der Zuckerrest an eine tertiäre Alkoholgruppe gebunden ist, findet die Hydrolyse durch Emulsin verhältnismäßig langsam statt<sup>1)</sup>.
5. Bei der Glukosidomandelsäure besteht ein Unterschied zwischen den Derivaten der d- und l-Mandelsäure. Denn die Salze und das Amid der d-Mandelsäure werden nicht angegriffen. Dagegen werden die Salze der l-Verbindung offenbar gespalten, wie die Versuche mit dem Gemisch der beiden Glukosidomandelsäuren zeigen.

Die natürlich vorkommenden Nitrile der Glukosidomandelsäure (Mandelnitrilglukosid und Sambunigrin) werden, wie bekannt, beide leicht von dem Emulsin angegriffen. Die Asymmetrie des einen Kohlenstoffatoms in dem Mandelnitrilrest ist also für die Wirkung des Enzyms ohne Bedeutung. Bekanntlich werden aber diese beiden Nitrile auch schon durch sehr geringe Mengen Basen bei gewöhnlicher Temperatur ineinander umgewandelt, und ich habe auf die Möglichkeit hingewiesen, daß dabei vorübergehend eine tautomere Form



<sup>1)</sup> E. Fischer und K. Raske, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 42, S. 1468 (1909).

entsteht<sup>1)</sup>. Dasselbe könnte bei der Wirkung des Emulsins eintreten.

Man kann sich aber auch vorstellen, daß bei der enzymatischen Hydrolyse zuerst Blausäure abgelöst und dadurch die Asymmetrie im Mandelrest aufgehoben wird.

Noch merkwürdiger ist das Verhalten der Methyl-ester. Auch hier werden die Derivate beider Mandelsäuren durch Emulsin gespalten. Für die d-Verbindung, die im reinen kristallisierten Zustand gewonnen werden konnte, ist das direkt nachgewiesen, für die l-Verbindung folgt es aus dem Verhalten des Gemisches von d- und l-Derivat. Für Glukosido-d-mandelester wird später der Beweis erbracht, daß durch die enzymatische Hydrolyse neben Zucker der Methylester der d-Mandelsäure gebildet wird. Hier fällt also die Möglichkeit fort, daß vorübergehend eine tautomere Form ohne asymmetrisches Kohlenstoffatom entsteht.

Der Fall des Glukosido-d-mandelsäuremethylesters verdient also bei allgemeinen stereochemischen Betrachtungen über Zusammenhang von Enzymwirkung und Konfiguration eine besondere Berücksichtigung.

6. Komplizierter liegen die Verhältnisse bei der Amygdalinsäure und ihren Derivaten; denn sie leiten sich ab von einem Disaccharid, das selbst von Emulsin angegriffen und in Traubenzucker verwandelt wird. Hier hat man also zu unterscheiden zwischen der Abspaltung von einem Molekül Traubenzucker aus dem Disaccharid und der Loslösung des zweiten Moleküls Traubenzucker aus der Glukosidgruppe. Infolgedessen ist zu erwarten, daß bei den Salzen der d-Amygdalinsäure höchstens die Hälfte der theoretisch möglichen Menge Traubenzucker entstehen kann, was mit den Beobachtungen übereinstimmt. Bei den Deriv-

---

<sup>1)</sup> Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 50, S. 1050 (1917).

vaten der l-Amygdalinsäure ist dagegen eine vollständige Loslösung des Zuckers unter günstigen Bedingungen zu erwarten. Leider kennt man diese l-Säure noch nicht in reinem Zustand. Aber die Beobachtungen bei dem Gemisch von d- und l-Säure machen jenen Schluß recht wahrscheinlich.

Bei Ester und Nitril ist nach den jetzigen Erfahrungen auch für die Derivate der d-Mandelsäure völlige Abspaltung des Zuckers als d-Glukose kaum zu bezweifeln.

Ähnlich liegen die Verhältnisse bei der Cellosidoglykolsäure und ihren Derivaten. Bemerkenswert ist die völlige Spaltung des Nitrils in Glukose und Blausäure im Gegensatz zu dem Verhalten des Nitrils der Glukosidoglykolsäure. Dieses wird unter denselben Bedingungen viel langsamer und auch unvollständiger angegriffen, was aber jedenfalls zum Teil durch die Unreinheit des Präparates verursacht wird, während das Cellosidoglykolnitril trotz seiner amorphen Beschaffenheit sich leicht in fast reinem Zustand isolieren ließ.

Bei der freien Amygdalinsäure standen unsere ersten Versuche, die mit einer kleinen Menge Emulsin (10%) ausgeführt wurden und negativ ausfielen, in Widerspruch mit einer älteren Angabe von Slimmer<sup>1)</sup>. Dieser hatte deutliche Hydrolyse beobachtet, aber über die Bedingungen des Versuches nichts Näheres angegeben. Da die Vermutung nahe lag, daß er eine viel größere Menge Emulsin verwandte, so wurden die beiden anderen in der Tabelle angeführten Versuche angestellt, bei denen die Quantität des Emulsins auf das 10- und 20fache erhöht war. Dann trat in der Tat Hydrolyse ein, aber die kolorimetrische Messung ergab auch, daß dadurch in der Konzentration der Wasserstoffionen eine erhebliche Verminderung und

<sup>1)</sup> Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 35, S. 4161 (1902).

mithin eine Annäherung an das Optimum stattgefunden hatte. Schuld daran sind offenbar die Eiweißkörper, die das gewöhnliche Emulsin enthält.

Dieses Beispiel zeigt von neuem, wie notwendig es ist, bei allen Versuchen mit Enzymen die Bedingungen genau anzuführen. Wo diese fehlen, wie das in der älteren Literatur so häufig der Fall ist, wird man gut tun, die Resultate vorsichtig zu beurteilen.

Als weiteres Beispiel dafür führe ich an die in der Einleitung erwähnten Glukoside der Vanillinsäure und Syringasäure. Für sie ist von älteren Beobachtern kurzweg angegeben, daß sie von Emulsin gespalten werden. Bei der Wiederholung der Versuche mit der Glukosyringasäure zeigte sich aber, daß eine 5%ige Lösung der Säure eine Konzentration der Wasserstoffionen von ungefähr  $10^{-2}$  hat, also für die Wirkung des Emulsins zu sauer ist. In der Tat findet hier nur sehr geringe Hydrolyse (einige Prozent) statt, wenn man nur  $\frac{1}{10}$  von dem Gewicht der Säure an Emulsin zusetzt. Wird aber die Menge des Emulsins 5mal so groß gewählt, so tritt so starke Hydrolyse ein, daß in 22 Stunden bei  $35^{\circ}$  etwa 43% des Glukosids gespalten sind. Die kolorimetrische Untersuchung zeigte auch hier, daß durch die große Menge des Ferments die Konzentration der Wasserstoffionen stark zurückgegangen war.

Etwas anders liegen die Verhältnisse bei der Glukosidogallussäure. Denn hier tritt schon bei Anwendung von  $\frac{1}{10}$  Emulsin in 5%iger wäßriger Lösung eine ziemlich erhebliche Hydrolyse ein, die sich natürlich mit der Erhöhung der Emulsinmenge unter Neutralisation der Flüssigkeit noch erheblich steigert<sup>1)</sup>.

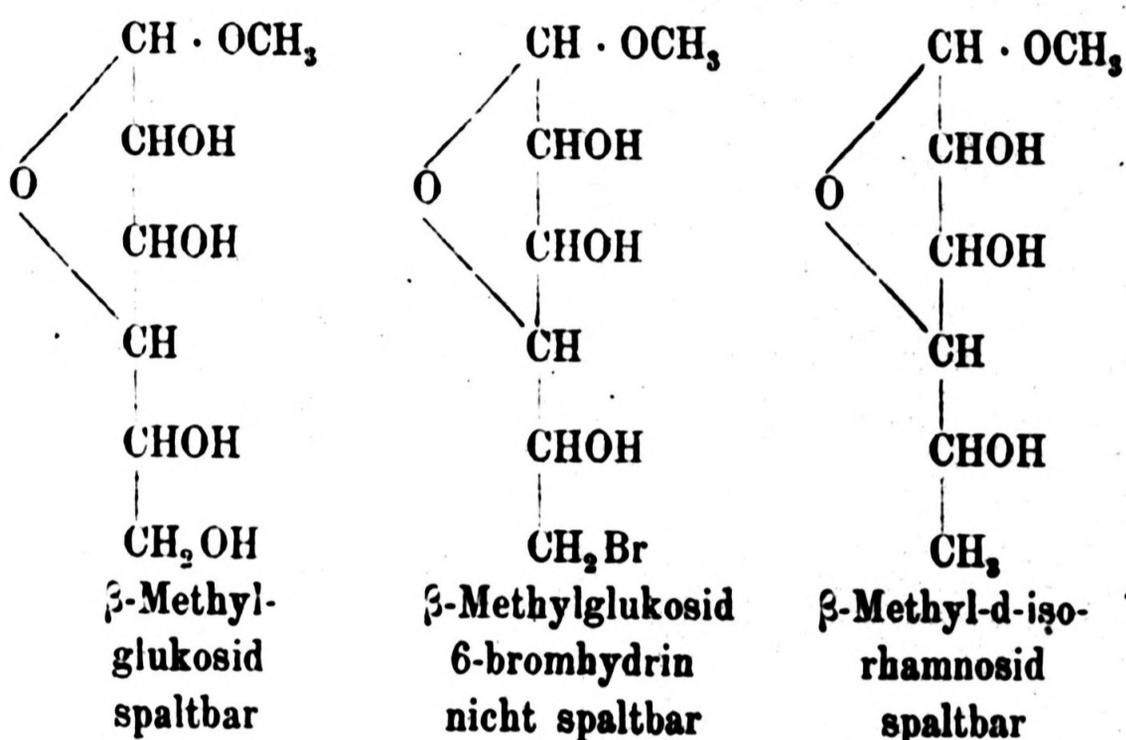
In ähnlichem Sinne ist wohl auch meine schon recht alte Beobachtung über die Indifferenz der Lactobion-

---

<sup>1)</sup> E. Fischer und H. Strauß, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 45, S. 3773 (1912).

säure<sup>1)</sup> und ihres Calciumsalzes gegen Emulsin zu deuten, die mir damals wegen der Verwandtschaft dieser Präparate mit dem Milchzucker auffällig erschien. Der Versuch sollte deshalb mit Berücksichtigung der Konzentration der Wasserstoffionen wiederholt werden.

7. Das negative Verhalten des 6-Bromhydrins des  $\beta$ -Methylglukosids ist sehr auffällig. Denn wie ein Blick auf die drei folgenden Strukturformeln



zeigt, steht es in der Mitte zwischen dem  $\beta$ -Methylglukosid und dem  $\beta$ -Methyl-d-isorhamnosid. Auch die Konfiguration des Zuckerrestes ist in allen drei Fällen gleich. Da nun das Brom allein die Wirkung des Emulsins nicht verhindert, wie das Verhalten des Bromallylglukosids zeigt, so liegt hier ein neuer Beweis für die außerordentlich feine Spezifität des Enzyms vor.

Noch merkwürdiger ist das negative Verhalten der beiden Methylxyloside gegen Emulsin und Hefenzym, auf das ich früher<sup>2)</sup> ausführlich hingewiesen habe. Voraussetzung für die damals gemachten Betrachtungen ist allerdings die Annahme, daß die beiden

<sup>1)</sup> E. Fischer, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 22, S. 361 (1889).

<sup>2)</sup> E. Fischer, Diese Zeitschr. Bd. 26, S. 68 (1898) und Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 45, S. 3765 (1912).

Xyloside eine ähnliche Struktur wie die  $\beta$ -Glukoside inbezug auf den Oxydring haben. Früher hat man das für selbstverständlich gehalten. Seitdem aber das  $\gamma$ -Methylglukosid<sup>1)</sup> existiert, muß man mit dieser Voraussetzung vorsichtig sein. Immerhin spricht das ganze Verhalten der Methylxyloside, besonders ihre relative Beständigkeit gegen Mineralsäuren, dafür, daß sie wirklich die gleiche Struktur wie die  $\alpha$ - und  $\beta$ -Glukoside haben.

Im allgemeinen werden bei ähnlicher Struktur die Glukoside der Phenole und Phenolcarbonsäuren leichter gespalten als die Derivate der aliphatischen Alkohole und Alkoholsäuren.

Das gilt aber nicht allein für die Wirkung des Emulsins, sondern auch für die Hydrolyse durch Säuren. Ich habe dies früher schon durch einen Vergleich von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Methylglukosid mit den entsprechenden Phenolglukosiden bewiesen. Das Resultat der Versuche ist in der folgenden Tabelle mit einigen neuen Beobachtungen zusammengestellt.

Mit der 25fachen Menge  $n/_{10}$ -Salzsäure 30 Minuten auf  $100^{\circ}$  erhitzt werden hydrolysiert:

von $\beta$ -Glukosidogallussäure . . . . .	96 %
„ Glukosido-dl-mandelsäure . . . . .	7 %
„ $\alpha$ -Methylglukosid (B 49,2818) [1916]	4,5 %
„ $\beta$ -Methylglukosid „ „ „	9 %
„ $\alpha$ -Phenolglukosid „ „ „	68 %
„ $\beta$ -Phenolglukosid „ „ „	32 %

Mit der 25fachen Menge  $n/_{100}$ -Salzsäure auf  $100^{\circ}$  erhitzt werden gespalten:

$\beta$ -Glukosidogallussäure	in 30 Min.	13 %
„ „	in 2 Std.	44 %
$\gamma$ -Methylglukosid	in 30 Min.	quantitativ.

Bei der Glukosidogallussäure genügt auch schon Erhitzen mit Wasser ohne Salzsäure, um langsame Autolyse herbei-

<sup>1)</sup> E. Fischer, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 47, S. 1980 (1914).

zuführen. Die Spaltung betrug 6% nach 2stündigem Erhitzen mit der 25fachen Menge Wasser auf 100°.

Glukosidomandelsäure (Gemisch von d- und l-Form).  
 $C_6H_{11}O_5 \cdot O \cdot CH \cdot C_6H_5 \cdot COOH$ .

Sie entsteht durch Verseifung des Tetracetyl-glukosidomandelsäure-äthylesters<sup>1)</sup>, der ebenfalls ein Gemisch von Derivaten der d- und l-Mandelsäure ist. Werden 12 g des fein gepulverten Esters bei Zimmertemperatur mit Wasser und überschüssigem Bariumhydroxyd (3 Mol.) geschüttelt, so löst er sich langsam auf. Nach weiterem 24stündigem Stehen wird das Barium genau mit Schwefelsäure gefällt und das Filtrat unter vermindertem Druck verdampft. Dabei bleibt die Säure als farblose amorphe hygroskopische Masse. Ausbeute nahezu theoretisch.

Sie wurde bisher nicht kristallisiert erhalten, aber trotzdem analysiert und optisch untersucht, um sie mit der reinen d-Verbindung vergleichen zu können. Zur Analyse war in trockenem Aceton gelöst, filtriert, verdampft, der Rückstand wieder mit Wasser gelöst, abermals verdampft und schließlich über Phosphorpentoxyd bei 56° und 3 mm getrocknet.

0,1820 g Subst.: 0,3580 g CO<sub>2</sub>, 0,0969 g H<sub>2</sub>O

0,1746 g Subst. (anderes Präparat): 0,3415 g CO<sub>2</sub>, 0,0908 g H<sub>2</sub>O

C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>O<sub>8</sub> (314,21): Ber. C 53,49 H 5,77

Gef. , 53,66 , 5,96

   , 53,36 , 5,82

$$\text{Erstes Präparat } [\alpha]_D^{16} = \frac{-2,58^\circ \times 2,8290}{0,1279 \times 1 \times 1,0193} = -56,0^\circ \text{ (in Wasser)}$$

$$\text{Zweites Präparat } [\alpha]_D^{13} = \frac{-4,03^\circ \times 1,6136}{0,1084 \times 1 \times 1,0253} = -58,51^\circ$$

Die Säure löst sich leicht in Wasser, Alkohol und warmem Pyridin, auch ziemlich leicht in Aceton, warmem Propyl- und Amylalkohol, schwerer in Essigäther und sehr schwer in Benzol und Ligroin.

Durch Diazomethan wird sie leicht in den amorphen

<sup>1)</sup> E. Fischer und M. Bergmann, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 50, S. 1052 (1917).

Methylester verwandelt. Derselbe dreht ebenfalls stark nach links.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{15} = \frac{-3,20^{\circ} \times 2,0877}{0,1440 \times 1 \times 1,0210} = -45,4^{\circ} \text{ (in Wasser).}$$

Das Natriumsalz wird von Emulsin unter den üblichen optimalen Bedingungen leicht gespalten. Aus einem Präparat, in dem 43% Zucker freigemacht waren, wurde nach dem Ansäuern die Mandelsäure durch mehrmaliges Ausschütteln mit Äther isoliert. Durch Eindunsten der filtrierten Lösung wurde die kristallisierte Säure erhalten.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = \frac{-6,07^{\circ} \times 2,0720}{0,0915 \times 1 \times 1,0118} = -135,9^{\circ} \text{ (in Wasser).}$$

Es handelt sich also um l-Mandelsäure. Die Ausbeute betrug 76% der Menge, die sich nach dem freigewordenen Zucker berechnet.

#### Glukosido-d-mandelsäure<sup>1)</sup>.

10 g der vorstehend beschriebenen amorphen Säure und 12 g Chinin (ungefähr äquimolekulare Mengen) werden in 160 ccm heißem Methylalkohol gelöst. Schon beim Erkalten kann Kristallisation erfolgen. Es ist aber bequemer, unter vermindertem Druck zu verdampfen und den Rückstand, der teilweise kristallisiert ist, mit der dreifachen Menge heißem Alkohol auszulaugen. Hierbei bleibt das kristallisierte Salz der Glukosido-d-mandelsäure zurück. Ausbeute 9–10 g. Es wird in der 20fachen Menge kochendem Wasser gelöst. Beim Abkühlen beginnt bald die Kristallisation. Um sie zu vervollständigen, läßt man längere Zeit bei 0° stehen, wobei etwa 70% des Salzes zurückgewonnen werden. Dieses Salz scheint schon ganz rein zu sein, denn bei mehrmaliger Wiederholung der Kristallisation veränderte sich das Drehungsvermögen kaum mehr.

<sup>1)</sup> Vorläufige Notiz: Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 52, S. 200 (1919). Inzwischen ist die Säure auf anderem Wege von P. Karrer, C. Nägeli und H. Weidmann dargestellt worden. Helvetica chimica acta II 259 (1919).

Das einmal umkristallisierte Produkt wurde zur Analyse bei  $100^\circ$  und 2,5 mm über  $P_2O_5$  getrocknet.

0,1252 g Subst.: 0,2938 g  $CO_2$ , 0,0770 g  $H_2O$ ;  
 0,1000 g Subst.: 4,2 ccm N ( $20^\circ$ , 767 mm, 33% KOH)  
 $C_{34}H_{42}O_{10}N_2$  (638,53) Ber. C 63,93 H 6,63 N 4,39  
 Gef. „ 64,02 „ 6,88 „ 4,87

Zur optischen Bestimmung diente die wäßrige Lösung

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{-0,80^\circ \times 3,9922}{0,0226 \times 2 \times 1,000} = -70,66.$$

Ein noch dreimal aus Wasser umkristallisiertes Produkt zeigte

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{-0,68^\circ \times 3,9976}{0,0196 \times 2 \times 1,000} = -69,35^\circ.$$

Das Salz bildet derbe, schräg abgeschnittene Prismen oder auch flächenreichere Formen. Im Kapillarrohr rasch erhitzt sintert es ab  $240^\circ$  unter zunehmender Bräunung und schmilzt gegen  $248^\circ$  (korr.) unter Zersetzung. Es löst sich in etwa 20 Teilen siedendem Wasser, erheblich schwerer in kaltem Wasser und Methylalkohol.

Zur Umwandlung in die freie Säure wird das Chininsalz in der 50fachen Menge heißem Wasser gelöst, rasch auf etwa  $10^\circ$  abgekühlt, mit einem mäßigen Überschuß von Barytwasser das Chinin gefällt, abfiltriert und der geringe Rest des Chinins aus dem Filtrat durch zweimaliges Ausschütteln mit Chloroform entfernt. Aus der abermals filtrierten Flüssigkeit fällt man das Baryum genau mit Schwefelsäure und verdampft die Mutterlauge unter geringem Druck und zuletzt im Vakuumexsikkator bis zur Trockne.

Der Rückstand ist zunächst eine amorphe glasige oder lockere schaumige Masse. Die Menge ist fast theoretisch. Löst man rasch in etwa der 7fachen Menge heißem Amylalkohol, so scheiden sich häufig schon beim Abkühlen, sonst bei längerem Stehen feine, vielfach büschelig verwachsene, biegsame Nadeln aus, die nach dem Absaugen und Trocknen rein sind. Ausbeute etwa 55% der Theorie. Beim Einengen der Mutterlauge im Vakuum entsteht eine zweite, erhebliche, aber nicht ganz so reine Kristallisation.

0,1259 g Subst. (bei 75° und 1 mm über Phosphorpentoxyd getrocknet):

0,2473 g CO<sub>2</sub>, 0,0635 g H<sub>2</sub>O

C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>O<sub>8</sub> (314,21)

Ber. C 53,49 H 5,77

Gef. „ 53,58 „ 5,64

$$[\alpha]_D^{18} = \frac{+ 2,53^\circ \times 2,3161}{0,1132 \times 1 \times 1,0145} = + 51,02^\circ \text{ (in Wasser).}$$

Ein anderes, 2mal aus Amylalkohol unkristallisiertes Präparat gab

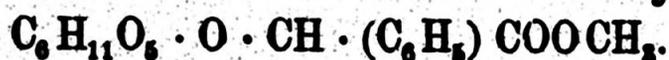
$$[\alpha]_D^{20} = \frac{+ 0,81^\circ \times 2,2726}{0,0366 \times 1 \times 1,0002} = + 50,3^\circ \text{ (in Wasser).}$$

Da das amorphe Gemisch der d- und l-Verbindung ein Drehungsvermögen von etwa  $-58^\circ$  hat, so kann man daraus schließen, daß die reine Glukosido-l-mandelsäure, die bisher unbekannt ist, sehr stark nach links drehen muß.

Die Glukosido-d-mandelsäure hat keinen scharfen Schmelzpunkt. Beim raschen Erhitzen im Kapillarrohr sintert sie von etwa  $170^\circ$  ab und schmilzt bei  $175-177^\circ$  (korr.) zu einer von Bläschen getrübbten Flüssigkeit, die gegen  $186^\circ$  stark aufschäumt. Sie löst sich leicht in Wasser, Methylalkohol und warmem Alkohol, etwas schwerer in warmem Amylalkohol, Chinolin und Pyridin, schwer in Aceton, Essigäther, Benzol, Chloroform und Äther. Sie reagiert und schmeckt sauer. Beim kurzen Kochen reduziert sie die Fehlingsche Lösung nicht.

Von warmen Mineralsäuren wird sie mäßig rasch in Zucker und d-Mandelsäure gespalten. So betrug beim einstündigen Erhitzen mit der 20fachen Menge  $n/2$ -Salzsäure die Menge des Zuckers nach dem Reduktionsvermögen berechnet etwa 60%. Zum Nachweis der d-Mandelsäure wurde eine andere Probe 3 Stunden mit der 5fachen Menge gewöhnlicher verdünnter Schwefelsäure auf  $90^\circ$  erwärmt und dann die Mandelsäure mit Äther ausgeschüttelt. Die Menge betrug 90% der Theorie und die Säure zeigte  $[\alpha]_D^{20} = + 151^\circ$ , also nahezu das Drehungsvermögen der reinen d-Mandelsäure  $[\alpha]_D^{20} = + 157,6^\circ$  (in Wasser).

#### Glukosido-d-mandelsäure-methylester



Eine auf  $0^\circ$  gekühlte Lösung von 1 g Glukosido-d-mandelsäure in 30 ccm trockenem Methylalkohol wird mit einer

stark gekühlten Lösung von Diazomethan und trockenem Äther bis zur bleibenden schwachen Gelbfärbung versetzt, dann 15 Minuten bei Zimmertemperatur aufbewahrt und unter geringem Druck verdampft. Der amorphe Rückstand kristallisiert bei längerem Aufbewahren. Man kann ihn auch in wenig Chloroform lösen und mit Tetrachlorkohlenstoff bis zur Trübung versetzen. Wird dann geimpft und gut gekühlt, so erfolgt bald reichliche Kristallisation von farblosen Nadeln, die filtriert und mit einem Gemisch von Tetrachlorkohlenstoff und Chloroform gewaschen werden. Aus der Mutterlauge erhält man nach dem Eindunsten durch abermalige Kristallisation noch erhebliche Mengen. Gesamtausbeute an lufttrockener Substanz etwa 0,65 g oder 62% der Theorie.

0,1380 g Subst., 20 Std. bei 56° und 13 mm über  $P_2O_5$  getr. verloren,  
0,0050 g  $H_2O$ , entsprechend 3,62%.

0,1612 g Subst. (mit 3,62%  $H_2O$ ): 0,3115 g  $CO_2$ , 0,0911 g  $H_2O$ ,

0,1329 g Subst. (getr.) 0,2690 g  $CO_2$ , 0,0720 g  $H_2O$ ,

$C_{15}H_{20}O_8$  (328,24) Ber.: C 54,86 H 6,14,

Gef.: „ 54,68 „ 6,14,

„ 55,22 „ 6,06.

$$[\alpha]_D^{19} = \frac{+ 0,65^\circ \times 2,0215}{0,0631 \times 0,5 \times 1,0106} = + 41,2^\circ \text{ (in Wasser),}$$

$$[\alpha]_D^{15} = \frac{+ 0,81^\circ \times 1,5510}{0,0607 \times 0,5 \times 1,0135} = + 40,8^\circ \text{ (in Wasser).}$$

Der Ester schmilzt nach vorherigem Sintern oft nicht sehr scharf bei 88–89°. Er löst sich leicht in Wasser mit neutraler Reaktion und reduziert Fehlingsche Lösung bei kurzem Kochen nicht. Es löst sich auch leicht in Alkohol, Essigäther, Chloroform und Pyridin, schwerer in Aceton und noch schwerer in Äther, Kohlenstofftetrachlorid und Benzol.

Um ihn als Derivat der d-Mandelsäure zu kennzeichnen, wurden 0,304 g mit 3 ccm 2 n-Schwefelsäure 4 Stunden verschlossen in einem Bad von 90° aufbewahrt. Die freie Mandelsäure wurde durch 3maliges Ausschütteln mit je 10 ccm Äther, Filtrieren und Eindunsten bei Zimmertemperatur in einer Ausbeute von 0,1007 g (etwa 70% der Theorie) kristallisiert erhalten. Sie schmolz nach geringem Sintern bei

133—134° (korr.) und erwies sich als d-Verbindung  $[\alpha]_D^{15} = +154,7^\circ$  (in Wasser).

Von Emulsin wird der Ester leicht gespalten (vergl. Tabelle). Dabei entsteht d-Mandelsäure-methylester. Der Versuch wurde in 5%iger Lösung bei 35° und  $p_H = 5$  mit Emulsin ( $\frac{1}{10}$  vom Gewicht der Substanz) ausgeführt und dauerte 46 Stunden. Der d-Mandelsäure-methylester ließ sich leicht durch mehrmaliges Ausäthern isolieren und wurde in kristallisierter Form mit dem Schmelzpunkt 55—58° isoliert. Die Ausbeute betrug in einem Falle etwa 90%, bei einem anderen Versuche aber nur 46% der Menge, die der Quantität des entstandenen Zuckers entsprechen würde. Der Verlust war im zweiten Falle vielleicht durch eine teilweise Verseifung bei der langen Dauer des Versuches verursacht. Der Ester besaß in 5%iger acetonischer Lösung das Drehungsvermögen  $[\alpha]_D^{17} + 130^\circ$ , während für den reinen l-Mandelsäure-methylester  $[\alpha]_D^{320} - 145,4^\circ$ , allerdings ohne Anführung des Lösungsmittels angegeben ist<sup>1)</sup>.

#### d-Amygdalinsäure.

Sie wird aus der gewöhnlichen Amygdalinsäure über das Cinchoninsalz gewonnen. Um letzteres herzustellen, löst man 6,5 g gewöhnliche Amygdalinsäure (aus Amygdalin durch Kochen mit Bariumhydroxyd hergestellt) und 4 g gepulvertes Cinchonin in einem heißen Gemisch von Methyl- und Äthylalkohol. Verdampft man dann unter vermindertem Druck, so bleibt ein farbloser schaumiger Rückstand. Er wird in etwa 15 ccm kaltem Wasser gelöst, die trübe Flüssigkeit am besten durch ein Membranfilter filtriert und das klare farblose Filtrat auf dem Wasserbade zum Sirup eingedampft. Bei längerem Stehen tritt Kristallisation ein, die durch Impfen und Reiben sehr beschleunigt werden kann. Die Masse verwandelt sich dabei in einen Brei langer feiner Nadeln, der schließlich halbfest wird. Er wird zunächst mit etwa 5 ccm eiskaltem Wasser verrieben und scharf abgesaugt, dann mit

<sup>1)</sup> Guye und Aston, Compt. rend. Bd. 124, S. 196 (1897).

wenig kaltem Alkohol in gleicher Weise behandelt. Ausbeute etwa 3,8 g. Zur völligen Reinigung wird in der doppelten Menge warmem Wasser gelöst und durch Kühlen auf 0° wieder kristallisiert.

Zur Analyse wurde bei 56° und 4 mm über Phosphor-pentoxyd getrocknet.

0,1611 g Subst.: 0,3601 g CO<sub>2</sub>, 0,0993 g H<sub>2</sub>O,  
 0,1887 g „ : 6,25 ccm N (17°, 760 mm, 33% KOH),  
 0,1397 g „ : (anderes Präparat) 0,3112 g CO<sub>2</sub>, 0,0842 g H<sub>2</sub>O;  
 0,1470 g Subst.: 4,45 ccm N (15°, 771 mm, 33% KOH).  
 C<sub>39</sub>H<sub>50</sub>N<sub>2</sub>O<sub>14</sub> (770,62) Ber.: C 60,75 H 6,54 N 3,64,  
 Gef.: „ 60,77 „ 6,74 „ 3,60,  
 „ 60,98 „ 6,90 „ 3,85.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{18} = \frac{+ 1,70^{\circ} \times 1,7922}{0,0377 \times 1 \times 1,001} = + 80,7^{\circ} \text{ (in Wasser).}$$

Nach weiterer zweimaliger Kristallisation aus der doppelten Menge lauwarmem Wasser betrug

$$[\alpha]_{\text{D}}^{13} = \frac{+ 2,71^{\circ} \times 1,5269}{0,0513 \times 1 \times 1,0116} = + 79,7^{\circ} \text{ (in Wasser).}$$

Im Kapillarrohr sintert das Salz von etwa 230° an, färbt sich braun und zersetzt sich gegen 240° (korr.) unter Aufschäumen. Es löst sich sehr leicht in warmem Wasser, auch noch recht leicht in warmem Methylalkohol. In kaltem Äthylalkohol ist es schon recht schwer löslich. Es reduziert die Fehlingsche Lösung nicht und wird durch Emulsin hydrolysiert.

0,0861 g Substanz, 0,012 g Emulsin, 3 ccm Wasser, 3 Tropfen Toluol 41 Stunden bei 38°. Nach Entfernung des Eiweißes durch Aufkochen mit Natriumacetat war das Reduktionsvermögen der Lösung so groß, daß es etwa 50% der theoretisch möglichen Menge an Traubenzucker entsprach.

Um das Salz als Derivat der d-Mandelsäure zu kennzeichnen, wurde es mit verdünnter Schwefelsäure in der Wärme hydrolysiert und die gebildete Mandelsäure ausgeäthert. Sie schmolz bei 130—131° (korr.) und zeigte  $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = + 135^{\circ}$ .

Zur Bereitung der freien d-Amygdalinsäure werden 5 g Cinchoninsalz in 50 ccm lauwarmem Wasser gelöst, nach

dem Abkühlen auf 5° mit 35 ccm kaltem n/5-Barytwasser versetzt und vom gefällten Cinchonin rasch abgesaugt. Um Spuren von Cinchonin zu entfernen, wird das Filtrat mehrmals ausgeäthert, dann der Baryt genau mit Schwefelsäure ausgefällt und die filtrierte farblose Lösung unter verminderter Druck verdampft. Die so erhaltene d-Amygdalinsäure bildet ein farbloses, nicht deutlich kristallinisches Pulver von saurem Geschmack, das aber lange nicht so hygroskopisch ist wie die gewöhnliche Amygdalinsäure.

0.1437 g Substanz (bei 13 mm, 56°, über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet),  
0,2660 g CO<sub>2</sub>, 0,0770 g H<sub>2</sub>O

C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>O<sub>13</sub> (476,32) Ber.: C 50,41 H 5,93

Gef.: „ 50,50 „ 6,00 (amorphe Substanz)

$$[\alpha]_D^{18} = \frac{+ 0,87^\circ \times 2,4284}{0,1200 \times 1 \times 1,0194} = + 17,27^\circ \text{ (in Wasser).}$$

Ein anderes Präparat

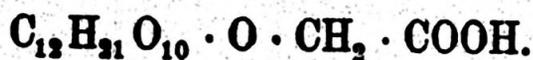
$$[\alpha]_D^{17} = \frac{+ 0,86^\circ \times 2,3248}{0,1163 \times 1 \times 1,0198} = + 16,86^\circ \text{ (in Wasser).}$$

Ein drittes Präparat gab  $[\alpha]_D^{15} + 18,0^\circ$ .

Die Säure löst sich leicht in Wasser, Methyl- und Äthylalkohol und in warmem Amylalkohol, dagegen ziemlich schwer in Aceton und Essigäther.

Wie aus der früheren Tabelle ersichtlich ist, werden die Salze der Säuren bei richtiger Konzentration der Wasserstoffionen von Emulsin gespalten. Die Menge des erhaltenen Zuckers blieb immer unter 50% der berechneten Menge. Es ist deshalb wahrscheinlich, daß die d-Amygdalinsäure unter diesen Umständen die Hälfte ihres Traubenzuckers verliert und in Glukosido-d-mandelsäure übergeht. Isoliert wurde diese aber nicht.

### Cellosido-glykolsäure.



10 g fein gepulverter, reiner Heptacetylcellosidoglykolester<sup>1)</sup> werden mit 30 g gepulvertem, kristallisiertem Barium-

<sup>1)</sup> E. Fischer und G. Anger, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 52, S. 864 (1919).

hydroxyd und 500 ccm Wasser bis zur Lösung geschüttelt, was mehrere Stunden in Anspruch nimmt. Die Flüssigkeit bleibt dann noch  $1\frac{1}{2}$ —2 Tage bei gewöhnlicher Temperatur stehen. Da die genaue Ausfällung des Bariums mit Schwefelsäure aus einem unbekanntem Grunde hier ungewöhnliche Schwierigkeiten bereitet, so ist es besser, die Cellosidoglykolsäure als Bleisalz zu isolieren. Für den Zweck wird zunächst der allergrößte Teil des Bariums mit Schwefelsäure kalt gefällt, die filtrierte Lösung, die keine überschüssige Schwefelsäure enthalten darf, auf etwa 50 ccm unter geringem Druck eingeengt, dann stark ammoniakalisch gemacht und mit 50 ccm einer 10%igen Lösung von neutralem Bleiacetat gefällt. Der farblose amorphe Niederschlag wird abgesaugt, mit schwach ammoniakalischem Wasser gründlich gewaschen, um die Bariumsalze völlig zu entfernen, dann auf Ton getrocknet, gepulvert, in 100 ccm Wasser sorgfältig aufgeschlämmt und unter kräftigem Schütteln mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Die von Bleisulfid abfiltrierte Lösung hinterläßt beim Verdampfen unter geringem Druck die Cellosidoglykolsäure als farblose schaumige Masse. Diese löst sich bis auf einen ganz geringen flockigen Rückstand in wenig trockenem Methylalkohol. Versetzt man die Lösung bis zur Trübung mit Essigester und läßt im Vakuumexsikkator verdunsten, so scheidet sich die Cellosidoglykolsäure in mikroskopischen, ziemlich kompakten, vielfach zu Aggregaten vereinigten Kristallen ab. Ausbeute etwa 3 g oder 55% der Theorie.

Zur Analyse wurde bei  $78^\circ$  und 12 mm über Phosphor-pentoxyd getrocknet.

0,1443 g Substanz gaben 0,2216 g  $\text{CO}_2$  und 0,0790 g  $\text{H}_2\text{O}$ .

$\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{O}_{13}$  (400,26) Ber.: „ 41,99 „ 6,04.

Gef.: C 41,89 H 6,12.

Das gleiche Präparat zeigte

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = \frac{-2,74^\circ \times 1,4560}{1 \times 1,046 \times 0,1487} = -25,65^\circ \text{ (in Wasser).}$$

Bei einem anderen Präparat war

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = \frac{-2,59^\circ \times 1,6201}{1 \times 1,044 \times 0,1601} = -25,12^\circ \text{ (in Wasser).}$$

Beim raschen Erhitzen im Capillarrohr zersetzt sich die Säure nach vorherigem Sintern gegen  $195^{\circ}$ . Sie löst sich leicht in Wasser, dagegen ist sie, wenn einmal kristallisiert, im Gegensatz zur amorphen Form auch in warmem Methylalkohol ziemlich schwer löslich. In den übrigen indifferenten gebräuchlichen organischen Solventien ist sie sehr wenig oder gar nicht löslich. Sie reduziert die Fehlingsche Lösung auch bei längerem Erwärmen nicht.

---

Bei der Mehrzahl dieser Versuche habe ich mich der wertvollen Hilfe des Herrn Dr. Hartmut Noth erfreut.

Zum Schluß bin ich auch von Fräulein Dr. Anger unterstützt worden. Ich sage beiden dafür meinen herzlichen Dank.

---