



Emil Fischer, E. Frankland Armstrong

Synthese einiger neuen Disaccharide

In:

Sitzungsberichte der Königlich Preussischen Akademie der Wissenschaften zu Berlin. –
Berlin: Verlag der Königlich Akademie der Wissenschaften (in Commission bei Georg
Reimer)

Jahrgang 1901 : Erster Halbband (Januar bis Juni)

S. 123-131

Persistent Identifier: [urn:nbn:de:kobv:b4-opus4-40448](https://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:kobv:b4-opus4-40448)

Synthese einiger neuen Disaccharide.

VON EMIL FISCHER UND E. FRANKLAND ARMSTRONG.

Das älteste künstliche Disaccharid, die Isomaltose, wurde durch Einwirkung von kalter, starker Salzsäure auf Traubenzucker gewonnen.¹ Das Verfahren ist zwar auf die Isomeren der Glucose anwendbar, hat aber den Nachtheil, dass es nur kleine Mengen von Disaccharid neben grossen Quantitäten von dextrinartigen Producten liefert. Wir haben uns deshalb bemüht, die Einwirkung der Acetochlorglucose² und analoger Substanzen auf die Natriumverbindungen der Hexosen, welche man schon wiederholt zum künstlichen Aufbau des Rohrzuckers versucht hat, zu einer brauchbaren Synthese von anderen Disacchariden auszubilden, und es ist uns in der That gelungen, auf diese Art drei bisher unbekannte Zucker vom Typus der Maltose zu gewinnen.

Sie entstehen durch Einwirkung von Acetochlorglucose auf die Natriumverbindung der Galactose oder durch Combination der Acetochlorgalactose mit Glucose und Galactose. Da wir der Ansicht sind, dass alle diese Producte eine ähnliche Structur wie die Glucoside³ haben und dass die glucosidartige Gruppe durch die Aldehydgruppe des Chlorkörpers gebildet wird, so nennen wir die drei Disaccharide Glucosidogalactose, Galactosidoglucose und Galactosidogalactose.⁴

Sie bilden mit Phenylhydrazin Osazone, welche ebenso wie das Maltosazon und Laetosazon in heissem Wasser ziemlich leicht löslich sind und deshalb von den Osazonen der Monosaccharide getrennt werden können. Dieser Umstand hat die Auffindung der neuen Zucker und die Feststellung ihrer Zusammensetzung ermöglicht. Für die Rückverwandlung der Osazone in die zugehörigen Disaccharide ist leider bisher keine brauchbare Methode bekannt.

Die Combination von Acetochlorglucose mit Glucose, welche am nächsten lag, hat uns bisher wenig befriedigende Resultate gegeben.

¹ EMIL FISCHER, Ber. d. D. chem. Ges. 23, 3687 (1890).

² Dem Vorschlag von KOENIGS und KNORR (K. bayer. Akad. d. Wiss. 1900, XXX, Heft 1) folgend, brauchen wir diesen Namen an Stelle von Acetochlorhydrose.

³ EMIL FISCHER, Ber. d. D. chem. Ges. 26, 2403 (1893).

⁴ Die Namen sind ebenso gebildet wie diejenigen der Glucosidosäuren. Vergl. E. FISCHER und L. BEENSCH, Ber. d. D. chem. Ges. 27, 2478 (1894).

Es entsteht zwar auch hier eine Substanz, welche ein in heissem Wasser lösliches Osazon liefert; aber ihre Menge ist so gering, dass die genaue Untersuchung noch nicht durchgeführt werden konnte.

Um die drei Disaccharide, welche bisher in reinem Zustande nicht dargestellt werden konnten, näher zu charakterisiren, haben wir ihr Verhalten gegen Hefen und einige Enzyme geprüft. Für die Versuche mussten allerdings Lösungen verwendet werden, welche ausser den Zuckern noch reichliche Mengen von Salzen enthielten, die vielleicht nicht ganz ohne Einfluss auf die Wirkung der Fermente geblieben sind. Trotzdem scheinen uns die Resultate recht bemerkenswerth.

Von obergäriger Hefe wird keiner der drei Zucker in merklicher Weise vergoren, und man kann sie also auf diese Art von den beigemengten Monosacchariden befreien. Andererseits zerstört Unterhefe die Glucosidogalactose und Galactosidoglucose, aber nicht die Galactosidogalactose.

Emulsin, welches bekanntlich die β -Glucoside und den Milchezucker spaltet, bewirkt bei 35° und mehrtägigem Stehen auch die Hydrolyse der drei neuen Disaccharide.

Wählerischer ist die Kefirlactase, denn sie spaltet nur die Glucosidogalactose.

Um den Vergleich mit dem nahe verwandten Milchezucker und der Melibiose zu erleichtern, stellen wir die Beobachtungen in der folgenden Tabelle zusammen, worin die schon bekannten Fälle durch * bezeichnet sind und der negative Ausfall des Versuchs durch einen Horizontalstrich ausgedrückt ist.

	Milchezucker	Melibiose	Galactosidoglucose	Glucosidogalactose	Galactosidogalactose
Unterhefe	—*	vergoren*	vergoren	vergoren	—
Emulsin	hydrolysirt*	hydrolysirt	hydrolysirt	hydrolysirt	hydrolysirt
Kefirlactase	hydrolysirt*	—	—	hydrolysirt	—

Galactosidoglucose.

Die für den Versuch erforderliche Acetochlorgalactose, welche bisher in der Litteratur nicht beschrieben ist¹, wurde analog der Acetochlorglucose² durch Einwirkung von 5 Molekülen Acetylchlorid auf 1 Molekül Galactose in verschlossenem Rohr dargestellt. Da der Verlauf der Reaction von kleinen Änderungen der Bedingungen stark beeinflusst ist, so scheint es uns nützlich, sie ausführlich zu beschreiben.

¹ RYAN, Chem. Soc. Journal 1899, 196, führt zwar an, dass er Acetochlorgalactose auf β -Naphthol habe einwirken lassen, macht aber über die Eigenschaften derselben keine Mittheilung.

² COLLEY, Ann. chim. et phys. (IV.) 21. 363; RYAN, a. a. O.

18^{er} reine Galactose, welche sehr fein gepulvert, gesiebt und schliesslich scharf bei 100° getrocknet ist, werden im starken Einschmelzrohr erst in einer Kältemischung gekühlt, dann mit 35^{er} frisch destillirtem Acetylchlorid übergossen und das Rohr mit der Vorsicht zugeschmolzen, dass keine Wasserdämpfe hineingelangen. Versäunt man das Abkühlen des Rohrs, so ist es wegen der alsbald eintretenden Entwicklung von Salzsäure nicht mehr möglich abzuschmelzen.

Die Reaction wird durch andauerndes Schütteln sehr beschleunigt und ist an warmen Sommertagen in 10–15 Stunden beendet: man erkennt das an der völligen Auflösung des Zuckers. Unter 10° erfordert die Operation viele Tage. Im Winter ist es deshalb empfehlenswerth, das Rohr in einem Schüttelbade auf 35° zu erwärmen, wodurch die Operation auf etwa 6 Stunden abgekürzt ist.

Nach dem Öffnen des gutgekühlten Rohrs, wobei viel Salzsäure entweicht, wird der schwachgelbe Syrup in etwa 75^{cem} Aether gelöst, mit 25^{cem} Eiswasser versetzt, gut abgekühlt und nun allmählich unter häufigem Umschütteln ein Überschuss von Natriumbicarbonat zugefügt, um alle Salzsäure und etwa unverändertes Acetylchlorid zu entfernen. Die aetherische Lösung wird schliesslich abgehoben, filtrirt und eine Stunde über Chlorecalcium getrocknet. Es ist vortheilhaft, die Wäsche der aetherischen Lösung möglichst rasch auszuführen, da auch die Acetochlorgalactose gegen Wasser ziemlich empfindlich ist. Beim Verdunsten der aetherischen Lösung bleibt ein farbloser Syrup, welcher nach dem Halogengehalt etwa 60 Procent Acetochlorgalactose enthält. Dieses Product haben wir direct für die Synthese benutzt.

Der Syrup ist in kaltem Wasser unlöslich und giebt beim Erwärmen damit leicht Salzsäure ab. Er reducirt die FEHLING'sche Lösung beim Erwärmen. Auch mit Alkohol, worin er leicht löslich ist, reagirt er in der Kälte langsam unter Bildung von Salzsäure und Essigaether. Er ist in Chloroform und Aether leicht, in Benzol schwerer und in Ligroin fast gar nicht löslich. Beim Erhitzen über 50° zeigt er schon eine beginnende Zersetzung. Man sieht aus allen diesen Beobachtungen, dass die Verbindung der Acetochlorglucose sehr ähnlich ist.

Bemerkenswerth ist, dass die Darstellung misslingt, wenn die Behandlung der Galactose mit Acetylchlorid in offenen Gefässen vor sich geht, gerade so wie RYAN es für die Acetochlorglucose beobachtete. Offenbar ist die comprimirte Salzsäure für die Bildung der Chlorkörper günstig.

Für die Bereitung des Disaccharids wird die Acetochlorgalactose mit Glucose-Natrium in kalter, wässerig-alkoholischer Lösung zusammengebracht. Man verwendet dabei zweckmässig folgende Mengen:

- 18^{gr} reiner Glucose in 90^{cem} Wasser,
 2^{gr} 3 Natrium in 70^{cem} Alkohol von 96 Procent,
 36^{gr} Acetochlorgalactose (d. h. das Product, welches aus 18^{gr}
 Galactose entsteht) in 70^{cem} Alkohol.

Sie werden alle drei auf 0° abgekühlt, dann mischt man zunächst die beiden ersten und fügt sie, wiederum unter guter Abkühlung, zu der Lösung der Acetochlorgalactose. Die Mengen von Wasser und Alkohol sind so gewählt, dass hierbei keine Fällung entsteht. Die klare Flüssigkeit bleibt jetzt bei Zimmertemperatur drei Tage stehen und wird dann zur Verseifung der Acetylverbindungen mit 15^{cem} Natronlauge (33 Procent) versetzt. Dabei verändert sich die Farbe von Hellgelb zu Dunkelbraun. Die Verseifung pflegt in 12 Stunden bei Zimmertemperatur beendet zu sein, was man daran erkennt, dass eine Probe auf Zusatz von Wasser klar bleibt.

Die jetzt nur mehr schwach alkalische Flüssigkeit wird mit verdünnter Salzsäure ganz schwach angesäuert, dann der Alkohol und Essigäther im Vacuum abdestillirt und die dunkle wässrige Flüssigkeit zur Klärung einige Minuten mit Thierkohle gekocht, wobei sie hellgelb wird. Für die Isolirung des Disaccharids wurde das Osazon benützt.

Phenylgalactosidoglucoazon.

In der wässrigen Lösung des Zuckers, welche Mono- und Disaccharide enthält, wird der Zuckergehalt titrimetrisch bestimmt, dann so weit verdünnt, dass die Reductionskraft ungefähr 10 Procent Traubenzucker entspricht.

100^{cem} von dieser Flüssigkeit werden mit 15^{gr} reinem Phenylhydrazin, 10^{cem} Essigsäure von 50 Procent und 10^{gr} Kochsalz versetzt und zwei Stunden auf dem Wasserbade erhitzt. Dabei scheidet sich ein Gemisch von Glucoazon und Galactosazon aus, welches heiss filtrirt wird. Aus der Mutterlauge krystallisirt beim Abkühlen das Osazon des Disaccharids allerdings noch gemischt mit kleineren Mengen von Glucoazon und Galactosazon. Die Mutterlauge giebt nach abermaligem einstündigen Erwärmen eine neue Krystallisation, welche vorzugsweise aus dem Osazon des Disaccharids besteht.

Das Rohproduct sieht schmutzig gelb aus. Es wird filtrirt, mit kaltem Wasser gewaschen, sorgfältig abgesaugt und dann mehrmals mit Aether gewaschen, welcher einen grossen Theil der rothbraun gefärbten Verunreinigungen wegnimmt. Schliesslich wird es mit 80 Theilen Wasser 10–15 Minuten ausgekocht, wobei die Osazone der Monosaccharide fast vollständig zurückbleiben. Aus dem Filtrat fällt beim Abkühlen das Galactosidoglucoazon als hellgelbe flockige Masse, welche

aus mikroskopisch kleinen Nadeln besteht. Die Ausbeute betrug durchschnittlich auf obige Mengen 1^{er} oder 14 Procent der angewandten Glucose. Die Menge des Disaccharids ist aber zweifellos viel grösser, da die Osazonbildung bei allen Disacchariden recht unvollkommen stattfindet.

Das Osazon, welches in trockenem Zustand ziemlich dunkel aussieht, wird zur Reinigung in wenig heissem Essigaether gelöst und krystallisirt daraus langsam in gelben mikroskopischen Nadeln.

Für die Analyse diente ein Praeparat, welches im Vacuum getrocknet war und bei 153–155° (corr. 155–157°) schmolz.

1. 0^{er}2200 Subst. gaben 0^{er}4461 CO₂ und 0^{er}1246 H₂O,
2. 0^{er}0682 " " 6^{cem}4 N (14^o5, 756^{mm}),
3. 0^{er}0954 " " 0^{er}1929 CO₂.

Berechnet für C ₂₄ H ₃₂ O ₉ N ₄		Gefunden		
		1.	2.	3.
C 55.38 Procent		C 55.30	—	55.14 Procent
H 6.15 " "		H 6.29	—	" "
N 10.77 " "		N —	10.96	— "

Die Verbindung verlangt zur Lösung ungefähr 110 Theile kochendes Wasser. In Alkohol, Pyridin, Aceton ist sie sehr leicht löslich und krystallisirt beim Erkalten nur sehr langsam. Etwas schwerer löst sie sich in Essigaether und viel schwerer in Chloroform. Benzol und Toluol, woraus sie sich in der Kälte rasch in kleinen Nadeln ausscheidet. Toluol empfiehlt sich deshalb als Reinigungsmittel. In Aether und Ligroin ist sie fast unlöslich.

Glucosidogalactose.

Die Darstellung des Zuckers aus Acetochlorglucose und Galactose war genau dieselbe, wie im vorhergehenden Falle. Zur Isolirung diente wieder das Phenylosazon.

Phenylglucosidogalactosazon.

Es wurde ebenfalls aus einer Lösung, die nach der titrimetrischen Bestimmung 10^{er} Zucker enthielt, dargestellt. Das etwas dunkle leicht lösliche Osazon wog 0^{er}8: es wurde zur Analyse einmal aus Toluol umkrystallisirt und bei 100° getrocknet. Es sah dann hellgelb aus und schmolz scharf bei 172–174° (corr. 175–177°).

- 0^{er}1376 Subst. gaben 0^{er}2790 CO₂ und 0^{er}0775 H₂O.
 0^{er}1025 " " 9^{cem}5 N (16^o. 770^{mm}).

oder doch nur äusserst langsam vergoren. Man kann deshalb mit dieser Hefe die Monosaccharide grösstentheils entfernen, ohne das Disaccharid zu zerstören.

15^{cem} der Zuckerlösung, welche nach der Titration mit FEHLING'scher Lösung ungefähr 2^{gr} Gesamtzucker enthielt, wurden mit Wasser auf 40^{cem} verdünnt, nach Zusatz von 5^{cem} Hefenwasser aufgeköcht, nach dem Erkalten mit $\frac{1}{2}$ ^{gr} feuchter Oberhefe (Reincultur) unter den üblichen Vorsichtsmaassregeln versetzt und bei 30° gehalten.

Bei der Galactosidoglucose war die Anfangs starke Entwicklung von Kohlensäure schon nach 2 Tagen beendet. Bei der Glucosidogalactose dauert es 4 und bei der Galactosidogalactose 8 Tage. Die Probe mit Phenylhydrazin ergab dann, dass die Flüssigkeit keine nachweisbare Menge von Monosaccharid, wohl aber recht viel Disaccharid enthielt, und die Titration mit FEHLING'scher Lösung zeigte an, dass von den ursprünglichen 2^{gr} Zucker 0.7–0.9 übrig geblieben waren.

Derselbe Versuch wurde jetzt mit Unterhefe (ebenfalls Reincultur) wiederholt. Bei Galactosidoglucose und Glucosidogalactose war die Entwicklung von Kohlensäure nach 4 bez. 6 Tagen beendet, und die Flüssigkeit enthielt jetzt nach der Probe mit FEHLING'scher Lösung oder Phenylhydrazin keinen Zucker mehr. Bei der Galactosidogalactose dauerte die Wirkung der Hefe 14 Tage, ohne dass das Disaccharid verschwunden wäre.

Verhalten der drei neuen Zucker und der Melibiose gegen Emulsin und Kefirlactase.

Für die Versuche diente die Lösung der künstlichen Zucker, welche nach der oben beschriebenen Vergärung der Monosaccharide durch Oberhefe bleibt. Sie wurde erst aufgeköcht, um die aus der Hefe aufgenommenen Enzyme unwirksam zu machen, filtrirt und abgekühlt. Zu je 40^{cem} dieser Flüssigkeit, deren Reductionsvermögen einem Gehalt von 0^{gr}7–0^{gr}9 Traubenzucker entsprach, wurde zugesetzt entweder 1^{gr} frisches Emulsin, welches mit wenig kaltem Wasser angerieben war, oder 5^{cem} eines frischen wässerigen Lactase-Auszugs, der durch 48 stündiges Schütteln von 50^{gr} zerkleinerter Kefirkörner, 300^{cem} Wasser und 5^{cem} Toluol bei Zimmertemperatur hergestellt und filtrirt war, nebst 1^{cem} Toluol.

Jede dieser Proben blieb 72 Stunden im Brutschrank bei 35° stehen, wurde dann mit etwas Thierkohle aufgeköcht und filtrirt. Zur Erkennung der Monosaccharide diente die Probe mit Phenylhydrazin. Zu dem Zweck wurde 1^{gr} reines Phenylhydrazin, 1^{gr} 50procentige Essigsäure und 1^{gr} Chlornatrium zugesetzt. 1 $\frac{1}{2}$ Stunden

im Wasserbade erhitzt, nach völligem Erkalten das Osazon abgesaugt, mit Wasser und später mit Aether gewaschen. Nach dem Trocknen wurde das Osazon mit der 100fachen Menge Wasser $\frac{1}{4}$ Stunde ausgekocht und der unlösliche Theil gewogen.

Bei der zum Vergleich herangezogenen Melibiose wurde angewandt: 1^{gr} Zucker, 15^{ccm} Wasser, $\frac{1}{2}$ ^{gr} Emulsin oder 5^{ccm} Lactase-Auszug.

So wurden erhalten an unlöslichem Osazon:

	Emulsin	Kefirlactase
Galactosidoglucose	0.25	—
Glucosidogalactose	0.35	0.15
Galactosidogalactose	0.25	—
Melibiose	0.13	—

Zum Beweise, dass die Hydrolyse in der That durch das Ferment und nicht etwa durch das Wasser oder die in Lösung befindlichen Salze verursacht wird, haben wir noch in allen Fällen Controlproben ohne Enzym ausgeführt und niemals unlösliches Osazon erhalten.

Da durch die vorhergehenden Versuche die von uns beabsichtigte Synthese des Milchzuckers nicht verwirklicht werden konnte, so haben wir das Ziel mit Hilfe der Kefirlactase zu erreichen versucht. Bekanntlich hat CROFT HILL¹ vor anderthalb Jahren beobachtet, dass die in der Hefe enthaltene Maltase² den Traubenzucker in concentrirter Lösung partiell in ein Disaccharid verwandelt, welches mit der Maltose identisch sein soll. Obschon diese Mittheilungen des Hrn. HILL bezüglich des letzten Punktes nicht bewiesen zu sein schienen und auch thatsächlich nach den Beobachtungen des Hrn. Dr. EMERLING, welche er uns privatim mittheilte, nicht correct sind, so blieb doch immer das interessante Resultat bestehen, dass die Maltose, ähnlich den Säuren, eine reversible Bildung von Polysacchariden bewirken kann. Ähnliche Erfahrungen haben KASTLE und LOEVENHART³, sowie etwas später HANRIOT⁴, bezüglich der Lipase gemacht.

Man durfte deshalb erwarten, dass die in den Kefirkörnern enthaltene Lactase⁵ gleichfalls ein Gemisch von Glucose und Galactose zum Disaccharid verkuppeln werde. Der Versuch hat diese Vermuthung in der That bestätigt.

20^{ccm} des früher erwähnten Auszugs von Kefirkörnern wurden mit je 12^{gr} 5 reiner Galactose und Traubenzucker und ferner 3^{ccm} Toluol versetzt. Dieses Gemisch blieb bei 30° drei Monate stehen. Bei

¹ Journ. Chem. Soc. 1898. 634.

² EMIL FISCHER, Ber. d. D. chem. Ges. 27. 2988 u. 28. 1430.

³ Chemisches Centralblatt (1901. I. 263).

⁴ Compt. rend. 132. 212.

⁵ EMIL FISCHER, Ber. d. D. chem. Ges. 27. 2991.

öfterem Umschütteln löste sich der Zucker fast vollständig auf. Die Flüssigkeit wurde schliesslich filtrirt, mit der 10fachen Menge Wasser verdünnt und in der früheren Weise auf Osazon verarbeitet. Dabei resultirte ein in heissem Wasser leicht lösliches Osazon, welches zur Reinigung dreimal aus Wasser und endlich noch einmal aus siedendem Toluol krystallisirt wurde. Seine Menge betrug zum Schluss 4 Procent der angewendeten Monosaccharide. Für die Analyse war das Praeparat bei 100° getrocknet.

0.571982 Subst. gaben 0.574004 CO₂ und 0.571130 H₂O.

Berechnet für C₂₄H₃₂O₉N₄

C 55.38 Procent

H 6.15 »

Gefunden

C 55.09 Procent

H 6.33 »

Das Osazon schmolz bei 190–193° (193–196° corr.), krystallisirte in feinen gelben Nadeln und zeigte ziemlich grosse Ähnlichkeit mit dem Phenyllactosazon. Wir werden versuchen, das Disaccharid selbst zu isoliren, um es mit dem Milchzucker zu vergleichen.