

## 82. H. Kiliani: Über $\alpha$ - und $\beta$ -Antiarin und über krystallisiertes Eiweiß aus Antiaris-Saft.

[Aus der Mediz. Abteilung des Universitätslaboratoriums Freiburg i. B.]

(Eingegangen am 12. Februar 1913.)

Die weitere Untersuchung des  $\beta$ -Antiarins<sup>1)</sup> hat ergeben, daß dessen Spaltung mittels verdünnter Salzsäure einerseits Rhamnose, andererseits das gleiche Antiarigenin liefert, welches man aus dem  $\alpha$ -Antiarin erhält<sup>2)</sup>; da aber die aus dem  $\alpha$ -Antiarin gewinnbare Antiarose (loc. cit.) metamer ist mit der Rhamnose, war demnach zu vermuten, daß die beiden Glykoside (abgesehen vom Krystallwasser) auch die gleiche Formel haben, und daß die frühere, von einem Berufsanalytiker gemachte Analyse des  $\beta$ -Antiarins fehlerhaft war; eine von mir selbst ausgeführte neue Analyse hat dies bestätigt.

Ferner erschien auffällig, daß nahezu bei sämtlichen Analysen der beiden Glykoside und des Antiarigenins der Wasserstoffgehalt niedriger gefunden wurde, als der früher angenommenen Formel  $C_{27}H_{42}O_{10}$  für das Glykosid und  $C_{21}H_{30}O_5$  für das Antiarigenin entspricht; ich halte es deshalb jetzt für wahrscheinlicher, daß die Formeln abzuändern sind in  $C_{27}H_{40}O_{10}$  und für das Spaltungsprodukt in  $C_{21}H_{28}O_5$ . Eine größere Anzahl von sorgfältigst durchgeführten Spaltungsversuchen lehrte, daß man beim  $\alpha$ -Antiarin die Ausbeute an krystallisiertem Antiarigenin keinesfalls über 16 % steigern kann, und daß man aus dem  $\beta$ -Antiarin im günstigsten Falle sogar nur 10 % davon erhält neben reichlichen Mengen von Harz, welche sich für den weiteren Abbau als unbrauchbar erwiesen. Diese abnorm große Verharzung ist dadurch bedingt, daß (wie die unten beschriebenen Versuche zeigen) die beiden Glykoside bei höherer Temperatur schon vor ihrer Spaltung verharzt werden, selbst durch äußerst verdünnte Säure. Dadurch war das Vorhandensein einer sehr labilen Aldehyd- oder Keton-Gruppe im Glykosid- und Antiarigenin-Molekül wahrscheinlich geworden.

Tatsächlich konnte ich aus dem  $\alpha$ -Antiarin ein Oxim und aus dem Antiarigenin ein Semicarbazon, beide in krystallisierter Form, gewinnen, und meine ältere einschlägige Angabe, betreffend Antiarigenin<sup>3)</sup>, ist demnach zu berichtigen. Andererseits zwang aber die erwähnte unvermeidliche Verharzung unbedingt zur Aufgabe des ursprünglichen Arbeitsplanes: Um soviel Antiarigenin zu gewinnen, als zur weiteren Erforschung und namentlich zu dessen Abbau nötig erschien, hätte eine unverhältnismäßig große Menge der schwer beschaffbaren, seltenen Glykoside geopfert werden müssen. Ich habe

<sup>1)</sup> B. 43, 3574 [1910]. <sup>2)</sup> Ar. 234, 449 [1896]. <sup>3)</sup> Ar. 234, 450 [1896].

deshalb verschiedene neue Wege versucht: 1. Spaltung der Glykoside durch Pilze oder deren Fermente, 2. Reduktion des empfindlichen Aldehyd- oder Keton-Radikals und dann erst Spaltung mittels verdünnter Salzsäure, 3. Oxydation der ursprünglichen Glykoside. Der Weg 1. erwies sich, wie unten gezeigt wird, als nicht gangbar; 2. ist möglich, führt aber bei der Spaltung wieder zu Harz unangenehmster Art; die Versuche 3. betreffend Oxydation sind noch nicht ganz abgeschlossen, ihre wichtigsten Ergebnisse sind im experimentellen Teil kurz angedeutet.

Zusammensetzung von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Antiarin und von Antiarigenin: 0.1544 g bei 100° getr.  $\beta$ -Antiarin: 0.3482 g CO<sub>2</sub>, 0.1086 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>27</sub>H<sub>42</sub>O<sub>10</sub>. Ber. C 61.56, H 8.04.

C<sub>27</sub>H<sub>40</sub>O<sub>10</sub>. » » 61.80, » 7.69.

Gef. » 61.51, » 7.87.

Für  $\alpha$ -Antiarin früher » » 61.52, 61.30, » 7.94, 7.58.

Antiarigenin. 0.15 g vakuumtr. Subst. aus  $\beta$ -Antiarin: 0.3817 g CO<sub>2</sub>, 0.103 g H<sub>2</sub>O. — 0.1825 g vakuumtr. Subst. aus  $\alpha$ -Antiarin: 0.4674 g CO<sub>2</sub>, 0.1274 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub>. Ber. C 69.57, H 8.35.

C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>O<sub>5</sub>. » » 69.96, » 7.83.

Gef. » 69.40, 69.83, » 7.68, 7.81.

Demnach sprechen sämtliche Analysen zugunsten der wasserstoffärmeren Formel, und das  $\beta$ -Antiarin ist ebenso wie das  $\alpha$ -Antiarin, C<sub>27</sub>H<sub>40</sub>O<sub>10</sub>; bestehen bleibt jedoch der Unterschied im Krystallwasser:

$\alpha$ -Antiarin, C<sub>27</sub>H<sub>40</sub>O<sub>10</sub> + 4 H<sub>2</sub>O. Ber. H<sub>2</sub>O 12.08.

Früher gef. » 11.84, 11.86.

$\beta$ -Antiarin, C<sub>27</sub>H<sub>40</sub>O<sub>10</sub> + 3 H<sub>2</sub>O. Ber. H<sub>2</sub>O 9.35.

Früher gef. » 9.73, 9.46.

Spaltung von  $\alpha$ -Antiarin. Die folgenden Versuche 1—3 zeigten mit aller Bestimmtheit, daß bei der Einwirkung verdünnter Säuren auf das Glykosid die Harzbildung vor der Spaltung einsetzt; Versuch 4 dagegen bezieht sich auf das Verhalten des Glykosids zu Pilz-Vegetationen.

1. 1 Tl. Glykosid + 10 Tle. 40-prozentigen Alkohol, welcher 0.11 % HCl enthält, in Druckflasche 3 Stdn. in kochendem Wasser erhitzt; beim Erkalten nur minimale Trübung und mit Fehlings Lösung keine nennenswerte Reduktion, dann aber nach genauer Neutralisation mit stark verdünnter Lauge und Verdampfung auf etwa 1/3 Volumen beim Erkalten Abscheidung von dunklem, klebrigem Harz.

2. 1 Tl.  $\alpha$ -Antiarin + 5 Tle. wäßrige, 20-prozentige Salzsäure bei Zimmertemperatur innerhalb 15 Stdn. bei häufigem Umschwenken allmählich völlige Auflösung unter Gelbfärbung, nach insgesamt 90 Stdn. noch keine Fällung, eine solche entsteht erst durch Zusatz von 16 Tln. Wasser, aber nur in geringer Menge; das Filtrat reduziert ganz schwach Fehlings Lösung,

dagegen scheidet es beim folgenden Erhitzen in kochendem Wasser reichlich rotgelbes Harz ab und wirkt jetzt kräftig reduzierend.

3. 1 Tl. Antiarin + 30 Tle. 5-prozentige, wäßrige Oxalsäurelösung in Druckflasche  $1\frac{1}{2}$  Stdn. in kochendem Wasser: rasch klare Lösung, dann schwache Trübung, nach dem Erkalten sehr wenig Harz-Niederschlag, dieser wesentlich verstärkt bei weiterem 2-stündigen Erhitzen in kochendem Wasser, wäßrige Lösung dabei auch am Schlusse noch ganz farblos, aber jetzt stark reduzierend; von krystallisiertem Antiarigenin keine Spur zu sehen.

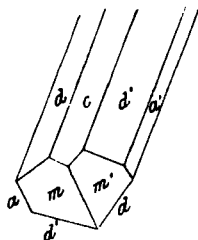
4. Eine Spaltbarkeit des reinen  $\alpha$ -Antiarins durch irgend welche der bekannten Pilz-Enzyme wird sehr unwahrscheinlich gemacht durch folgende Beobachtung: Eine kalt gesättigte, wäßrige Lösung des Glykosids im offenen Schälchen, nur mit Trichter bedeckt, 10 Tage an der Luft stehen gelassen (unter zeitweisem Ersatz des verdunsteten Wassers), zeigte auch am Schlusse noch keine Spur einer Pilz-Vegetation. Um so auffälliger ist das zweifellos rasche Verschwinden des Glykosids im ursprünglichen, nicht konservierten Antiaris-Safte, so daß es naheliegt, in letzterem irgend ein spezifisches Ferment zu vermuten.

Antiaronsäure. Bei der Spaltung des  $\alpha$ -Antiarins nach meiner älteren Vorschrift<sup>1)</sup> entsteht Antiarose,  $C_6H_{12}O_5$ , welche ich aber weder damals noch jetzt bei neuer Darstellung zum Krystallisieren bringen konnte; neu festgestellt wurde jetzt nur, daß die Antiarose sehr stark linksdrehend ist. Leicht gewinnbar war jedoch wieder das prächtig krystallisierende Lacton der Antiaronsäure, für dessen etwaige Identifizierung die nachstehenden krystallographischen Angaben von Dr. Plieninger nützlich sein dürften; die Messungen wurden schon 1896 ausgeführt, nach Mitteilung von Prof. v. Groth, München, aber bisher nicht veröffentlicht:

$C_6H_{10}O_5$ . Lacton der Antiaronsäure.

Epidot-Habitus; monosymmetrisch;

die Flächen sind fast alle angeätzt, so daß gute Reflexe nicht zu erhalten waren und die beobachteten Winkelwerte beinahe bis zu  $1^\circ$  schwanken, z. B. bei  $a:d$  und  $d':a'$ .



$$\begin{aligned}
 m : m' &= 85^\circ 4' \\
 m' : a' &= 47^\circ 19' \\
 m : a &= 47^\circ 37' \\
 a : d &= 63^\circ 25' \text{ oder } 62^\circ 7' \\
 d : c &= 41^\circ 32' \\
 d' : c &= 31^\circ 36\frac{1}{2}' \\
 d' : a' &= 43^\circ 42\frac{1}{2}' \text{ oder } 44^\circ 29\frac{1}{3}' \\
 d' : d &= 73^\circ 13'
 \end{aligned}$$

I. Krystall

II. Krystall

$m : c = 99^\circ 39\frac{1}{2}'$	$100^\circ 4\frac{1}{2}'$
$m' : c = 80^\circ 4'$	$80^\circ 9\frac{1}{2}'$

<sup>1)</sup> Ar. 284, 449 [1896].

Zum genaueren Vergleiche mit Rhamnonsäure (und anderen Metameren) habe ich ferner noch folgende Derivate der Antiaronsäure dargestellt:

**Phenylhydrazid:** 1 Tl. Lacton + 5 Tle. 95-prozentigen Alkohol + 1 Tl. Phenylhydrazin am Rückfluß  $1\frac{1}{2}$  Stdn. in kochendem Wasser erhitzt liefern beim Erkalten keine Ausscheidung, und eine Probe der Lösung gibt erst nach Zusatz von sehr viel Äther eine Trübung; beim Verdunsten über Schwefelsäure erhält man jedoch dicken Krystallbrei (lange, meist derbe Nadeln, vielfach büschelförmig), die völlig ausgetrocknete Masse im Kolben mit wenig Alkohol zum dicken Brei angerührt und nach  $\frac{1}{2}$ -stündigem Stehen mit viel Äther vermischt, gibt an diese Lösungsmittel neben etwas Phenylhydrazin eine kleine Menge von Farbstoff ab; das mit Äther gewaschene, reine Produkt schmilzt bei  $143-145^\circ$ , während Isorhamnonsäure-phenylhydrazid nach E. Fischer und Herborn<sup>1)</sup> Schmp.  $148-152^\circ$  hat. Antiaronsäure-phenylhydrazid ist in kaltem Wasser schwer, in heißem leicht löslich, krystallisiert aber dann beim Erkalten nur in ungenügender Menge wieder aus.

**Chinin-Salz,** dargestellt durch  $\frac{1}{2}$ -stündiges Erhitzen der verdünnten, wäßrigen Lactonlösung mit einem kleinen Überschuß von Chinin, Entfernung dieses Überschusses mittels Äther, Verdampfung zu stärkerer Konzentration: Sehr feine Nadeln, ohne Krystallwasser, Schmp.  $180-181^\circ$ , in kaltem Wasser merklich leichter löslich als das Salz der Rhamnonsäure.

**Brucin-Salz:** 1 Tl. Lacton + 100 Tle. Wasser + ber. Brucin 1 Std. auf kochendem Wasser erhitzt, verdampft bis 2.5 Tle., nach völligem Erkalten beim Umrühren reichliche Krystallisation (kleine, zugespitzte Prismen), ausgewaschen mit absolutem Alkohol, Schmp.  $118-119^\circ$ , bei längerem Erhitzen auf  $100^\circ$  zum Teil erweichend.

0.5697 g lufttr. Subst. bei  $100^\circ$  rasch 0.0335 g  $H_2O$ .

$C_6H_{12}O_6, C_{23}H_{26}O_4N_2 + 2H_2O$ . Ber.  $H_2O$  5.90. Gef.  $H_2O$  5.88.

Das Strontiums Salz konnte ich nur amorph erhalten, während nach Schnelle und Tollens<sup>2)</sup> das entsprechende Salz der Rhamnonsäure krystallisierbar ist<sup>3)</sup>.

<sup>1)</sup> B. 29, 1965 [1896].

<sup>2)</sup> A. 271, 69 [1892].

<sup>3)</sup> Behufs direkten Vergleichs habe ich mir von der gewöhnlichen Rhamnonsäure dargestellt:

a) Chinin-Salz: seidenglanzende Nadelwarzen, in kaltem Wasser sowie in Alkohol ziemlich schwer löslich; eine kochend bereitete, wäßrige Lösung 1:37 liefert z. B. beim Erkalten massenhafte Krystallisation; Schmp.  $180-182^\circ$ , ohne Krystallwasser.

b) Brucin-Salz (schon beschrieben von E. Fischer und Herborn, B. 29, 1962 [1896], aber ohne Angabe über Krystallwasser): beiderseits zugespitzte Prismen, derber als jene des antiaronsauren Brucins, bei langsamer

Der Vergleich nach allen Richtungen<sup>1)</sup> lehrt, daß die Antiaronsäure (und folglich auch die Antiarose) mit keiner der bekannten metameren Verbindungen identisch ist.

Spaltung von  $\beta$ -Antiarin mittels Salzsäure<sup>2)</sup>. Benutzt man hierzu das früher für  $\alpha$ -Antiarin ausgearbeitete Verfahren<sup>3)</sup>, so gewinnt man im günstigsten Falle nur 10 % rohes Antiarigenin, dessen Reinigung aber besser (als durch den früher empfohlenen Methylalkohol) in folgender Weise bewerkstelligt wird: 1 Tl. Antiarigenin löst sich leicht in 12 Tln. kochender 50-prozentiger Essigsäure und scheidet sich beim Erkalten in reichlicher Menge, aber wesentlich gereinigt, wieder ab, zuerst farblose Säulen, die überlagert werden von kleinen, dichten Nadelwarzen, sie werden von der gelbroten Mutterlauge abgenutscht, mit 30-prozentiger Essigsäure gewaschen und nochmals in gleicher Weise umkrystallisiert; das nach dieser Vorschrift gereinigte Antiarigenin wird bei 170° nicht mehr nennenswert gelb, meine frühere Beobachtung mußte also durch eine kleine Verunreinigung bedingt gewesen sein, eigentliches Schmelzen erfolgt erst bei 188°. Genau ebenso verhält sich das Antiarigenin aus dem  $\alpha$ -Glykosid, sowie ein Gemenge der beiden Produkte:  $\alpha$ - und  $\beta$ -Antiarin liefern also das gleiche Antiarigenin, sie unterscheiden sich nur durch den Zuckerrest. Die aus  $\beta$ -Antiarin erhaltene, vom Antiarigenin abgetrennte und mittels Chloroform vom Harz befreite Zuckerlösung wurde nach Beseitigung des Chlorwasserstoffs (durch Silberoxyd) bei ca. 40° verdunstet; der hierbei gewonnene Sirup erwies sich zwar auch hier als nicht direkt krystallisierbar; als ich ihn aber neuerdings mit 10 Tln. 2.5-prozentiger, wäßriger Salzsäure  $\frac{1}{2}$  Stde. in kochendem Wasser erhitzte, schied sich nochmals etwas Harz ab, dann wurde wieder der Chlorwasserstoff entfernt, zum Sirup verdunstet und dieser durch einmaliges Schütteln mit einer Mischung von 9 Tln. Äther und 1 Tl. Alkohol von den letzten Harzresten befreit: Jetzt krystallisierte der

Verdunstung der Lösungen auch in ganz großen Krystallen erhältlich, mit 7 Mol. Wasser, Schmp. 120—126°, bei längerem Erhitzen auf 100° nicht erweichend.

0.4808 g lufttr. Subst. bei 100° rasch 0.087 g  $H_2O$ . — 0.3502 g desgl.: 0.0626 g  $H_2O$ .

$C_6H_{12}O_6 \cdot C_{22}H_{36}O_4N_2 + 7H_2O$ . Ber.  $H_2O$  18.01. Gef.  $H_2O$  18.10, 17.88.

c) Cadmium-Salz: völlig amorph, bisher anscheinend nicht bekannt, aber von Interesse, weil nach E. Fischer und Morrell, B. 27, 386 [1894], das Cadmiumsalz der  $\alpha$ -Rhamnohexonsäure gut krystallisiert und sogar in Wasser schwer löslich ist.

<sup>1)</sup> S. auch E. Fischer und Zach, B. 45, 3769 [1912].

<sup>2)</sup> Vergl. 43, 3579 [1910].

<sup>3)</sup> Ar. 234, 449.

Sirup leicht<sup>1)</sup> und der aus einem Minimum von Wasser umkrystallisierte und mit wenig absolutem Alkohol gewaschene Zucker bestand aus gewöhnlicher Rhamnose<sup>2)</sup> vom Schmp. 93–94° (woran absichtliche Beimischung von Rhamnose nichts änderte).

0.7362 g in 12.4 ccm im 2-dm-Rohr eine Stunde nach der Auflösung  $\alpha = +1.1^\circ$ ; folglich  $[\alpha]_D = +9.2^\circ$ . — 0.1618 g vakuumtrockene Subst.: 0.2355 g CO<sub>2</sub>, 0.1125 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>O<sub>5</sub> + H<sub>2</sub>O. Ber. C 39.54, H 7.74.

Gef. » 39.70, » 7.78.

Versuch zur Spaltung mittels *Aspergillus niger*. Dieser Pilz wurde verwendet, weil er nach Bertrand<sup>3)</sup> besonders reich ist an verschiedenen Fermenten; betreffs der Ausführung bin ich Hrn. Prof. Hahn sowie Hrn. Dozenten Dr. Nissle zu Dank verpflichtet.

25 ccm einer kalt gesättigten wäßrigen Lösung von  $\beta$ -Antiarin<sup>4)</sup> wurden direkt mit dem Pilz geimpft, eine zweite Probe von 25 ccm erst nach Zusatz von 2.5 ccm Nährlösung (bereitet aus 5 g ClNa + 2 g Natriumphosphat + 4 g Asparagin in 1 l Wasser); bei 10-tägiger Aufbewahrung im Brutschrank entwickelte sich der Pilz ohne Nährstoff nur minimal, mit Nährstoff ziemlich reichlich. Beide Proben blieben aber bis zum Schlusse im wesentlichen klar bis auf wenige Flocken, welche nach Aussehen und mikroskopischem Befund lediglich aus abgestoßenem Mycelium bestanden; durch Fehlings Lösung war in beiden keine Spur Zucker nachweisbar und aus der Probe ohne Nährstoff ließ sich ohne Schwierigkeit durch 10 Minuten langes Erhitzen in kochendem Wasser, Filtrieren und Eindampfen der größte Teil des verwendeten  $\beta$ -Antiarins mit Schmp. 207° zurückgewinnen. Was

<sup>1)</sup> Auf Grund dieser Beobachtung habe ich sofort das gleiche Reinigungsverfahren auch auf den rohen Zuckersirup aus  $\alpha$ -Antiarin angewendet; die Antiarose war aber trotzdem nicht zum Krystallisieren zu bringen.

<sup>2)</sup> Bei dieser Gelegenheit wurde festgestellt, daß gewöhnliche Rhamnose in etwa 20 Tln. absoluten Alkohols löslich ist, ferner daß beim Schütteln eines Rhamnosesirups mit einem Gemisch von 1 Tl. Alkohol und 4 Tln. Äther recht erhebliche Mengen des Zuckers in den Alkohol-Äther übergehen; dies zur Ergänzung der einschlägigen älteren Angaben in v. Lippmann, Zuckerarten, 3. Aufl., S. 169.

<sup>3)</sup> Manipulations de chimie biologique, S. 297.

<sup>4)</sup> Kalt gesättigte Lösungen von  $\alpha$ - oder  $\beta$ -Antiarin erhält man durch Kochen des Glykosids mit 200 Tln. Wasser und langsames Erkaltenlassen; solche Lösungen bleiben viele Stunden lang klar, nur bei zufälligem starkem Sinken der Zimmertemperatur (z. B. im Winter über Nacht) kann schwache Ausscheidung eintreten. In Ergänzung meiner früheren Angaben über die zum Umkrystallisieren nötige Menge heißen Wassers ist hervorzuheben, daß bei schon annähernd reinem Glykosid zum Auflösen mindestens 30 Tle. kochendes Wasser genommen werden müssen, und falls eine Filtration nötig ist, sogar 50 Tle. (selbst bei Benutzung eines Heiztrichters).

also vom Glykoside durch den Pilz angegriffen wurde, war wohl als Nährstoff weitgehend abgebaut und aufgebraucht worden.

Wäre irgend eine hydrolytische Spaltung erfolgt, so hätte ein Niederschlag entstehen sollen und es hätte sicher wenigstens etwas Rhamnose nachweisbar sein müssen, weil gerade diese von Pilzen sehr schwer angegriffen wird<sup>1)</sup>).

#### Oxim des $\alpha$ -Antiarins<sup>2)</sup>.

1 Tl. Glykosid, gelöst in 200 Tln. kochenden Wassers, nach völligem Erkalten vermischt mit 2 Mol. salzsaurem Hydroxylamin und der entsprechenden Menge Soda (diese beiden in wenigen Kubikzentimetern Wasser) bleiben 2 Tage stehen. Verdunstung im Vakuum über Schwefelsäure liefert dann erst nach weitgehender Konzentration (ca. 1:20) eine Kruste von Säulen und Nadeln, welche nach dem Absaugen, Waschen mit Wasser und Trocknen an der Luft doch in Wasser schwer löslich erscheinen; sie sind ein Monoxim mit 2 Mol. Wasser ohne scharfen Schmelzpunkt, bei 239–240° zu kleinen Klümpchen zusammensinternd.

0.1611 g lufttr. Stbst. bei 105° 0.0101 g H<sub>2</sub>O. — 0.3973 g bei 105° getr. Stbst.: 8.9 ccm N (20.5°, 729 mm).

C<sub>27</sub>H<sub>41</sub>NO<sub>10</sub> + 2H<sub>2</sub>O. Ber. H<sub>2</sub>O 6.26. Gef. H<sub>2</sub>O 6.27.

C<sub>27</sub>H<sub>41</sub>NO<sub>10</sub>. Ber. N 2.60. Gef. N 2.50.

Hrn. Kollegen Straub verdanke ich die Angabe, daß dieses Oxim noch die charakteristische Herzwirkung besitzt, aber doch nur mehr zu etwa  $\frac{1}{10}$  von derjenigen des Antiarins selbst, folglich ist das zur Oximbildung benutzte >C:O stark beteiligt an der ursprünglichen Glykosidwirkung.

Das Semicarbazon des  $\alpha$ -Antiarins wurde bereitet aus wäßriger Antiarinlösung 1:200 mittels Semicarbazidchlorhydrat und Natriumacetat durch 12-stündiges Stehenlassen und Verdunsten der Mischung bei 40°: Völlig amorphes Eintrocknen der organischen Substanz, folglich muß das Antiarin verändert worden sein unter Bildung eines amorphen Semicarbazons, das übrigens auch in absolutem Alkohol schwer löslich ist.

#### Semicarbazon des Antiarigenins.

1 Tl. Antiarigenin gelöst in 50 Tln. Eisessig und vermischt mit einer konzentrierten wäßrigen Lösung von 2 Mol. Semicarbazidchlorhydrat und der entsprechenden Menge Natriumacetat gibt zunächst eine Trübung, die aber bald verschwindet. Nach 48 Stunden lieferte eine kleine Probe der Mischung erst mit sehr viel Wasser eine Ausscheidung, deshalb wurde die

<sup>1)</sup> Vergl. die Angaben in v. Lippmann, Zuckerarten, S. 177.

<sup>2)</sup> Wegen der Kostbarkeit der Glykoside wurden alle Versuche, bei welchen gleichartiges Verhalten der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Verbindung zu vermuten war, nur mit je einer Modifikation durchgeführt.

Hauptmenge im Vakuum über Kalilauge 1:1 eingedunstet und der Rückstand (nach Entfernung der Essigsäure) mit Wasser verrührt, der ungelöste Anteil mit Wasser ausgewaschen, im Vakuum getrocknet und wieder in 12 Tln. Eisessig (ohne Erwärmen) aufgenommen<sup>1)</sup>, durch Zusatz von 10 Tln. Wasser entstand zunächst Opalisieren und in 12 Stunden schwache Krystallisation (sehr kleine Nadelchen), diese wurde durch weitere 7 Tle. Wasser innerhalb 2 Tagen verstärkt, dann abgenutscht, mit 30-prozentiger Essigsäure und schließlich mit Wasser gewaschen. Das Semicarbazon beginnt bei etwa 225° sich zu verfärben, sintert dann allmählich, zeigt aber selbst bei 250° noch kein eigentliches Schmelzen.

0.1934 g vakuumtr. Subst.: 16.95 ccm N (21.5°, 744 mm).

$C_{22}H_{31}N_3O_5$ . Ber. N 10.07. Gef. N 9.92.

Verhalten von  $\alpha$ -Antiarin zu Natrium- und Aluminium-amalgam. 1.25 g  $\alpha$ -Antiarin wurden gelöst in 200 Tln. kochenden Wassers, nach völligem Erkalten wurden 6.7 ccm Schwefelsäure 1:5 zugegeben und schließlich Natrium-Amalgam in kleinen Portionen unter ständigem Umschwenken eingetragen, wobei später durch tropfenweisen Zusatz von verdünnter Schwefelsäure dafür gesorgt wurde, daß die Lösung immer schwach sauer blieb. Nach Verbrauch von 100 Tln. Amalgam wurde mit Natronlauge genau neutralisiert und die Lösung verdampft: Schon hierbei Abscheidung von gelbrotem Harz, das auch in Alkohol schwer löslich ist, in keiner Weise zum Krystallisieren gebracht werden kann und bei der Spaltung (Erhitzen mit verdünnter Salzsäure) wieder nur schwarzes Harz von schlimmster Qualität liefert; das Glykosid ist also durch Natriumamalgam ganz wesentlich verändert worden, das Produkt aber nicht weiter verwertbar.

Merkwürdigerweise erfolgt dagegen durch Aluminium-Amalgam gar kein Angriff:

0.86 g  $\alpha$ -Antiarin gelöst in 100 Tln. 50-prozentigem Alkohol + 5 g frisch bereitetes Aluminiumamalgam<sup>2)</sup> wurden 3 Tage unter häufigem Umschwenken stehen gelassen; das Filtrat vom reichlich entstandenen Aluminiumhydroxyd blieb beim Verdampfen völlig farblos und lieferte in reichlicher Menge die charakteristischen Rauten des  $\alpha$ -Antiarins vom Schmp. 220° mit 12.11% Krystallwasser.

Im Anschlusse an diesen Versuch habe ich auch das oben beschriebene Oxim des  $\alpha$ -Antiarins in gleicher Weise mit Aluminiumamalgam behandelt, in der Hoffnung, das entsprechende Amin zu gewinnen; das Oxim wird aber ebenfalls von dem Amalgam, wenigstens bei gewöhnlicher Temperatur, nicht angegriffen.

<sup>1)</sup> Demnach könnte man bei der Darstellung bedeutend weniger Eisessig nehmen, weil das Produkt darin wesentlich leichter löslich ist als das Ausgangsmaterial.

<sup>2)</sup> Nach H. Wislicenus, J. pr. [2] 54, 55 [1896].



Verhalten von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Antiarin zu Oxydationsmitteln. Da die beiden Glykoside mit fuchsinschweflicher Säure nicht reagieren und mit ammoniakalischer Silberlösung (auch bei kurzem Erhitzen auf 50°) keine Silberabscheidung liefern, ist zwar das Vorhandensein eines Aldehydradikals wenig wahrscheinlich. Trotzdem habe ich zunächst eine möglichst gemäßigte Oxydation versucht 1. mit Silberoxyd:

1.19 g  $\alpha$ -Antiarin in 200 Tln. Wasser mit dem Oxyd aus 1.2 g Silbernitrat 20 Stdn. in der Maschine geschüttelt, dann nur eine Spur von Silber in Lösung, der ungelöste Anteil glatt löslich in Ammoniak, nach vorsichtiger Fällung des gelösten Silbers durch Salzsäure wurde beim Verdampfen der Lösung das Glykosid unverändert zurückgewonnen.

## 2. Mittels Permanganat:

0.9 g  $\alpha$ -Antiarin in 200 Tln. Wasser + 1 Mol.-Gew. KOH (als  $\frac{1}{10}$ -n. Lauge verwendet) + 6.5 ccm 2.44-prozentiger Kaliumpermanganatlösung (entsprechend 1 At. O pro 1 Mol. Antiarin), sofort völlige Reduktion, aber erst nach  $2\frac{1}{2}$  Stdn. gänzliche Ausflockung des Mangansuperoxyds, Filtrat nicht mehr alkalisch, nach Konzentration auf etwa  $\frac{1}{3}$  des ursprünglichen Volumens reichliche Krystallisation von unverändertem  $\alpha$ -Antiarin. Folglich ist es nicht möglich, an das Glykosid nur 1 At. O glatt anzulagern, es wird vielmehr unter den angegebenen Bedingungen ein kleiner Teil des Glykosids sofort weitgehend oxydiert, während die Hauptmenge unangegriffen bleibt

## 3. Mittels Wasserstoffsuperoxyd:

0.536 g  $\beta$ -Antiarin in 200 Tln. Wasser + 2 ccm 30-prozentiges Wasserstoffsuperoxyd + 9.3 ccm  $\frac{1}{10}$ -n. Lauge (entsprechend 1 Mol. KOH auf 1 Mol. Antiarin) geben nach 1 Std. deutliche Gasentwicklung; die Lösung war nach 6 Stdn. noch alkalisch, nach 20 Stdn. nicht mehr; sie wurde dann  $\frac{1}{4}$  Std. in kochendem Wasser erhitzt, um das überschüssige Wasserstoffsuperoxyd zu zersetzen, und auf ein kleines Volumen verdampft, wobei sie farblos blieb und nach dem Erkalten weder direkt, noch nach dem Ansäuern mit Salzsäure eine Ausscheidung gab. Von den verschiedenen Metalllösungen erzeugte nur basisches Bleiacetat starken Niederschlag, der teils weiß, teils dunkel gefärbt ist und dessen Bildung von starkem Aufschäumen begleitet wird, wonach eine Art Ozonid vorzuliegen scheint. Erhitzt man die ursprüngliche Kaliumsalzlösung behufs Hydrolyse mit verdünnter Salzsäure in kochendem Wasser, so erfolgt ebenfalls stürmische Gasentwicklung, das Hauptprodukt ist aber leider wieder ein Harz von unangenehmster Beschaffenheit. Auf Grund des hier beschriebenen Ergebnisses habe ich endlich noch 0.99 g  $\beta$ -Antiarin in wäßriger Lösung 10 Stdn. lang mit Ozon behandelt; hierbei blieb die Hauptmenge des Glykosids unverändert.

Nachdem diese sämtlichen Versuche nur unverwertbare Ergebnisse geliefert hatten, wurde kräftige Oxydation versucht 1. mittels Chromsäure, 2. mittels Salpetersäure, 3. durch Kalium- sowie Calcium-Permanganat.

1. Anwendung von Chromsäure. Auf eine wäßrige Lösung von  $\beta$ -Antiarin 1:200 reagierte Chromsäuremischung (mit äquivalenter Schwefelsäure)<sup>1)</sup> weder bei einstündigem Stehenlassen, noch bei kurzem Erhitzen über freier Flamme. Dies ist jedoch nur eine Folge der großen Verdünnung; löst man dagegen die Glykoside in kaltem Eisessig, wovon nur 10 Tle. nötig sind, so greift die hinzugefügte Chromsäuremischung das Antiarin schon bei gewöhnlicher Temperatur langsam an, sehr leicht aber beim Erhitzen in kochendem Wasser, namentlich wenn folgende neue Chromsäure-Mischung benutzt wird: 374 g  $H_2O$  + 106 g konz.  $SO_4H_2$  + 53 g  $CrO_3$ , also mit vier Mol.  $SO_4H_2$  auf 2 Mol.  $CrO_3$ . Diese Mischung wirkt sehr energisch und sie enthält bis zum Schlusse der Gesamt-Reaktion immer mindestens 5%  $SO_4H_2$ , so daß das Glykosid neben der Oxydation gleichzeitig gespalten werden kann; ein Vergleichsversuch zeigte ferner, daß Rhamnose (also wahrscheinlich auch die Antiarose) in Eisessiglösung von solcher Chromsäuremischung leicht angegriffen und namentlich beim Erhitzen unter lebhafter Kohlensäureentwicklung völlig zerstört wird.

Vier vorläufige Versuche mit je 1 g Glykosid durchgeführt scheinen anzudeuten, daß mit dieser Oxydationsmethode ein günstiges Resultat zu erzielen ist; augenblicklich habe ich dafür kein Material mehr.

2. Oxydation mit Salpetersäure. Hierbei ist die gleichzeitige Spaltung des Glykosids unvermeidlich und die frei gewordene Rhamnose oder Antiarose wird sofort verwandelt werden in die entsprechende Trioxy-glutarsäure<sup>2)</sup>. Ich hatte gehofft, daß dies keine Schwierigkeiten bereiten würde, weil die Calciumsalze dieser Säuren an sich im Wasser schwerlöslich und namentlich schon durch verdünnten Alkohol leicht abscheidbar sind. Die entsprechende Oxydation der beiden Antiarine (mit Salpetersäure 1.2) liefert jedoch neben den Trioxy-glutarsäuren Produkte, welche sich teils ähnlich verhalten, teils die angedeutete Alkoholfällung beeinträchtigen, und eine genügende Trennung wäre nur zu erzielen, wenn man zu solchen Versuchen relativ viel Material verwenden könnte.

3. Daß die Oxydation mit Kaliumpermanganat (bei gewöhnlicher Temperatur) »wenigstens ein krystallinisches Produkt« liefert, habe ich schon früher (l. c.) angegeben; man erhält es durch genaue Neutralisation der filtrierten Kaliumsalzlösung mittels Schwefelsäure, Eindampfen, Fällung des Kaliumsulfats aus der konzentrierten Lösung

<sup>1)</sup> B. 34, 3564 [1901]. — Inzwischen habe ich in mehreren Fällen beobachtet, daß noch kräftigere Wirkung zu erzielen ist durch folgende Mischung: 400 g  $H_2O$  + 80 g konz.  $SO_4H_2$  + 53 g  $CrO_3$ , also wieder 10%  $CrO_3$  mit äquiv.  $SO_4H_2$ , aber ohne Natrium.

<sup>2)</sup> Vergl. Will und Peters, B. 22, 1698 [1889], sowie E. Fischer und Herborn, B. 29, 1965 [1896].

durch Alkohol, Verdunsten des letzteren und Anrühren des Sirups mit Wasser in Form feiner Nadelchen; aber trotz mancherlei Abänderung in den Oxydationsmischungen konnte ich diese Substanz (wohl von neutralem Charakter) immer nur in Spuren gewinnen. Im wesentlichen entstehen wasserlösliche Säuren, welche den Zuckerrest der Glykoside noch völlig unangegriffen enthalten, denn ich konnte durch nachträgliche Spaltung mittels verdünnter Salzsäure mit voller Sicherheit aus dem Oxydationsprodukte des  $\alpha$ -Antiarins die Antiarose und aus demjenigen des  $\beta$ -Antiarins die Rhamnose in günstigster Ausbeute abscheiden; vom Oxydationsmittel angegriffen wird also das Antiarigenin innerhalb des Glykosids und bei der erwähnten Salzsäurespaltung erhält man jetzt nur mehr einen ganz kleinen Prozentsatz von harziger Ausscheidung; Äther nimmt dann aus der salzsauren Lösung eine feste amorphe Säure neben einer neutralen öligen Substanz und Spuren einer flüchtigen Säure (Essigsäure?) auf; nach Beseitigung der Salzsäure aus der wäßrigen Lösung kann man die hierin verbliebene organische Säure durch Calciumcarbonat neutralisieren und das Calciumsalz bei passender Konzentration durch Alkohol vom gleichzeitig vorhandenen Zucker trennen; aus dem Calciumsalze sind Säuren gewinnbar, welche wenigstens teilweise krystallisieren. Genaueres über diese Oxydationsmethode kann ich erst mitteilen, wenn es mir nach Beschaffung neuen Antiaris-Saftes möglich wird, einige der gemachten Beobachtungen zu ergänzen.

Calciumpermanganat scheint weniger gut brauchbar zu sein; die Glykosidlösung bleibt dabei neutral, enthält aber auffallend wenig Calcium.

#### Über den krystallisierten Eiweißstoff aus Antiaris-Saft.

Behufs Gewinnung von Antiarin aus dem Milchsafte von *Antiaris toxicaria* wird nach meiner Vorschrift (l. c.) der Saft durch Alkohol gefällt und die alkoholische Lösung auf die Glykoside verarbeitet. Der durch Alkohol erzeugte Niederschlag wird nach dem Trocknen zuerst mittels Petroläther vom beigemengten Harz befreit, dann nochmals mit 85-prozentigem Alkohol ausgezogen, wodurch noch weitere kleine Anteile von Antiarin in Lösung gehen. Was dabei ungelöst bleibt, bildet den »Antiaris-Rückstand«, und aus solchem Material haben Kotake und Knoop<sup>1)</sup> durch Extraktion mit 0.8-prozentiger Essigsäure einen sehr krystallisationsfähigen Eiweißstoff gewonnen. Mir selbst war schon vorher in den verschiedenen Alkohol-Niederschlägen, welche bei der vorschriftsmäßigen Reinigung des ersten

<sup>1)</sup> H. 75, 488 [1911].

Alkohol-Auszuges entstehen, eine hübsch krystallisierende Substanz begegnet, welche ich wegen ihres nie fehlenden Metallgehaltes als »Magnesiumsalz einer organischen Säure« bezeichnete, ohne sie damals näher zu untersuchen. Jetzt hat sich herausgestellt, daß jene Krystalle, welche in fast allen Alkohol-Fractionen des Saftes in kleiner Menge stecken und bei entsprechender Konzentration sich ausscheiden, identisch sind mit der Substanz von Kotake und Knoop, aber immer gleichzeitig Magnesium und meist auch etwas Kalium enthaltend. Um festzustellen, ob irgend eine bei der Verarbeitung des Saftes auftauchende nadelförmige Krystallfraktion jener Eiweißstoff ist oder etwa das ebenfalls in Nadeln krystallisierende  $\beta$ -Antiarin, genügt eine höchst einfache Probe: Einige Körnchen werden mit alkalischer Bleilösung übergossen, der krystallisierende Eiweißstoff färbt sich (unter dem Einflusse der Lauge) sofort gelb und veranlaßt meist schon bei gewöhnlicher Temperatur, jedenfalls aber bei kurzem Erwärmen im Wasserbade die Bildung von Schwefelblei, Antiarin natürlich nicht. Ich habe ferner gefunden, daß man die Gewinnung dieses Eiweißstoffes aus dem »Antiaris-Rückstand«, sowie das Umkrystallisieren desselben wesentlich verbessern kann, und die Angaben Kotakes über seine Eigenschaften sind in einigen wesentlichen Punkten zu ergänzen.

Zur Darstellung wird 1 Tl. »Antiaris-Rückstand« eingetragen in 4.5 Tle. 0.8-prozentiger Essigsäure, nach kräftigem Umschwenken erhitzt man den Kolben mit Inhalt 2 Stdn. in kochendem Wasser unter zeitweisem Umschwenken; nach dem Erkalten wird der Auszug I abgesaugt (Vorsicht wegen starker Schaumbildung!), die ungelöst gebliebene Masse wird hierauf noch zweimal in genau gleicher Weise extrahiert; öfteres Ausziehen erscheint bei richtiger Arbeit zwecklos und ferner ist wichtig, daß man den Auszug I für sich allein verdampft, denn er liefert schon nach Konzentration auf ca.  $\frac{4}{10}$  seines ursprünglichen Volumens und nachherigem Erkalten eine reichliche Krystallisation, während Auszug II und III wesentlich weiter eingedampft werden müssen und dabei in der Regel vor dem Eintritt einer Krystallisation eine harzige Haut abscheiden, welche zuerst durch Filtration zu entfernen ist, worauf erst nach erheblich stärkerer Konzentration die Krystalle zur Ausscheidung gelangen. Bei möglichst sorgfältiger Arbeit gewann ich so aus dem »Antiaris-Rückstand« den krystallisierten Eiweißstoff in einer Ausbeute von 6.3%, während Kotake nur 4.5% erhalten hatte; er hat ferner das Rohprodukt nur aus heißem Wasser umkrystallisiert, das ist mißlich wegen des erforderlichen großen Volumens, sowie wegen des (wenn auch kleinen) Aschengehaltes, der in dem Rohprodukt noch steckt und nachher auch darin verbleibt; weit vorteilhafter benützt man deshalb hier 10-pro-

zente Essigsäure als Lösungsmittel: 1 Tl. lufttrocknes Rohprodukt wird schon von 5 Tln. 10-prozentiger Essigsäure bei kurzem Erhitzen im Kolben in kochendem Wasser vollständig aufgenommen, dann gießt man die heiße Lösung sofort in eine vorgewärmte Schale und läßt unter Umrühren erkalten: Beim Erkaltenlassen im Kolben entstehen so dicke, harte Krusten von Nadel- und Säulen-Warzen, daß ihre nachträgliche Entfernung aus dem Kolben die größten Schwierigkeiten bereitet; ferner pflegen diese Lösungen selbst nach 24-stündigem Stehenlassen (auch bei reichlicher Krystallbildung) immer noch übersättigt zu sein, man muß deshalb jedenfalls vor dem Absaugen nochmals einige Zeit kräftig rühren, sonst verstopft sich der Saugapparat durch nachträgliche Ausscheidungen. Die mit Wasser ausgewaschenen Krystalle erwiesen sich beim Trocknen an der Luft als hygroskopisch, ihr Gewicht ändert sich mit dem Feuchtigkeitsgehalt der Luft, was ich durch mehrfach wiederholte Reihen von genauen Wägungen festgestellt habe; das durch Trocknen im Vakuum oder bei 105° gefundene Krystallwasser schwankte deshalb zwischen 15.6 und 17.5%. Die Substanz bleibt bis 200° rein weiß, sie bräunt sich gegen 240°, wird bei 250° dunkel und sintert dann stark ohne eigentliches Schmelzen. Das Drehungsvermögen fand ich etwas niedriger als Kotake: 0.4701 g bei 105° getrockneter Substanz in 14.3 ccm 20-prozentiger Essigsäure (Kotake nahm Salzsäure) im 2-dm-Rohr  $\alpha = -1^\circ$ , also  $[\alpha]_D = -15.2^\circ$ .

Die Analysen ergaben keine Abweichung:

0.1546 g bei 105° getr. Sbst.: 0.2745 g CO<sub>2</sub>, 0.0801 g H<sub>2</sub>O. — 0.1995 g bei 105° getr. Sbst.: 27.4 ccm N (22°, 765 mm). — 0.2002 g bei 105° getr. Sbst.: 0.1023 g SO<sub>4</sub>Ba.

(C<sub>36</sub>H<sub>50</sub>N<sub>10</sub>S<sub>2</sub>O<sub>13</sub>)<sub>n</sub>. Ber. C 48.27, H 5.63, N 15.69, S 7.16.  
Gef. » 48.42, » 5.80, » 15.59, » 7.02.

Kotake hat gefunden, daß dieser krystallisierte Eiweißstoff sauer reagiert; ich kann hinzufügen, daß er sich auch ganz gut titrieren läßt mit Phenolphthalein als Indicator:

0.7426 g bei 105° getr. Sbst. + 30 Tle. Wasser + 1 Tropfen Phenolphthaleinlösung verbrauchten 4.5 ccm  $\frac{1}{10}$ -n. Kalilauge. — 0.5274 g Sbst. in gleicher Weise 3.2 ccm  $\frac{1}{10}$ -Lauge.

(C<sub>36</sub>H<sub>50</sub>N<sub>10</sub>S<sub>2</sub>O<sub>13</sub>)<sub>2</sub>. Ber. Mol.-Gew. 1789. Gef. Äquiv.-Gew. 1650, 1648.

Bei Molekülen von so erheblicher Größe sind aber bekanntlich die gegenseitigen Atomverhältnisse durch die Analyse allein nur annähernd zu ermitteln, folglich ist auch obige Formel noch keine feststehende, und mit Rücksicht hierauf erscheint der nahe Zusammenhang zwischen dem oben berechneten Molekulargewichte und dem gefundenen Äquivalentgewicht immerhin beachtenswert.

Oben wurde erwähnt, daß die aus den alkoholischen Antiaris-Auszügen gewonnenen rohen Eiweißkrystalle immer Magnesium und oft auch Kalium enthalten; dies ließ mich vermuten, daß die einschlägigen Rohprodukte direkt die entsprechenden Metallsalze des Eiweißstoffes wären; dies trifft jedoch höchstens teilweise zu, denn auch diese Rohprodukte reagierten sauer und ihr Metallgehalt blieb immer wesentlich unterhalb des Wertes, welcher auf Grund obiger Titration zu erwarten wäre; so wurde z. B. in einem Falle gefunden 0.6% Asche, bestehend nur aus  $MgO$ , entsprechend 0.36%  $Mg$ , dagegen ber. für  $(C_7, H_{10}, N_{20}, S_4, O_{28})_2 Mg$  0.67%  $Mg$ . Läßt man ferner die bei der Titration erhaltene Kaliumsalzlösung im Vakuum verdunsten, so erhält man einen amorphen Rückstand, dessen konzentrierte wäßrige Lösung mit wenig Chlormagnesium (1:10) innerhalb 24 Stunden keine Ausscheidung von krystallisiertem Magnesiumsalz lieferte, während durch schließliches Ansäuern mit Essigsäure der krystallisierte Eiweißstoff leicht wieder zurückgewonnen werden konnte.

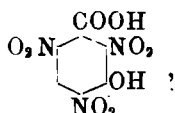
Schießlich muß noch eine Angabe Kotakes berührt werden, welche sich auf das Umkrystallisieren des Eiweißstoffes aus warmer  $n$ -Salzsäure bezieht: Die Substanz soll sich dann nach Kotake »beim Abkühlen sofort in ganz veränderter aber einheitlicher Krystallform, kleinen festen Polyedern« abscheiden; nach meiner Beobachtung ist diese Erscheinung anders zu deuten: einzelne derbere Säulen werden dick umlagert von kurzen, unvollständig ausgebildeten kleinen Säulchen, deren Achse zumeist senkrecht steht zu jener der Hauptsäule, so daß polyederähnliche Gebilde entstehen.

Eine größere Menge des krystallisierten Eiweißstoffes sowie von »Antiaris-Rückstand« habe ich Hrn. Prof. Abderhalden, der sich dafür interessierte, zur genaueren Untersuchung übermittelt.

### 83. R. Wolffenstein und W. Paar: Zur Kenntnis der 2.4.6-Trinitro-*m*-oxy-benzoesäure.

(Eingegangen am 17. Februar 1913.)

Im letzten Heft dieser Berichte (S. 589) haben wir über die 2.4.6-Trinitro-*m*-oxybenzoesäure,



berichtet. Die Darstellungsweise und die Eigenschaften dieser Verbindung und die ihrer Salze wurden genau angegeben und die Konstitution