

224. Kurt Rehorst: Über die quantitative Bestimmung des Doppel-lactons der *d*-Mannozuckersäure.

[Aus d. Institut für Biochemie u. landwirtschaftl. Technologie d. Universität Breslau, (Eingegangen am 11. November 1942.)]

Die Doppelactone der *l*- und *d*-Mannozuckersäure¹⁾ und der *d*-Zuckersäure²⁾ sind meines Wissens die drei einzigen bisher bekannten Vertreter einer Stoffklasse, die ein besonderes Interesse beansprucht. Die chemischen Eigenschaften dieser Verbindungen lassen sich nämlich aus den Formeln, die ihnen zuerteilt werden müssen, nicht ohne weiteres ablesen, geschweige denn voraussagen. Ihre wäßrig-alkalischen Lösungen färben sich bereits bei Zimmertemperatur stark gelb, reduzieren Fehlingsche Lösung in der Hitze³⁾ und geben mit Jod und Alkali Jodoform⁴⁾. Erklärungsversuche für dieses unerwartete und darum eigenartige Verhalten der Doppelactone stammen u. a. von E. Fischer⁵⁾, H. Kiliani⁶⁾, H. Ohle⁶⁾, W. N. Haworth⁶⁾ und K. Rehorst⁷⁾. In der zuletzt erwähnten Untersuchung wurde gezeigt, daß das Doppelacton der *d*-Mannozuckersäure in alkalischem Medium nur etwa zur Hälfte in das normale Dialkalosalz der *d*-Mannozuckersäure aufgespalten wird, das keinerlei auffällige, besonders keine reduzierenden Eigenschaften aufweist. Der Rest des Doppelactons jedoch erfährt unter der Einwirkung der Lauge, anscheinend ohne Öffnung der Lactonringe, eine eigenartige Umsetzung und geht dabei in einen oder wahrscheinlich mehrere Stoffe über, die die oben beschriebenen Reaktionen zeigen. Welcher Art diese Verbindungen sind, ist noch ungewiß.

Es liegt auf der Hand, daß ein bequemer Weg zur quantitativen Ermittlung des Gehaltes an Doppelacton, z. B. in einer Lösung, die unerlässliche Voraussetzung ist zum Eindringen in das Verständnis für einen bisher unerklärlichen Reaktionsablauf. Da die optische Aktivität allein, besonders bei Anwesenheit anderer drehender Stoffe zur eindeutigen Bestimmung der Doppelactone nicht ausreicht, lag es nahe, das bereits von H. Kiliani⁸⁾ gemessene Reduktionsvermögen mit heranzuziehen. Orientierende Versuche zeigten allerdings, daß die Größe der Reduzierfähigkeit je nach den Versuchsbedingungen starken Schwankungen, bis zu 30% und mehr, unterworfen ist. Veröffentlichungen hierüber bleiben vorbehalten. Das Arbeiten unter genau gleichbleibenden, mühe los reproduzierbaren Bedingungen jedoch führte zum Ziel.

Wie zu erwarten stand, gibt besonders die Messung des Jodverbrauchs ein sehr genaues Bild von der in einer wäßrigen Lösung befindlichen Doppelactonmenge, so daß selbst kleine Unterschiede nach dieser Methode einwandfrei erkannt werden. Trägt man die gefundenen Werte in ein Koordinatensystem ein, bei dem die Einheit der Abszisse 10 mg Dilacton und die Einheit der Ordinate 1 ccm $n/10$ -Jod entspricht, so findet man, daß

¹⁾ H. Kiliani, B. **20**, 339 [1887]; E. Fischer, B. **24**, 539 [1891].

²⁾ K. Rehorst u. H. Scholz, B. **69**, 520 [1936].

³⁾ H. Kiliani, B. **58**, 2349 [1925].

⁴⁾ B. **65**, 1272 [1932] u. zahlreiche frühere Arbeiten.

⁵⁾ Angew. Chem. **45**, 709 [1932].

⁶⁾ Journ. Soc. chem. Ind., Chem. u. Ind. **52**, 482 [1933] (C. **1933** II, 1208).

⁷⁾ B. **65**, 1476 [1932], **71**, 923 [1938].

sie für Einwaagen zwischen 15 und 140 mg Dilacton praktisch auf einer Geraden liegen, für die sich die Gleichung

$$y = \frac{27}{13} x - 0.723$$

ergibt^{8).}

Wesentlich ungenauer als die Messung des Jodverbrauchs ist die Titration nach Bertrand⁹⁾ mit Fehlingscher Lösung. Die gefundenen Werte wurden ebenfalls in das oben beschriebene Koordinatensystem eingetragen und ergaben eine schwach gekrümmte Kurve. Die Einheit der Ordinate entsprach $\frac{1}{2}$ mg Kupfer. Eine Gleichung stellte man in diesem Falle nicht auf.

Zur gegenseitigen Kontrolle der beiden Bestimmungsmethoden wurden von einer wäßrigen, bei Zimmertemperatur gehaltenen Dilacton-Lösung von bekanntem Gehalt von Zeit zu Zeit Proben entnommen und darin nach Behandeln mit Alkali Jodverbrauch und Reduktion gegen Fehlingsche Lösung nach Bertrand gemessen. Dabei ergaben beide Methoden, mengenmäßig annähernd übereinstimmend, eine Abnahme des Gehaltes der Lösung an Dilacton, als deren Folge eine Verminderung des Drehungsvermögens in Erscheinung trat. Eine weitere Auswertung dieses Versuches bleibt vorbehalten.

Beschreibung der Versuche.

(Mitbearbeitet von Frau Dipl.-Chem. Annerose Naumann.)

Das aus d-Mannose dargestellte Doppelacton der d-Mannozucker-säure kommt, wie bereits H. Kilian¹⁰⁾ beim Umkristallisieren aus Methanol beobachtet hat, in zwei dinorphen Formen vor. Aus einer heiß gesättigten wäßr. Lösung krystallisieren derbe kleine Prismen; eine bestimmte Menge Dilacton nimmt in dieser Form einen verhältnismäßig kleinen Raum ein. Wird dagegen die heiß gesättigte wäßr. Lösung mit dem etwa 10-fachen Volumen 96-proz. Alkohol versetzt, dann scheidet sich das Dilacton in feinen langen watteähnlich angeordneten Nadeln ab, von denen die gleiche Gewichtsmenge wie oben einen mehrfach größeren Raum einnimmt. Beide Formen krystallisieren mit 2 Mol. Krystallwasser, die im Vak. über Schwefelsäure weggetrocknet werden können, wobei die Struktur der Krystalle und der Habitus der Präparate erhalten bleiben. Ein chemischer und, wenn man von Krystallform und Habitus absieht, physikalischer Unterschied zwischen beiden Formen konnte bisher nicht festgestellt werden. Die unten beschriebenen Versuche wurden ausschließlich mit einem mehrfach aus Wasser umkristallisierten, krystallwasserfreien Präparat, $C_6H_6O_6$, vorgenommen.

Bestimmung des Jodverbrauchs.

In einen 250-ccm-Erlenmeyer-Kolben aus Jenaer Glas bringt man eingewogene Mengen Doppelacton ($a = 20$ bis 140 mg) in $(40 - 0.1149 \times a)$ ccm Wasser ohne zu erwärmen unter Umschwenken vollständig in Lösung, was etwa 3 Min. in Anspruch nimmt. Als bald werden rasch hintereinander die

⁸⁾ Hrn. Prof. G. Feigl, Breslau, spreche ich aus an dieser Stelle für freundliche Beratung meinen besten Dank aus.

⁹⁾ Abderhalden, Handb. d. biolog. Arbeitsmethoden, Abt. I, Tl. 5, S. 174.

¹⁰⁾ B. 64, 2018 [1931].

zur Öffnung zweier Lactonringe ber. Menge $n/10$ -NaOH, $0.1149 \times a$ ccm, ferner $0.4 \times a$ ccm $n/10$ -Jod und $0.3 \times a$ ccm $n/5$ -NaOH zugegeben, wobei sich Jodoform ausscheidet. Nach mindestens 10 Min. wird auf Zugabe von 10 ccm verd. Schwefelsäure das unverbrauchte Jod mit $n/10$ -Thiosulfat zurücktitriert (Stärke als Indicator).

Die Auswertung der Ergebnisse erfolgt durch Eintragen in ein Koordinatensystem, wobei die abgewogenen Substanzmengen (Tafel 1, Spalte 1) umgerechnet auf volle mg (Spalte 2) auf der Abszisse, als deren Einheit 10 mg gewählt war, vermerkt wurden. Die gemessene Anzahl ccm $n/10$ -Jod (Spalte 3) wird, auf die abgerundete Einwaage umgerechnet, bis zur ersten Stelle nach dem Komma auf der Ordinate verzeichnet (Spalte 4).

Tafel 1.

1 Einwaage mg Dilacton	2 abgerundet	3 gemessen	4 ccm- $n/10$ -Jod umgerechnet auf Spalte 2 und abgerundet	5 berechnet auf Spalte 2 nach der Gleichung
17.54	18	2.94	3.0	3.0
31.46	32	5.65	5.8	5.9
44.22	44	8.36	8.3	8.4
55.15	55	10.77	10.7	10.7
62.95	63	12.30	12.3	12.4
75.05	75	14.87	14.9	14.9
80.95	81	16.10	16.1	16.1
84.29	84	16.56	16.5	16.7
92.40	92	18.55	18.5	18.4
102.60	103	20.29	20.4	20.7
106.59	107	21.39	21.5	21.5
110.23	110	22.00	22.0	22.1
120.59	121	24.47	24.6	24.4

Zur Berechnung der Gleichung $y = 27/13 x - 0.723$ hatten folgende beide durch Versuche gefundene Wertepaare gedient: Bei den Einwaagen von 80.95 mg Dilacton, $x_1 = 8.1$, und 106.59 mg Dilacton, $x_2 = 10.7$, wurden 16.10 bzw. 21.39 ccm $n/10$ -Jod verbraucht, was rechnerisch zu $y_1 = 16.1$ und $y_2 = 21.5$ führt.

Bei etwa 30 verschiedenen Einwaagen einer von mehreren Personen getätigten Versuchsreihe stimmte bei 25% der Versuche der gefundene Jodverbrauch mit dem aus der Gleichung errechneten genau überein, und bei weiteren 55% der Versuche der gleichen Reihe streute der Jodverbrauch um nicht mehr als 0.2 ccm nach oben oder unten gegenüber dem aus der Gleichung ber. Wert (Spalte 5).

Titration mit Fehlingscher Lösung nach Bertrand⁹⁾.

Die gemessenen Permanganat-Werte sind ziemlichen Schwankungen unterworfen. Das erklärt sich einmal aus dem geringen Reduktionsvermögen des Dilactons der *d*-Mannozuckersäure gegen Fehlingsche Lösung, das nur

etwa 25% von dem des Traubenzuckers ausmacht. Dazu kommt, daß infolge der Schwerlöslichkeit dieses Dilactons nur mit schwachen Konzentrationen gearbeitet werden kann, und daß die Bestimmungsmethode nach Bertrand an ein Volumen von 20 ccm der zu untersuchenden Lösung gebunden ist. Nur der großen Erfahrung und Geschicklichkeit unserer technischen Assistentin, Fr. T. Wießner, ist es zu danken, daß unter diesen erschwerten Bedingungen überhaupt Werte gefunden wurden, die unter einander einigermaßen übereinstimmen und mit den Ergebnissen der um ein vielfaches genaueren Jodtitration mit Vorsicht verglichen werden können.

Da es sich herausgestellt hat, daß für den Fortgang der Arbeit der Vergleich der Reduzierkraft gegen diese beiden Oxydationsmittel wichtig ist, sollen aus einem sehr großen Material Arbeitsmethode und Ergebnis kurz skizziert werden, um Interessenten die Reproduktion unserer Kurve zu ermöglichen.

In einem 150-ccm-Erlenmeyer-Kolben aus Jenaer Glas bringt man eingewogene Mengen Doppelacton ($b = 15$ bis 100 mg) in $(20 - 0.1149 \times b)$ ccm Wasser wie oben beschrieben in Lösung. Als bald werden rasch hintereinander $0.1149 \times b$ ccm $n/10$ -NaOH und je 20 ccm Fehlingsche Lösung I und II nach Bertrand hinzugegeben. Das Reaktionsgut wird im ganzen 3 Min. erhitzt und muß möglichst genau 1 Min. davon kochen. Nach raschem Abkühlen erfolgt die Weiterverarbeitung wie beschrieben⁸⁾. Es wird jedoch bei der Titration mit Permanganat der Farbumschlag von Blaugrün in Graugrün als Endpunkt der Titration für am sichersten reproduzierbar erachtet. Die Titrationsergebnisse sind in Tafel 2 zusammengestellt.

Tafel 2.

1 Einwaage mg Dilacton	2 abgerundet	3 ccm $n/10$ -KMnO ₄ gemessen	4 Daraus ber. mg Cu f. d. abger. Einwaage	5 $y = \frac{\text{mg Cu}}{2}$
17.60	18	1.42	9.23	4.6
23.35	23	1.79	11.21	5.6
38.71	39	2.91	18.65	9.3
49.69	50	3.92	25.08	12.5
55.04	55	4.33	27.51	13.8
64.27	64	5.15	32.62	16.3
67.70	68	5.53	35.29	17.7
76.58	77	6.27	40.10	20.1
77.53	78	6.35	40.60	20.3
84.28	84	6.95	44.00	22.0
96.35	96	8.25	52.27	26.1
96.64	97	8.33	53.13	26.6

Über die Abnahme des Doppelactongehaltes einer wässrigen Lösung.

8.71991 g Dilacton ($1/20$ Mol) wurden in Wasser gelöst, auf 1000 ccm aufgefüllt und bei 21.5° stehen gelassen. In bestimmten Zeitabständen wurden

die Ablenkung des polarisierten Lichtes im 2-dm-Rohr und der Gehalt an noch vorhandenem Dilacton mittels Titration mit Jodlösung gemessen. Zu diesem Zweck gab man zu 15.00 ccm der Lösung (ursprünglich 130.8 mg Dilacton enthaltend) 9.95 ccm Wasser und 15.05 ccm $n/10$ -NaOH und eine abgemessene Menge $n/10$ -Jod, die der oben angegebenen mindestens gleichkam. Im übrigen wurde wie beschrieben verfahren. In gleichen Zeitabständen wurde auch der Gehalt der Lösung an Dilacton nach der Kupfer-Titrationsmethode gemessen. Dazu versetzte man 10.00 ccm der Lösung (ursprünglich 87.2 mg Dilacton enthaltend) mit 10.00 ccm $n/10$ -NaOH und verfuhr entsprechend. Das Versuchsergebnis ist in Tafel 3 zusammengestellt.

Tafel 3.

Nach völ- ligem Auf- lösen	2-dm $\alpha_D^{25,5}$	Für 15 ccm der Lösung			i. d. Lsg. % Dilac- ton noch vor- handen	Für 10 ccm der Lösung		
		ccm $n/10$ - Jod gemes- sen	ber. mg Dilacton	ge- mes- sene ccm $n/10$ - KMnO ₄		ber. mg Cu	aus der Kurve abgele- sene mg Dilacton	i. d. Lsg. % Dilac- ton noch vor- handen
47 Min.	+ 3.58°	25.92	128.28	98.07	8.33	52.93	96.5	108
91 Min.	+ 3.535°	25.97	128.52	98.26	7.73	49.13	91.0	104
4 Std.	+ 3.475°	24.75	122.65	93.77	7.69 7.54	48.9 47.95	89.5	100
5 Std.	+ 3.44°	24.55	121.68	93.03	7.17	45.58	84.5	97
6 $\frac{1}{2}$ Std.	+ 3.415°	24.37	120.82	92.37				
24 Std.	+ 2.96°	18.87	94.34	72.13	5.41 5.45	34.42 34.65	65.0	74.5
29 Std.	+ 2.86°	17.42	87.36	66.79	5.27 5.34	33.47 33.94	63.5	73
2 Tage	+ 2.515°	13.75	69.68	53.27	3.96 4.18	25.16 26.58	49.5	57
3 Tage		10.45	53.80	41.13	3.1 3.1	19.7 19.7	39.0	45
6 Tage	+ 1.75°	4.74	26.30	20.11	1.61 1.68	10.2 10.68	21.5	24.5

Aus dem Versuch geht hervor, daß beim Stehenlassen einer wäßr. Lösung von Dilacton der *d*-Mannozuckersäure bei Zimmertemperatur mit absteigender Drehung auch der Gehalt der Lösung an Dilacton abnimmt. Die Titration mit Jodlösung ergibt zweifellos ein genaues Bild von dem Umfang der Umwandlung des Dilactons in nichtreduzierende Stoffe. In Anbetracht der Schwierigkeiten, die der Bestimmung mit Fehlingscher Lösung entgegenstehen, kann geschlossen werden, daß auch nach dieser Methode gemessen das Reduktionsvermögen und somit der Gehalt an Dilacton in ungefähr dem gleichen Umgang abnimmt.