

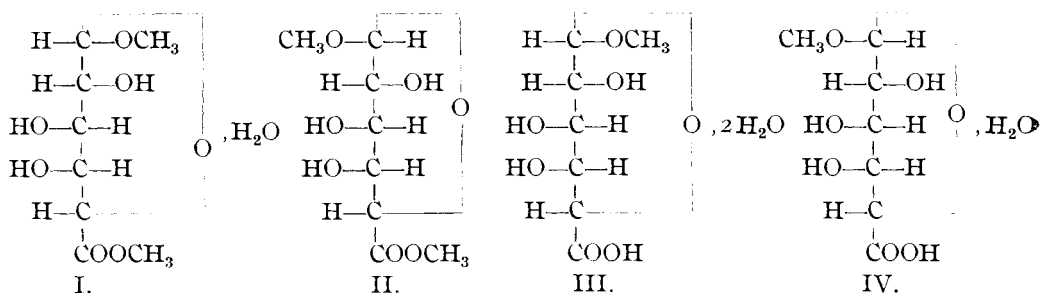
41. Felix Ehrlich und Renate Guttmann: Zur Kenntnis der *d*-Galakturonsäure, I. Mitteil.: 1-Methyl-*d*-galakturonsäure-methylester und 1-Methyl-*d*-galakturonsäure.

[Aus d. Institut für Biochemie u. landw. Technologie d. Universität Breslau.]

(Eingegangen am 28. Dezember 1932.)

Die in komplexer Bindung den wesentlichsten Bestandteil des Pektins bildende *d*-Galakturonsäure¹⁾ ist in ihrer Eigenschaft als Aldehydcarbonsäure eine sehr reaktionsfähige Substanz, die mannigfacher chemischer Umsetzungen fähig ist. Da sie im natürlichen Pektin gleichzeitig glykosidisch gebunden und mit Methylalkohol verestert auftritt, so mußten Untersuchungen an der monomolekularen *d*-Galakturonsäure besonderes Interesse bieten, die eine Glykosidierung und Veresterung dieser Grundsubstanz zum Ziele hatten. Um erst einmal zu einfachen Verbindungen zu gelangen, an denen sich die allgemeinen Eigenschaften solcher Körper studieren ließen und die gleichzeitig zu Modellversuchen für die Pektolase²⁾, das die glykosidischen Bindungen der Tetra-galakturonsäure spaltende Ferment, und für die Pektase³⁾, das den Methylester des Pektins zerlegende Ferment, dienen könnten, haben wir zunächst die Acetalisierung und Veresterung der *d*-Galakturonsäure mittels Methylalkohols in Angriff genommen.

Es zeigte sich, daß man nach dem Fischerschen Verfahren⁴⁾ für die Darstellung der Methyl-glykoside durch Erhitzen mit methylalkohol. Salzsäure unter Druck verhältnismäßig leicht die *d*-Galakturonsäure in ihr Methyl-halbacetal verwandeln kann, wobei gleichzeitig die Carboxylgruppe mit Methylalkohol verestert wird. Es entsteht dabei der α -1-Methyl-*d*-galakturonsäure-methylester (I) als schön krystallisierende Verbindung in Ausbeuten von etwa 33% d. Th.



Noch leichter und mit besseren Ausbeuten vollzieht sich dieser Prozeß, wenn man nach dem schönen, von W. Voss⁵⁾ für die Bereitung von Acetalen und Glykosiden ausgearbeiteten Verfahren die *d*-Galakturonsäure mit Dimethylsulfid und methylalkohol. Salzsäure behandelt. Man gelangt dabei zu einem Substanzgemisch in Mengen von 50–55% d. Th., dessen Trennung durch fraktionierte Krystallisation aus Aceton glückte, und aus dem man

¹⁾ F. Ehrlich u. F. Schubert, B. **62**, 1974 [1929].

²⁾ F. Ehrlich, Biochem. Ztschr. **250**, 525, **251**, 204 [1932].

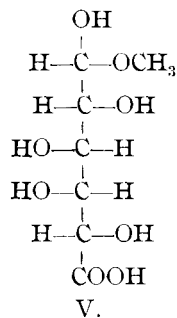
³⁾ v. Fellenberg, Biochem. Ztschr. **85**, 118 [1918]; C. Neuberg u. C. Ostendorff, Biochem. Ztschr. **229**, 464 [1930].

⁴⁾ E. Fischer, B. **28**, 1145 [1895].

⁵⁾ W. Voss, A. **485**, 283 [1931].

neben einer überwiegenden Menge von α -Verbindung (I) auch den β -1-Methyl-*d*-galakturonsäure-methylester (II) isolieren konnte. Die beiden Isomeren unterscheiden sich deutlich in ihrer Krystallform, ihrer spezif. Drehung und ihrem Schmelzpunkt. Die α -Verbindung krystallisiert in derben, quadratischen Säulen und abgeschrägten Tafeln, während die β -Form sich in feinen, drusenförmig gelagerten Nadelchen abscheidet, so daß unter Umständen schon eine Trennung durch Auslesen der Krystalle möglich ist. Der Schmelzpunkt der α -Form liegt bei 142° , der der β -Form bei 194° . Während die α -Verbindung eine ziemlich hohe Rechtsdrehung von $[\alpha]_D = +125.4^{\circ}$ zeigt, dreht die β -Verbindung in wesentlich geringerem Maße links und zeigt eine spezif. Drehung von $[\alpha]_D = -45.6^{\circ}$. Die etwas größere Löslichkeit der β -Form in Aceton ermöglichte bei wiederholtem Umkrystallisieren eine fast vollständige Trennung der epimeren Verbindungen. Ein nicht unwesentlicher Unterschied beider Substanzen liegt auch darin, daß die α -Modifikation mit 1 Mol. Wasser krystallisiert, das bei 78° im Vakuum wegzutrocknen ist, während die β -Verbindung stets krystallwasser-frei erhalten wird.

Beide epimeren Ester-Formen lassen sich glatt verseifen. Schon durch Barytwasser in der Kälte gelang es leicht, die Ester zu spalten und sie in die freien Säuren, die α -1-Methyl-*d*-galakturonsäure (III) und die β -1-Methyl-*d*-galakturonsäure (IV), überzuführen. Aus wäßrigem Alkohol schied sich die α -Methyl-acetalsäure in gut ausgebildeten, quadratischen Tafeln und Stäben ab, während die β -Verbindung, deutlich davon unterschieden, in langen, verfilzten Nadelchen krystallisiert. Die α -Säure schmilzt bei 113° und zeigt $[\alpha]_D = +129.9^{\circ}$, die β -Säure hat dagegen ihren Schmelzpunkt bei 134° und eine spezif. Drehung von $[\alpha]_D = -39.2^{\circ}$. Auch die freien Methyl-galakturonsäuren zeigen analoge Unterschiede im Krystallwasser-Gehalt wie die Ester. Die α -Verbindung krystallisiert mit 2 Mol. Wasser, von denen nur 1 Mol. Wasser beim Trocknen im Vakuum bei 78° entweicht. Dagegen enthalten die Krystalle der β -Säure nur 1 Mol. Wasser, das sie bei 78° im Vakuum abgeben. Es erscheint also möglich, daß die α -1-Methyl-*d*-galakturonsäure 1 Mol. Wasser konstitutiv angelagert enthält und demnach mit offener Kette als Halbacetal (V) auftritt in Analogie mit der α -*d*-Galakturonsäure, für deren Konstitution bereits früher¹⁾ die Annahme eines hydratisierten Aldehyds mit offener Kette gemacht worden ist.



Beide 1-Methyl-galakturonsäuren sind durch Säure-Hydrolyse glatt zu Galakturonsäure spaltbar. Dieser Vorgang vollzieht sich bereits beim Erhitzen der Verbindungen mit verd. Säuren bei Wasserbad-Temperatur, wobei die Lösungen starke Reduktion annehmen und bald die spezifische rote Bleireaktion auf Galakturonsäure⁶⁾ auftritt, während ihre Drehungen sich langsam der der Galakturonsäure nähern. An einem Beispiel ließ sich zeigen, daß aus der α -Verbindung unter diesen Bedingungen bei der Hydrolyse auch sehr leicht krystallisierte *d*-Galakturonsäure zu gewinnen ist. Die Spaltung verläuft also analog der Hydrolyse der komplexen, glykosid-artig gebundenen Tetra-galakturonsäure zu monomolekularer Säure.

⁶⁾ F. Ehrlich, B. 65, 352 [1932].

Auch bei der Acetalisierung und Veresterung mit Dimethylsulfid wurde neben dem krystallisierten Produkt eine ungefähr gleiche Menge eines nicht reduzierenden Sirups gewonnen, der nicht zu krystallisieren war und der seinen Reaktionen zufolge noch Verbindungen der Galakturonsäure enthielt. Er lieferte bei der Baryt-Spaltung eine sirupöse Säure, die ebenfalls nicht krystallisierte. Durch weitere Hydrolyse mit verd. Säuren ergab sich eine stark reduzierende Lösung, aus der krystalline Galakturonsäure abzuscheiden war. Aus diesem Verhalten scheint der Schluß berechtigt, daß in dem ursprünglichen Reaktionsgemisch neben den α - und β -Verbindungen vielleicht noch ein γ -1-Methyl-*d*-galakturonsäure-methylester vorhanden ist, von analoger Konstitution wie sie W. N. Haworth⁷⁾ für das γ -Methyl-galaktosid wahrscheinlich gemacht hat. Es erscheint auch hier denkbar, daß neben den pyranoiden Formen des α - und β -Methylesters eine leicht lösliche und schwer krystallisierende Form eines furoid gebundenen Methylesters vorliegt.

Da die komplexe Tetra-galakturonsäure des Pektins 4 Mol. Galakturonsäure in glykosidischen Bindungen enthält, die durch das in der Takadiastase, im Emulsin und in vielen Schimmelpilzen enthaltene Ferment Pektolase²⁾ leicht zu lösen sind, so entstand die Frage, ob derartige Ferment-Präparate nicht auch zur Aufspaltung so einfacher Glykosidverbindungen wie der Methyl-galakturonsäure fähig sind. In ausgedehnten Versuchsreihen ließ sich zeigen, daß alle auf α - und β -Glykoside, sowie auf komplexe Galakturonsäuren ansprechenden Fermente, wie Maltase, Emulsin und Pektolase verschiedener Herkunft, sowohl auf die beiden 1-Methyl-galakturonsäuren als auch auf ihre Methylester unter den verschiedensten Versuchs-Bedingungen vollkommen unwirksam waren. Auch ein α - und β -Galaktoside spaltendes Ferment-Gemisch aus Emulsin⁸⁾ ließ die beiden Epimeren der Methyl-galakturonsäure und ihre Ester unberührt. Damit scheint auch die Möglichkeit eines Beweises für die Spezifität der die Tetra-galakturonsäure⁹⁾ spaltenden Pektolase gegeben, die offenbar Glykosidkörper von so kleinem Molekül wie die hier vorliegenden nicht anzugreifen vermag. Es soll versucht werden, die Galakturonsäure mit einem höhermolekularen Alkohol oder Phenol zu kuppeln, um feststellen zu können, ob etwa die Pektolase derartige Verbindungen zerlegen kann.

Im Gegensatz zur Pektolase ließ sich mit einer aus Luzerne gewonnenen Pektase¹⁰⁾ eine deutliche Hydrolyse des α -1-Methyl-galakturonsäuremethylesters erzielen. Bei diesem Ester war die Abspaltung des Methylalkohols und die Hydrolyse zur freien Säure bereits in 1 Tage deutlich wahrzunehmen und belief sich nach 4 Tagen, aus der Titration mit Alkali berechnet, auf 30 % des angewandten Esters, wobei gleichzeitig ein beträchtliches Ansteigen der Wasserstoff-ionen-Konzentration regelmäßig zu beobachten war.

⁷⁾ W. N. Haworth, D. A. Ruell u. G. C. Westgarth, Journ. chem. Soc. London **125**, 2468 [1924].

⁸⁾ B. Helferich u. Mitarbeiter, Ztschr. physiol. Chem. **205**, 201, 231, **208**, 91 [1932]. — Dieses Präparat wurde uns von Hrn. Prof. B. Helferich, Leipzig, zur Verfügung gestellt, dem wir auch an dieser Stelle bestens danken.

⁹⁾ neuerdings Pektolsäure genannt; vgl. F. Ehrlich, Biochem. Ztschr. **250**, 528 [1932].

¹⁰⁾ Bertrand u. Mallèvre, Compt. rend. Acad. Sciences **119**, 1012 [1894], **120**, 110, **121**, 726 [1895].

Hier liegt also eine vollkommene Analogie mit der Pektase-Wirkung auf den Methylester der natürlichen Verbindungen der Tetra-galakturonsäure des Pektins vor, so daß diese Spaltung als Modellversuch für die natürliche Pektase-Wirkung zu verwerten ist.

Die Versuche werden in verschiedenster Richtung fortgesetzt¹¹⁾.

Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft sind wir für die Gewährung von Mitteln zur Durchführung der Arbeit zu besonderem Dank verbunden.

Beschreibung der Versuche.

1-Methyl-*d*-galakturonsäure-methylester.

I.) 5.0 g reine trockne α -*d*-Galakturonsäure, $C_6H_{10}O_7 + H_2O$, wurden in 50 ccm absol. Methylalkohol gelöst, der 3% Salzsäure enthielt. Die frisch bereitete Lösung drehte $\alpha_1 = +6.97^0$ ($l = 1$) und nach 24-stdg. Stehen bei Zimmer-Temperatur $\alpha_1 = +3.73^0$ ($l = 1$). Sie wurde nunmehr in einem zuge-schmolzenen Bombenrohr 56 Stdn. im Wasserbade erhitzt, wobei sie klar blieb und sich schwach gelblich färbte. Ihre Drehung war in dieser Zeit auf $\alpha_1 = +0.95^0$ ($l = 1$) abgesunken. Die abgekühlte Lösung schüttelte man 4 Stdn. mit 6.0 g trockenem, frisch gefällttem Silbercarbonat; das hellgelbe, chlor-freie Filtrat vom Silberchlorid wurde zuerst bei 25–30° im Vakuum und dann bei Zimmer-Temperatur über Chlorcalcium zum dünnen Sirup eingengt, der bald eine starke Krystall-Abscheidung gab. Nach 24-stdg. Stehen wurde der Krystallbrei abg-saugt und mit einem Gemisch aus gleichen Teilen von Methylalkohol und Äther gewaschen. Zurück blieben 1.27 g schwach grau gefärbte Kryställchen. Das alkohol. Filtrat ergab beim Verdampfen einen gelblichen Sirup, der mit wenig Aceton aufgenommen wurde. Aus der Lösung schieden sich bald ähnliche Krystalle ab, die mit Aceton und mit Äther gewaschen wurden (0.4 g); aus der Mutterlauge wurden noch 0.2 g gewonnen. Im ganzen ergaben sich also 1.9 g = 34% d. Th. eines Rohproduktes, das sich bei weiterer Reinigung als der α -1-Methyl-*d*-galakturonsäure-methylester, $CH_3O.C_5H_8O_4.COOCCH_3 + H_2O$, erwies. Aus den letzten Aceton-Mutterlaugen resultierte ein gelblicher, aromatisch riechender Sirup, der auch nach längerem Stehen nicht krystallisierte. Er reagierte schwach sauer und reduzierte schwach Fehlingsche Lösung, vermutlich infolge eines geringen Gehaltes an unveränderter Galakturonsäure.

Die zur Reinigung aus Aceton umkrystallisierte Substanz schied sich in farblosen, derben, rechteckigen Platten und Stäbchen aus, die mit Aceton und Äther gewaschen und zur Analyse im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet wurden. Sie sinterten bei 138°, schmolzen unscharf bei 139–142° unt. Zers. und enthielten 1 Mol. Krystallwasser.

0.1263 g Sbst.: 0.1863 g CO_2 , 0.0702 g H_2O . — 0.1383 g Sbst.: 0.2686 g AgJ.
 $C_8H_{14}O_7 + H_2O$. Ber. C 39.98, H 6.72, OCH_3 25.84. Gef. C 40.23, H 6.22, OCH_3 25.64.

¹¹⁾ Nach Abschluß dieser Arbeit erschien eine kurze vorläufige Mitteilung von C. P. Link, Nature **130**, 402 [1932], in der ohne nähere experimentelle Angaben über die Gewinnung eines Methyl-galakturonids aus einem Poly-galakturonid berichtet wird, das anscheinend mit unserer Pektolsäure identisch ist. Die angegebenen Daten stimmen mit den α -Verbindungen des von uns hergestellten 1-Methyl-galakturonsäure-esters und der 1-Methyl-galakturonsäure im wesentlichen überein. Über eine β -Verbindung berichtet der Verfasser nichts.

0.0536 g der gegen Lackmus sehr schwach sauer reagierenden Substanz verbrauchten gegen Phenol-phthalein bis zur Neutralität 0.05 ccm n_{10} -NaOH. Wurde die neutrale Lösung mit 3.0 ccm n_{10} -NaOH versetzt und im Kölbchen 12 Stdn. stehengelassen, so ergab eine Rücktitration mit n_{10} -H₂SO₄ einen Verbrauch von 2.3 ccm n_{10} -NaOH; zur Verseifung von 1.0 g Methyl ester waren mithin 42.9 ccm erforderlich, ber. 41.6 ccm n_{10} -NaOH. Rechnet man diese Werte auf Methoxyl um, so würden demnach in dem Ester 13.31 % verseifbares OCH₃ vorhanden sein, während die Theorie 12.92 % erfordert.

0.1072 g Subst. in 10 ccm H₂O ($l = 1$): $\alpha_D^{20} = +1.34^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = +125.0^\circ$.

0.1519 g im Vak. über Schwefelsäure getrocknet. Subst. verloren im Vak. über P₂O₅ bei 78° innerhalb von 10 Stdn. 0.0107 g H₂O, entspr. 7.04 % H₂O; ber. für 1 Mol. H₂O 7.50 %.

0.1403 g krystallwasser-freie Subst., in 10 ccm H₂O gelöst: $\alpha_D^{20} = +1.85^\circ$ ($l = 1$), d. h. $[\alpha]_D^{20} = +131.9^\circ$. Auf die krystallwasser-haltige Substanz umgerechnet, würde die spezif. Drehung in annähernder Übereinstimmung mit dem oben gefundenen Wert $[\alpha]_D^{20} = +122.0^\circ$ betragen.

II.) 20.0 g reine trockne α -*d*-Galakturonsäure, C₆H₁₀O₇ + H₂O, wurden in 200 ccm 3.3 % Salzsäure enthaltendem Methylalkohol gelöst, die Lösung mit 40 g Dimethylsulfid¹²⁾ versetzt und auf dem Wasserbade gekocht. Die anfänglich stürmische SO₂-Entwicklung war nach 2 Stdn. beendet. Die hellgelb gefärbte Lösung wurde dann mit 400 ccm Methylalkohol verdünnt und mit 30 g frisch gefällttem Silbercarbonat entchlort. Die im Vakuum zunächst auf 30° und dann zur Vertreibung des unverbrauchten Dimethylsulfids auf 50–60° erwärmte Flüssigkeit engte man zu einem hellbraunen Sirup ein, nahm diesen mit 30 ccm Methylalkohol unter Erwärmen wieder auf und fügte zu der Lösung portionsweise etwa 100 ccm Äther bis jeweils zur starken Trübung, wobei die anfänglich entstandene weiße Emulsion nach kurzem Stehen Krystalle absetzte. Die nach Stehen über Nacht im Eisschrank abgeschiedenen, mit Aceton und Äther gewaschenen und an der Luft getrockneten Krystalle wogen 10.0 g. Sie bestanden aus einem schon ziemlich reinen Gemisch von α - und β -1-Methyl-galakturonsäure-methylester.

0.1203 g Subst. in 10 ccm H₂O: $\alpha_D^{20} = +1.35^\circ$ ($l = 1$); $[\alpha]_D^{20} = +112.2^\circ$.

Bei weiterem Äther-Zusatz lieferte das Filtrat noch 0.45 g eines Gemisches von α - und β -Ester.

0.0733 g zweite Fraktion, in 10 ccm Wasser: $\alpha_D^{20} = +0.59^\circ$ ($l = 1$); $[\alpha]_D^{20} = +80.5^\circ$.

Die Gesamtausbeute des rohen Ester-Gemisches belief sich demnach auf 10.4 g, d. h. etwa 46 % d. Th. Die ätherische Mutterlauge der Ester gab im Vakuum einen auch bei längerer Aufbewahrung nicht krystallisierenden gelben Sirup (etwa 11 g), der gegen Lackmus neutral reagierte und nicht reduzierte.

Um den α - und β -Ester voneinander zu trennen, wurde das Rohprodukt wiederholt fraktioniert aus Aceton umkrystallisiert. Die schwerer löslichen Anteile (etwa 70 %) waren ihrer Krystallform und den Analysen zufolge als α -1-Methyl-*d*-galakturonsäure-methylester anzusprechen. Aus den leichter löslichen Fraktionen der Aceton-Mutterlaugen gelang es schließlich, auch den β -1-Methyl-*d*-galakturonsäure-methylester zu isolieren, der sich bereits äußerlich deutlich durch seine feinen, drusen-bildenden Nadelchen von den größeren Stäbchen und abgeschrägten Platten des α -Esters gut

¹²⁾ W. Voss, A. 485, 272 [1931].

unterscheidet und durch weitere Krystallisation rein dargestellt werden konnte.

α -1-Methyl-*d*-galakturonsäure-methylester: Aus 20 g Galakturonsäure hatten sich nach dem Umkrystallisieren aus Aceton und Trocknen an der Luft und dann im Vakuum über Schwefelsäure 6.6 g reiner α -Ester ergeben, der bei 130° sinterte und bei 140° scharf unt. Zers. schmolz.

0.1236 g Sbst.: 0.1821 g CO₂, 0.0725 g H₂O. — 0.1210 g Sbst.: 0.2354 g AgJ.
C₈H₁₄O₇ + H₂O. Ber. C 39.98, H 6.72, OCH₃ 25.84. Gef. C 40.18, H 6.56, OCH₃ 25.68.

Die Substanz reagierte gegen Lackmus neutral und reduzierte Fehling'sche Lösung nicht. Sie gab keine rote Bleireaktion auf freie Galakturonsäure und reagierte nicht mit fuchsin-schwefliger Säure.

Ihre wäßrige Lösung, mit überschüssiger Natronlauge 12 Stdn. aufbewahrt, verbrauchte, auf 1.0 g Sbst. bezogen, zur Neutralisation gegen Phenol-phthalein 41.2 ccm *n*/₁₀-NaOH; ber. für die vollständige Verseifung des Esters 41.6 ccm *n*/₁₀-NaOH. Aus dem Alkaliverbrauch würde sich demnach ein Gehalt von 12.8% verseifbarem Methoxyl ergeben, ber. 12.9%.

0.1100 g Sbst., in 10 ccm H₂O: $\alpha_D^{20} = +1.38^\circ$ (*l* = 1); $[\alpha]_D^{20} = +125.4^\circ$.

Der α -Ester löst sich leicht in Wasser, Methyl-, Äthyl- und Butylalkohol, Essigester, Aceton und Dioxan, sehr wenig in Chloroform und Äther, nicht in Benzol und Petroläther.

β -1-Methyl-*d*-galakturonsäure-methylester: Aus 20 g Galakturonsäure wurden aus den leichter löslichen Fraktionen durch mehrfaches Umkrystallisieren aus Aceton (s. o.) 1.3 g reiner β -Ester in feinen, weißen, drusenförmig gelagerten Nadelchen erhalten, die, erst an der Luft, dann im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet, kein Krystallwasser enthielten, bei 189° sinterten und zwischen 193—194° schmolzen. Sie reagierten neutral gegen Lackmus; ihre wäßrige Lösung reduzierte nicht und gab keine rote Bleireaktion auf freie Galakturonsäure.

0.03085 g Sbst.: 0.04863 g CO₂, 0.0166 g H₂O. — 0.03265 g Sbst.: 17.99 ccm *n*/₁₀-Na₂S₂O₃¹³⁾.

CH₃O.C₈H₈O₄.COOCH₃. Ber. C 43.22, H 6.35, OCH₃ 27.93. Gef. C 42.99, H 6.02, OCH₃ 28.49.

Bei 12-stdg. Stehen mit überschüssiger Natronlauge verbrauchten 1.0 g des Esters gegen Phenol-phthalein zur Neutralisation 45.4 ccm *n*/₁₀-NaOH; für 1.0 g C₈H₁₄O₇ ber. 45.0 ccm. Aus dem Alkaliverbrauch ergibt sich ein Gehalt des β -Esters von 14.1% verseifbarem OCH₃, ber. 14.0.

0.1064 g Sbst., in 10 ccm Wasser: $\alpha_D^{19} = -0.97^\circ$ (*l* = 2); $[\alpha]_D^{19} = -45.6^\circ$.

Die Substanz bleibt bei längerem Trocknen bei 78° im Vakuum gewichtskonstant, besitzt also kein Krystallwasser. Die Löslichkeit des β -Esters ist ungefähr die gleiche wie die des α -Esters bis auf die etwas leichtere Löslichkeit in Aceton.

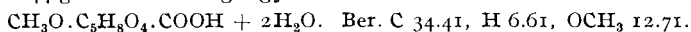
1-Methyl-*d*-galakturonsäure.

α -Verbindung: 4.0 g reiner α -Methylester, $[\alpha]_D^{20} = +125.4^\circ$, wurden in 400 ccm kaltgesättigtem Barytwasser gelöst und 24 Stdn. bei Zimmer-Temperatur aufbewahrt. Die klar und farblos gebliebene Flüssigkeit sättigte man mit Kohlensäure, filtrierte vom Bariumcarbonat ab und versetzte die Lösung vorsichtig mit soviel stark verd. Schwefelsäure, bis nur noch eine geringe Menge Barium darin enthalten war. Nach Abtrennung des Barium-

¹³⁾ Methoxylbestimmung nach Vieböck u. Brecher, B. 63, 2818 [1930].

sulfats dampfte man im Vakuum bei 35–40° auf etwa 30 ccm ein, verrührte mit 150 ccm Alkohol, klärte über Kieselgur und verdunstete das alkohol. Filtrat wieder im Vakuum bei 30–32° bis auf etwa 30 ccm, worauf beim starken Abkühlen reichliche Krystallisation erfolgte. Die Mutterlauge gab bei weiterem Konzentrieren noch einen starken Krystall-Ansatz. Die mit wenig 96-proz. Alkohol und Äther gewaschenen Krystalle wurden im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet; im ganzen erhalten 3.6 g, entspr. 88.5% d. Th. an α -1-Methyl-*d*-galakturonsäure. Die bereits rein in Form ziemlich großer Tafelchen gewonnene Substanz löst sich leicht in Wasser, Methyl- und Äthylalkohol, schwer in Chloroform, nicht in Äther, Essigester und Aceton; sie sintert bei 108° und schmilzt zwischen 109° und 113°.

0.1271 g Sbst. (im Vakuum über Schwefelsäure getrockn.): 0.1598 g CO₂, 0.0724 g H₂O. — 0.1144 g Sbst.: 0.1060 g AgJ.



Gef. „ 34.29, „ 6.37, „ 12.23.

Die Substanz reagiert gegen Lackmus stark, gegen Kongo schwach sauer. Auf 1.0 g bezogen, neutralisiert sie direkt gegen Phenol-phthalein 40.4 ccm n_{10} -NaOH, ber. 41.0 ccm.

0.5069 g verloren durch Trocknen bei 78° im Vakuum ohne Verfärbung 0.0381 g H₂O, entspr. 7.52%, für 1 Mol. H₂O ber. 7.38%; von den 2 Mol. Krystallwasser ist also offenbar eines als Konstitutionswasser gebunden.

0.1189 g krystallwasser-haltige α -Säure, in 10 ccm Wasser: $\alpha_D^{20} = +3.09^{\circ}$ ($l = 2$); $[\alpha]_D^{20} = +129.9^{\circ}$.

Die Substanz reduziert nicht Fehlingsche Lösung und gibt keine rote Bleireaktion auf Galakturonsäure.

Hydrolyse der α -1-Methyl-*d*-galakturonsäure zu *d*-Galakturonsäure: 2.6 g der reinen Säure wurden in 100 ccm $n_{1/2}$ -Schwefelsäure gelöst und am Rückflußkühler auf dem Wasserbade erwärmt. Der Anfangsdrehwert $\alpha_D^{20} = +3.59^{\circ}$ ($l = 1$) sank hierbei zunächst rasch, späterhin nur langsam ab; nach 14 Stdn. drehte die leicht gelb gefärbte Lösung $\alpha_D^{20} = +1.30^{\circ}$ ($l = 1$). Sie reduzierte stark Fehlingsche Lösung und gab intensiv die rote Bleireaktion auf *d*-Galakturonsäure. Die Lösung wurde nunmehr zur Ausfällung der Schwefelsäure mit einem sehr geringen Überschuß Barytwasser versetzt, vom Bariumsulfat abfiltriert und direkt im Vakuum bei 30–35° auf etwa 10 ccm eingengt, die mit 100 ccm 96-proz. Alkohol vermischt wurden. Die von einer ausgeschiedenen Trübung durch Filtration über Kieselgur befreite klare Lösung ergab, im Vakuum konzentriert, einen dünnen, bald krystallisierenden Sirup. Der Krystallbrei wurde mit 96-proz. Alkohol verrührt und abgesaugt; die zurückbleibenden Krystalle wurden mit Alkohol und Äther gewaschen und über Schwefelsäure im Vakuum getrocknet. Gewonnen 1.1 g reinweiße α -*d*-Galakturonsäure, C₆H₁₀O₇ + H₂O.

0.1576 g Sbst. in 10 ccm Wasser ($l = 1$), 3 Min. nach dem Lösen: $\alpha_D^{20} = +1.47^{\circ}$, $[\alpha]_D^{20} = +93.3^{\circ}$, 24 Stdn. nach dem Lösen: $\alpha_D^{20} = +0.83^{\circ}$, $[\alpha]_D^{20} = +52.7^{\circ}$.

β -Verbindung: Die Verseifung des β -1-Methyl-*d*-galakturonsäure-methylesters vollzog sich unter gleichen Bedingungen wie die des α -Esters. 1.4 g β -Ester wurden mit überschüssigem Barytwasser in 24 Stdn. gespalten, das Barium mit der berechneten Menge Schwefelsäure ausgefällt und die geklärte Lösung im Vakuum bei 35–40° völlig abgedampft. Den im Kolben verbleibenden, weißen, krystallinen Rückstand löste man unter Erwärmen in 30 ccm Alkohol und filtrierte vom Ungelösten ab, worauf beim Abkühlen

sich sehr bald lange, feine Nadeln abschieden. Aus der Mutterlauge ließ sich durch Fällung mit Äther noch eine kleine Menge Krystalle gewinnen. Gesamtausbeute: 1.25 g reinweiße β -1-Methyl-*d*-galakturonsäure, entsprechend 87.7% d. Th. Die Substanz löst sich leicht in Wasser, Methyl- und Äthylalkohol und ist unlöslich in Äther. Sie sintert bei 126° und schmilzt unt. Zers. bei 134°.

0.1275 g Stbst. (über Schwefelsäure im Vakuum getrockn.): 0.1750 g CO₂, 0.0738 g H₂O. — 0.1029 g Stbst.: 0.1050 g AgJ.

CH₃O.C₅H₈O₄.COOH + H₂O. Ber. C 37.15, H 6.24, OCH₃ 13.72.

Gef. „ 37.43, „ 6.48, „ 13.47.

Auch die β -Säure reagiert gegen Lackmus stark und gegen Kongo schwach sauer. 1.0 g der Säure neutralisieren direkt gegen Phenol-phthalein 44.1 ccm n_{10} -NaOH, ber. 44.2 ccm.

0.1366 g Stbst. in 10 ccm Wasser: $\alpha_D^{21} = -1.07^\circ$ ($l = 2$); $[\alpha]_D^{21} = -39.2^\circ$.

0.3992 g Stbst. verloren beim Trocknen im Vakuum bei 78° innerhalb von 10 Stdn. 0.0336 g H₂O.

C₇H₁₂O₇ + H₂O. Ber. H₂O 7.97. Gef. H₂O 8.42.

0.1124 g krystallwasser-freie Stbst., in 10 ccm Wasser: $\alpha_D^{30} = -0.91^\circ$ ($l = 2$); $[\alpha]_D^{30} = -40.5^\circ$.

Auch die β -Säure reduziert nicht Fehlingsche Lösung und gibt auch nicht die rote Bleireaktion auf Galakturonsäure; dagegen verliefen diese Reaktionen stark positiv, wenn die β -Säure analog wie die α -Säure mit verd. Schwefelsäure auf dem Wasserbade längere Zeit behandelt wurde. Bei einem Versuch, bei dem 0.2 g β -Säure mit 20 ccm n_{10} -Schwefelsäure erhitzt wurden, stieg die Drehung von -0.78° ($l = 2$) auf $+0.56^\circ$ ($l = 2$) an. Die β -Säure wird also ebenso wie die α -Säure in Methylalkohol und freie Galakturonsäure gespalten.

Spaltung des α -1-Methyl-*d*-galakturonsäure-methylesters durch das Ferment Pektase.

Die Spaltung in Methylalkohol und freie α -1-Methyl-galakturonsäure durch ein aus Luzernensaft gewonnenes Ferment Pektase¹⁰⁾ ließ sich direkt in der ungepufferten Lösung durch Auftreten einer Säuerung und entsprechendes Absinken des p_H-Wertes feststellen.

Es wurden 3 Lösungen parallel bei 30° unter Toluol angesetzt: 1) Eine 1-proz. wäßrige Lösung des α -Esters: Zu Beginn des Versuches p_H: 6.2, ebenso nach 5 Tagen. — 2) 0.2 g Luzernen-Pektase in 50 ccm Wasser gelöst: Zu Beginn des Versuches p_H: 6.2, 10 ccm der Lösung verbrauchten 0.2 ccm n_{10} -NaOH, nach 4 Tagen keine Veränderung. — 3) 0.488 g des reinen α -Esters, in 50 ccm Wasser gelöst + 0.2 g Luzernen-Pektase: Zu Beginn des Versuches p_H: 6.1, 10 ccm der Lösung verbrauchten 0.2 ccm n_{10} -NaOH. Nach 4 Tagen p_H: 4.2; 10 ccm der Lösung verbrauchten nunmehr 1.4 ccm n_{10} -NaOH.

Aus der Zunahme der Acidität ist zu folgern, daß der Ester zu 29.5% in Methylalkohol und freie α -1-Methyl-*d*-galakturonsäure durch das Ferment gespalten worden ist.