

Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft

1936, Nr. 3.

— Abteilung B (Abhandlungen) —

4. März.

91. Herbert Collatz: Hydrazin-Verbindungen der *d*-Galakturonsäure und Isolierung von kristallisierter *d*-Galakturonsäure aus Tabak.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Biochemie in Berlin-Dahlem.]

(Eingegangen am 15. Januar 1936.)

Durch die Untersuchungen von F. Ehrlich und seinen Mitarbeitern sind wir über die Natur der Pektinstoffe, über ihre Zusammensetzung und ihr Vorkommen im Pflanzenreich weitgehend unterrichtet. C. Neuberger und M. Scheuer¹⁾ haben aus grünen Tabakblättern ein Pektin isoliert, das mit dem aus Flachs gewonnenen Ähnlichkeit besaß. Schon frühere Befunde Neuberger und seiner Mitarbeiter²⁾ hatten die Anwesenheit von Pektinstoffen im Tabak sehr wahrscheinlich gemacht. So war bereits zunächst in Ester-Form gebundener Methylalkohol in Substanz erhalten und Uronsäure nachgewiesen worden.

Neuberger und Scheuer zerlegten das Tabak-Pektin in die üblichen Bestandteile und stellten deren Menge zahlenmäßig fest; sie hatten sich jedoch darauf beschränkt, die Galakturonsäure nach Tollens-Lefèvre³⁾ zu bestimmen und lediglich einen kleinen Teil als Calcium-Salz zu isolieren, das durch sein Reduktionsvermögen, die Naphthoresorcin-Probe und durch Oxidation zu Schleimsäure charakterisiert wurde.

Hiernach kann an der Natur der Uronsäure kaum ein Zweifel bestehen; da jedoch auch die der Galakturonsäure isomere Glucuronsäure nach neueren Erfahrungen in Vegetabilien weit verbreitet ist, habe ich auf Veranlassung von Prof. Neuberger die nachstehend beschriebenen Versuche zum einwandfreien Nachweise der *d*-Galakturonsäure durch deren Reindarstellung ausgeführt.

Die Hydrolyse des Pektins wurde ohne vorhergehende Isolierung durch längeres Kochen des fein gemahlten und zunächst mit Wasser ausgelaugten Tabaks mit sehr verdünnter Schwefelsäure bewirkt, in Anlehnung an eine Vorschrift, die K. P. Link und A. D. Dickson⁴⁾ vor einigen Jahren für die Gewinnung der Aldehydsäure aus Pektin angegeben haben. Das nach dem Neutralisieren mit Bariumcarbonat erhaltene uronsaure Salz enthielt etwa ein Drittel seines Gewichtes Calcium-galakturonat, dessen Bildung offenbar auf den Calciumgehalt des Tabaks zurückzuführen ist. Das ge-

¹⁾ C. Neuberger u. M. Scheuer, Biochem. Ztschr. **243**, 461 [1931].

²⁾ Literatur siehe bei C. Neuberger u. M. Scheuer, l. c.

³⁾ K. U. Lefèvre u. B. Tollens, B. **40**, 4513 [1907].

⁴⁾ K. P. Link u. A. D. Dickson, Journ. biol. Chem. **86**, 491 [1930].

mischte Ca-Ba-Salz wurde mit Schwefelsäure und Oxalsäure zerlegt, der schließlich gewonnene Sirup war jedoch so unrein, daß die Uronsäure auch beim Impfen nicht krystallisierte.

Nun haben H. Collatz und I. St. Neberg⁵⁾ ein Verfahren veröffentlicht, nach dem man selbst sehr empfindliche Carbonyl-Verbindungen, wie Glycerinaldehyd und Dioxy-aceton, durch Spaltung ihrer Hydrazone mittels Acetaldehyds überraschend leicht krystallisiert erhält. Es lag nahe, diese Methode auch für den vorliegenden Fall zu benutzen; Hydrazone der Galakturonsäure waren jedoch zur Zeit der Ausführung dieser Arbeit nicht bekannt. Deshalb wurden zunächst aus reinem krystallisierten Material mit Phenyl-hydrazin, *p*-Bromphenyl-hydrazin, *p*-Nitrophenyl-hydrazin und 2,4-Dinitrophenyl-hydrazin die entsprechenden Hydrazone bereitet. Das 2,4-Dinitrophenyl-hydrazon ist schon früher kurz erwähnt worden (H. Collatz und I. St. Neberg, l. c.). Auch ein Thio-semicarbazid-Derivat konnte gewonnen werden. Inzwischen haben Niemann, Schoeffel und Link⁶⁾ das Phenyl-hydrazon, sowie das *p*-Bromphenyl-hydrazon der Galakturonsäure auf dem Umwege über die Ba-Salze der Hydrazone dargestellt.

Alle erwähnten Substanzen, die sofort rein erhalten werden, bilden sich jedoch nur bei Einhaltung bestimmter Bedingungen, insbesondere lassen sie sich nicht aus der verdünnten wäßrigen Lösung der Säure herstellen. Die Bereitung der beiden Nitro-hydrazone wurde in siedender alkoholischer Lösung vorgenommen. Auch ohne Verwendung von reiner krystallisierter Galakturonsäure kann man, allerdings mit geringerer Ausbeute, zu den Hydrazonen gelangen, indem man das Ba-Salz, wie üblich, mit Schwefelsäure zerlegt, den nach dem Eindampfen verbleibenden Rückstand mit Alkohol auskocht und diese Lösung direkt in entsprechender Konzentration mit dem Hydrazin behandelt. Lediglich zur Gewinnung des *p*-Bromphenyl-hydrazons muß man die alkohol. Lösung nochmals eindampfen und dann mit der konz. wäßrigen Lösung der Uronsäure arbeiten. Die Hydrazin-Verbindungen krystallisieren gut und geben die nach der Vorschrift von C. Neberg und M. Kobel⁷⁾ angestellte Naphthoresorcin-Reaktion unter gleichzeitiger Abspaltung des Hydrazin-Restes.

Schließlich wurde aus dem aus Tabak hergestellten Salzgemisch das 2,4-Dinitrophenyl-hydrazon bereitet, das mit dem oben erwähnten völlig identisch war. Seine Spaltung mit Hilfe von Acetaldehyd gelang ohne Schwierigkeit und führte in praktisch quantitativer Ausbeute zu reiner krystallisierter α -*d*-Galakturonsäure.

Beschreibung der Versuche.

I) Hydrazin-Verbindungen der *d*-Galakturonsäure.

1) Phenyl-hydrazon: 1.06 g α -Galakturonsäure⁸⁾ (enthaltend 1 Mol. Krystallwasser) wurden in 3.5 ccm Wasser gelöst und mit 0.54 g Phenyl-hydrazin in 3.5 ccm absol. Alkohol⁹⁾ versetzt. Das Gemisch färbte

⁵⁾ H. Collatz u. I. St. Neberg, *Biochem. Ztschr.* **255**, 27 [1932].

⁶⁾ C. Niemann, E. Schoeffel u. K. P. Link, *Journ. biol. Chem.* **101**, 337 [1933].

⁷⁾ C. Neberg u. M. Kobel, *Biochem. Ztschr.* **243**, 435 [1931].

⁸⁾ Dargestellt nach F. Ehrlich u. F. Schubert, *B.* **62**, 1974 [1929], sowie K. P. Link u. A. D. Dickson, *Journ. biol. Chem.* **86**, 491 [1930], aus „Citrus-Pektin“ der California Fruit Growers Exchange, Ontario, Cal. U. S. A.

⁹⁾ Der zu dieser Arbeit benötigte Alkohol war mit 1% Petroläther vergällt.

sich sofort gelblich, nach einigen Minuten erschienen glitzernde Nadelchen, dann an der Gefäßwand warzen-förmige Aggregate; beim Umschütteln erstarrte das Ganze zu einem fast farblosen Krystallbrei. Nach mehrstündigem Aufbewahren bei 0° wurde abgesaugt, mit wenig absol. Alkohol, dann mit Äther gewaschen und im braunen Vakuum-Exsiccator getrocknet. Aus der Mutterlauge wurde nach vorsichtigem Einengen bei 15—20° eine weitere Fraktion gewonnen. Insgesamt wurden so 1.2 g farblose, feine Nadeln erhalten, die bei 134° (korr.) unt. Zers. schmolzen¹⁰⁾. Ausbeute: 84.5% d. Th. Das Hydrazon war bereits völlig rein; sein Schmelzpunkt änderte sich nicht beim Umkrystallisieren, das durch Lösen in etwa 70 Tln. heißen absol. Alkohols und vorsichtigen Zusatz von Petroläther nach dem Abkühlen geschah.

Zur Analyse diente das einmal umkrystallisierte und im Hochvakuum bei 15—20° über P₂O₅ getrocknete Präparat. 5.040 mg Sbst.: 9.360 mg CO₂, 2.590 mg H₂O. — 2.876 mg Sbst.: 0.253 ccm N (20°, 763 mm, 50-proz. KOH).

C₁₂H₁₆O₈N₂ (284.2). Ber. C 50.67, H 5.68, N 9.86.

Gef. „ 50.66, „ 5.75, „ 10.29.

Die Verbindung ist wenig löslich in kaltem, gut löslich in heißem Wasser. Sie löst sich in der Siedehitze in viel absol. Alkohol, besser in 94-proz. Weingeist, sowie in Dioxan. Bei gewöhnlicher Temperatur ist sie leicht löslich in Pyridin, schwerer in verd. Alkohol und in Methanol. Von den übrigen gebräuchlichen Solvenzien wird sie nicht aufgenommen.

Die Naphthoresorcin-Probe, die nach den Angaben von C. Neuberg u. M. Kobel (a. a. O.) unter Verwendung von 2-n. Salzsäure als Kondensationsmittel angestellt wurde, war stark positiv; beim Ausschütteln mit Äther oder Essigester entstand eine leuchtend violett gefärbte Schicht. Diese trat bei Benutzung von Chloroform, Benzol oder Toluol erst beim Erwärmen und auch dann nur schwächer auf. Durch Zusatz von Alkohol zu der Äther- oder Chloroform-Lösung schlug die Violettfärbung in ein tiefes Blau um.

2) *p*-Bromphenyl-hydrazon: 1.06 g α -Galakturonsäure, gelöst in 3.5 ccm Wasser, wurden bei 15—20° mit einer Lösung von 0.93 g *p*-Bromphenyl-hydrazin in 8 ccm 30-proz. Essigsäure vermischt. Der beim Umschütteln in wenigen Minuten abgeschiedene nahezu farblose Krystallbrei wurde noch einige Stunden bei 0° belassen, abgesaugt, mit Wasser, wenig absol. Alkohol und zuletzt mit Äther gewaschen und im Vakuum-Exsiccator unter Licht-Abschluß getrocknet. Das *p*-Bromphenyl-hydrazon, das in Form farbloser, zu Sternchen vereinigter Nadeln in einer Ausbeute von 1.35 g = 74.4% d. Th. gewonnen wurde, verflüssigte sich bei 152—153° (korr.) unt. Zers.¹¹⁾.

Zur Analyse wurde es aus der 35—40-fachen Menge 50-proz. Methylalkohol umkrystallisiert, wobei sich sein Schmelzpunkt nicht änderte, und im Hochvakuum bei 15—20° über P₂O₅ getrocknet. 4.671 mg Sbst.: 6.800 mg CO₂, 1.780 mg H₂O. — 2.907 mg Sbst.: 0.194 ccm N (21°, 745 mm, 50-proz. KOH). — 0.1984 g Sbst.: 0.1035 g AgBr.

C₁₂H₁₅O₈N₂Br (363.1). Ber. C 39.66, H 4.16, N 7.72, Br 22.01.

Gef. „ 39.72, „ 4.26, „ 7.60, „ 22.20.

Das Hydrazon löst sich schon in der Kälte leicht in Pyridin; es ist beim Erwärmen löslich in Methanol, verd. Alkohol und Dioxan. Von Wasser,

¹⁰⁾ Niemann, Schoeffel u. Link geben für ihr Präparat einen Schmelzpunkt von 140—141° an.

¹¹⁾ Die amerikanischen Autoren fanden den Schmelzpunkt unkorrigiert zu 150—151°.

sowie von absol. Alkohol wird es selbst beim Kochen schwer aufgenommen.

Bei der Prüfung mit Naphthoresorcin verhielt sich die Substanz genau wie das oben beschriebene Phenyl-hydrazon.

3) *p*-Nitrophenyl-hydrazon: Eine Lösung von 1.06 g α -Galakturonsäure in wenig heißem Wasser wurde nach Zusatz von 0.76 g *p*-Nitrophenyl-hydrazin (etwas weniger als 1 Mol.) in 50 ccm absol. Alkohol auf dem Wasserbade $\frac{1}{2}$ Stde. unter Rückfluß gekocht. Beim Abkühlen in Eiswasser erstarrte der Kolben-Inhalt rasch zu einem hellgelben Krystallbrei, der nach mehrstündigem Stehenlassen im Eisschrank abgesaugt, mit wenig absol. Alkohol und dann mit Äther gewaschen und im Vakuum im Dunkeln getrocknet wurde. Erhalten wurden 1.55 g oder 94.2% d. Th.

Zur weiteren Reinigung wurde die Verbindung durch längeres Kochen am Rückflußkühler in etwa 300 Tln. absol. Alkohol gelöst, nötigenfalls filtriert und nach dem Erkalten langsam mit Petroläther versetzt; hierbei krystallisierte sie in hellgelben, zu Sternchen gruppierten Nadeln aus. Das Hydrazon schmilzt unt. Zers. bei etwa 170—175°, sein Verflüssigungs-Punkt hängt sehr von der Geschwindigkeit des Erhitzens ab.

Analysiert wurde das 2-mal umkrystallisierte und im Hochvakuum über Phosphor-pentoxyd getrocknete Produkt. 4.459 mg Sbst.: 7.095 mg CO₂, 2.070 mg H₂O. — 0.0870 g Sbst.: 9.75 ccm N (21°, 756 mm, 50-proz. KOH).

C₁₂H₁₆O₈N₂ (329.2). Ber. C 43.74, H 4.59, N 12.77.

Gef. „ 43.41, „ 5.20, „ 12.94.

Die Verbindung ist wenig löslich in kaltem, löslich in heißem Wasser. In Methyl- und Äthylalkohol löst sie sich auch beim Kochen sehr schwer, auf Zugabe von Wasser bedeutend leichter. In Pyridin löst sie sich, besonders beim Erwärmen, ziemlich leicht auf. In Dioxan und den übrigen organischen Solvenzien ist sie unlöslich.

Die Naphthoresorcin-Reaktion gelang am besten bei Verwendung von Chloroform zum Ausschütteln, das beim Erwärmen den typischen, leuchtend violetten Farbstoff aufnahm. Mit Äther und Essigester wurden rotviolette Lösungen erhalten, Benzol und Toluol färbten sich auch beim Erhitzen nur schwach violett. Zusatz von Alkohol rief sowohl in der Chloroform-, als auch in der Äther-Lösung eine dem Methylenblau ähnliche Nuance hervor.

4) 2,4-Dinitrophenyl-hydrazon: Ein zum Sieden erhitztes Gemisch von 2.97 g 2,4-Dinitrophenyl-hydrazin und 250 ccm absol. Alkohol wurde mit 3.18 g fein gepulverter, krystallisierte α -Galakturonsäure versetzt und am Rückflußkühler 1 Stde. gekocht. Die Säure und der zunächst noch ungelöste Teil des Hydrazins gingen, namentlich bei häufigem Umschütteln, rasch in Lösung, und bald begann die Abscheidung eines gelben, gallertigen Krystallbreis. Über Nacht wurde das Produkt im Eisschrank belassen, alsdann abgesaugt und zunächst mit wenig absol. Alkohol und schließlich mit Äther gewaschen. Es bildete nach dem Trocknen im dunklen Vakuum-Exsiccator eine harte Krystallkruste, die beim Zerreiben in ein gelbes, mikrokrySTALLINES, sandiges Pulver überging, das bei 152° (korr.) unt. Zers. schmolz. Der Schmelzpunkt blieb beim Umlösen, wobei die Krystalle größer wurden, unverändert. Der Ertrag an reinem Hydrazon belief sich auf 5.5 g = 98.0% d. Th.

Zur Analyse wurde die Substanz durch Aufnehmen in 160 Tln. heißem Dioxan und vorsichtigen Zusatz von Petroläther zu der erkalteten Lösung umkrystallisiert und bei

15—20° im Hochvakuum über P_2O_5 getrocknet. 4.439 mg Sbst.: 6.325 mg CO_2 , 1.690 mg H_2O . — 0.0876 g Sbst.: 11.65 ccm N (23°, 760 mm, 50-proz. KOH).

$C_{12}H_{14}O_{10}N_4$ (374.2). Ber. C 38.48, H 3.77, N 14.98.
Gef. „ 38.87, „ 4.26, „ 15.34.

Das Galakturonsäure-2.4-Dinitrophenyl-hydrazon krystallisiert in gelben, sehr feinen Nadeln; es löst sich in Wasser und in absol. Alkohol auch beim Erhitzen nur wenig, etwas leichter in 94-proz. Alkohol und in Methanol. Es ist löslich in heißem verd. Methyl- und Äthylalkohol, sowie in viel heißem Dioxan. Ziemlich leicht löst es sich beim Erwärmen in Pyridin; auch in heißem Essigester ist es etwas löslich.

In alkohol. Kalilauge geht die Verbindung mit bordeauxroter Farbe über, wie dies für Mono-dinitrophenyl-hydrazone charakteristisch ist.

Bei der Prüfung mit Naphthoresorcin lieferte nur Ausschütteln mit Chloroform unter Erwärmen eine typische, leuchtend violette Lösung, die auf Zusatz von Alkohol den üblichen Farbumschlag zeigte. Bei Verwendung von Äther oder Essigester trat eine unspezifische, wohl durch den Hydrazinrest bedingte, rotstichig violette bzw. rote Nuance auf.

5) Thio-semicarbazid-Verbindung: Die Lösungen von 1.06 g α -Galakturonsäure in 3 ccm heißem Wasser und von 0.45 g Thio-semicarbazid in 4 ccm heißem Wasser wurden vermischt und noch 10 Min. auf dem Wasserbade erwärmt. Beim Aufbewahren bei 0° krystallisierte die Verbindung nach mehreren Stunden und bildete schließlich eine dichte, rein weiße Krystallmasse, die am nächsten Tage abgesaugt und mit absol. Alkohol gewaschen wurde. Aus der Mutterlauge wurde beim Eindunsten noch eine weitere kleine Portion gewonnen. Die Gesamt-ausbeute an luft-trockner Substanz betrug 1.31 g, entsprechend 86.5% d. Th. Schmp. 147° (korr.) unt. Zers. Aus etwa 15 Tln. 50-proz. Methylalkohol krystallisiert die Thio-semicarbazid-Verbindung in farblosen, zu Büscheln vereinigten Nadeln mit unverändertem Schmelzpunkt.

1.0206 g umkrystallisierte, luft-trockne Substanz verloren im Hochvakuum bei gewöhnlicher Temperatur über P_2O_5 im Laufe einer Woche 0.0616 g H_2O .

$C_7H_{16}O_7N_3S + H_2O$ (303.2). Ber. H_2O 5.94. Gef. H_2O 6.04.

Zur Analyse wurde das im Hochvakuum getrocknete Präparat benutzt. Der Kohlenstoffgehalt wurde nach dem Verfahren von Messinger¹²⁾ auf nassem Wege durch Oxydation mit Chromsäure ermittelt, da bei seiner Bestimmung nach der üblichen Methode Schwierigkeiten auftraten. Der Gehalt an Schwefel wurde nach den Angaben desselben Autors (l. c.) durch Oxydation mittels Permanganats festgestellt. Wasserstoff wurde durch Elementar-analyse bestimmt. 0.1009 g Sbst.: 0.1082 g CO_2 . — 5.038 mg Sbst.: 2.370 mg H_2O . — 3.371 mg Sbst.: 0.429 ccm N (22°, 745 mm, 50-proz. KOH). — 0.1407 g Sbst.: 0.1150 g $BaSO_4$.

$C_7H_{16}O_7N_3S$ (285.2). Ber. C 29.45, H 5.30, N 14.74, S 11.24.
Gef. „ 29.25, „ 5.26, „ 14.44, „ 11.23.

Die Verbindung enthält also 1 Mol. H_2O mehr, als einem Thio-semicarbazon entsprechen würde, außerdem noch 1 Mol. Krystallwasser. Sie löst sich leicht in Pyridin bei gelindem Erwärmen, ziemlich leicht in heißem Wasser und in heißem 50-proz. Methylalkohol, etwas schwerer beim Kochen mit wasser-freiem Methanol oder verd. Weingeist. In absol. oder 94-proz. Alkohol ist sie auch in der Hitze wenig löslich.

¹²⁾ J. Messinger. B. 21, 2910 [1888], 23, 2756 [1890].

Der typische Naphthoresorcin-Farbstoff ging in alle Lösungsmittel, teilweise allerdings erst beim Erwärmen, mit kräftiger Farbe über.

II) Isolierung von krystallisierter *d*-Galakturonsäure aus Tabak.

1) Vorbereitung des Tabaks: 3 kg Tabakblätter (Schifferstadt), deren Rippen zuvor entfernt worden waren, wurden fein gemahlen, alsdann 2-mal mit je 50 l Wasser bei gewöhnlicher Temperatur je 24 Stdn. sowie 3-mal mit derselben Menge Wasser je 1 Stde. bei 50—55° in zu Wasserbädern hergerichteten großen Emailletöpfen unter häufigem Umrühren ausgelaugt. Nach jeder Extraktion wurde koliert und gut abgepreßt. Der auf diese Weise¹³⁾ von Nicotin, Zuckern und Salzen befreite Rückstand wog nach dem Trocknen an der Luft 1.6 kg und enthält, wie durch Entwässerung einer Probe im Vakuum bei 15—20° über P₂O₅ ermittelt wurde, 85 % Trockensubstanz.

2) Ca-Ba-Galakturonat: 120 g luft-trockener Tabak wurden, ähnlich wie von Link und Dickson (a. a. O.) für Pektin beschrieben ist, mit 2 l 2.5-proz. Schwefelsäure 20 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Eine filtrierte Probe gab alsdann sehr starke Naphthoresorcin-Reaktion; Fehlingsche Lösung wurde in der Kälte schwach, beim Kochen stark reduziert. Die Gesamtmenge wurde nun, ohne Entfernung des Tabak-Rückstandes, heiß mit BaCO₃ neutralisiert, anschließend noch 15 Min. mit Tierkohle gekocht und abgesaugt. Das schwach gelbe Filtrat wurde bei 50° im Vakuum auf etwa 200 ccm eingengt, nochmals filtriert und unter gutem Rühren in die 4-fache Menge Alkohol eingetropft. Das ausgefällte Salz wurde abgesaugt, mit Alkohol und schließlich mit Äther gewaschen und im Vakuum-Exsiccator getrocknet. Aus 12 solchen Ansätzen wurden 155 g noch etwas gelbes Rohprodukt erhalten, aus 120 g Tabak also durchschnittlich rund 13 g.

Zur weiteren Reinigung wurde die Gesamtmenge in 1 l heißem Wasser gelöst, mit Tierkohle geschüttelt, nach dem Erkalten abgesaugt und abermals, wie oben, mit der 4-fachen Menge Alkohol gefällt. Die gleiche Behandlung wurde noch 2-mal unter Verwendung von 600 ccm Wasser als Lösungsmittel vorgenommen. Das so gewonnene, rein weiße uronsaure Salz (111 g) enthielt noch 14 % Feuchtigkeit, wie durch Trocknen einer Probe im Hochvakuum bei 78° ermittelt wurde; es bestand zu rund $\frac{2}{3}$ aus Ba-Galakturonat, der Rest erwies sich im wesentlichen als galakturonsaures Calcium.

3) *d*-Galakturonsäure-2.4-Dinitrophenyl-hydrazon: 50 g des Gemenges aus Ca- und Ba-Galakturonat wurden in 200 ccm Wasser gelöst und mit 36 ccm 20-proz. Schwefelsäure (etwas weniger als auf den Ba-Gehalt berechnet) zerlegt. Um den Niederschlag besser filtrierbar zu machen, wurde noch $\frac{1}{2}$ Stde. bei 35—40° aufbewahrt, alsdann unter Zusatz von Kieselgur abgesaugt und das klare Filtrat unter kräftigem Rühren in die 10-fache Menge Alkohol eingetropft. Das ausgefällte galakturonsaure Calcium wurde nach einiger Zeit abgesaugt und mit Alkohol und Äther ausgewaschen. Seine Menge betrug, im Exsiccator getrocknet, 18 g.

Das die freie Uronsäure enthaltende wäßrig-alkoholische Filtrat wurde im Vakuum bei 35° eingedampft und der zurückbleibende Sirup anteilweise mit insgesamt 500 ccm absol. Alkohol ausgekocht. Die vereinigten Extrakte wurden nach etwa 1-stdg. Aufbewahren bei 0° filtriert und nach Zusatz von

¹³⁾ vergl. C. Neuberg u. M. Scheuer, a. a. O.

5 g 2,4-Dinitrophenyl-hydrazin 1 Stde. am Rückflußkühler im Sieden erhalten. Das Hydrazin ging beim Umschütteln rasch in Lösung. Das beim Abkühlen in Eiswasser sich langsam gallertartig abscheidende gelbe Hydrazon wurde über Nacht im Eisschrank belassen, alsdann abgesaugt und in der üblichen Weise mit wenig absol. Alkohol und Äther gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Erhalten wurden 3.05 g. Der Schmelzpunkt lag um 2° zu niedrig, stieg jedoch nach 1-maligem Umkrystallisieren aus Dioxan + Petroläther auf 152° (korr.) und zeigte beim Mischen der Substanz mit dem aus krystallisierter Galakturonsäure bereiteten 2,4-Dinitrophenyl-hydrazon keine Depression.

Das durch Alkohol gefällt Ca-Salz (18 g) wurde in 100 ccm Wasser gelöst und durch Zugabe von 5 g krystallisierter Oxalsäure in 75 ccm Wasser die Uronsäure in Freiheit gesetzt, wobei ein Überschuß an Oxalsäure sorgfältig vermieden wurde. Nach dem Absaugen des Niederschlages wurde die wäßrige Lösung im Vakuum bei 35° Bad-Temperatur eingedampft und der sirupöse Rückstand portionsweise mit im ganzen 400 ccm absol. Alkohol ausgekocht. Der alkohol. Auszug wurde ungefähr 1 Stde. in Eis gekühlt, alsdann filtriert und mit 4 g 2,4-Dinitrophenyl-hydrazin 1 Stde. unter Rückfluß gekocht. Nachdem das Reagens in Lösung gegangen war, begann bald die Abscheidung des typischen Hydrazons. Das Reaktionsgemisch blieb bis zum nächsten Tage im Eisschrank, dann wurde der Niederschlag abgesaugt, wie zuvor gewaschen und getrocknet. Das in einer Ausbeute von 5.4 g gewonnene Produkt war bereits völlig rein und schmolz richtig bei 152° (korr.) unt. Zers. Aus der Mutterlauge wurden durch nochmaliges 1-stdg. Kochen mit 3 g Dinitrophenyl-hydrazin noch 0.6 g einer weniger reinen, bei 150° (korr.) sich verflüssigenden Substanz erhalten, die nach 1-maligem Umkrystallisieren ebenfalls bei 152° (korr.) schmolz. Beide Fraktionen erfuhren im Gemisch mit dem direkt aus der Uronsäure hergestellten Präparat keine Erniedrigung ihres Schmelzpunktes.

4) Darstellung der *d*-Galakturonsäure aus ihrem 2,4-Dinitrophenyl-hydrazon.

4.5 g reines Galakturonsäure-2,4-Dinitrophenyl-hydrazon wurden in einer etwa 500 ccm fassenden Druckflasche unter Kühlung mit 150 ccm Acetaldehyd übergossen; dann wurden vorsichtig 150 ccm eiskaltes Wasser, ebenfalls unter guter Kühlung, zugefügt und das Gemisch nach dem Verschließen des Gefäßes unter Einhaltung der von Collatz und Neuberg (l. c., u. zw. S. 30) angegebenen Vorsichts-Maßregeln 3 Stdn. im Wasserbade auf 80° erhitzt. Nach völligem Erkalten wurde die Flasche noch in Eiswasser gekühlt und das abgeschiedene Acetaldehyd-Dinitrophenyl-hydrazon von der hellgelben Lösung durch Absaugen getrennt und mit kaltem Wasser gewaschen. Seine Menge betrug 2.7 g, genau so viel, wie berechnet; der Schmelzpunkt lag nach dem Umkrystallisieren aus Methylalkohol (Tierkohle) bei 165° (korr.); Mischprobe.

Das die Uronsäure enthaltende wäßrige Filtrat wurde zur Entfernung des Acetaldehyds im Vakuum, zunächst bei gewöhnlicher Temperatur, dann bei 35°, auf etwa $\frac{1}{3}$ eingengt, nochmals von einer Spur ausgefallenen Hydrazons abfiltriert, durch 3-maliges Ausschütteln mit Essigester von gelöstem Hydrazon befreit, durch kurzes Schütteln mit etwas Knochenkohle vollständig entfärbt und zuerst im Vakuum bei 35°, dann im Vakuum-Exsiccator

zum schwach gelb gefärbten Sirup eingedampft; er krystallisierte beim Impfen und Verreiben rasch und bildete schließlich eine harte Kruste. Die Ausbeute betrug 2.42 g oder 94.9% d. Th., ber. auf die krystallwasser-haltige α -Form der Säure.

Der Krystallbrei wurde mit wenig 80-proz. Alkohol angerieben, abgesaugt, mit 94-proz. Alkohol gewaschen und im Vakuum über H_2SO_4 getrocknet. Im Röhrchen erhitzt, begann die Galakturonsäure ab 110^0 zu sintern und in ihrem Krystallwasser zu schmelzen. Sie färbte sich zwischen 130^0 und 140^0 rötlich, bei etwa 150^0 bräunlich, wie von Ehrlich und Schubert (a. a. O.) beschrieben ist; im Gegensatz zu den genannten Autoren konnte jedoch ein scharfer Endpunkt nicht ermittelt werden. Ebenso verhielt sich ein nach ihren Angaben aus Tetragalakturonsäure hergestelltes Präparat.

Die Prüfung auf optische Aktivität, die mit einer wäßrigen Lösung der Säure vorgenommen wurde, ergab: 5 Min. nach dem Lösen: $[\alpha]_D^{23} = +84.38^0$ ($\alpha = +1.48^0$, $l = 1$, $c = 1.754$), 24 Stdn. nach dem Lösen: $[\alpha]_D^{23} = +50.74^0$ ($\alpha = +0.89^0$).

Ehrlich und Schubert (l. c.) geben als End-Drehung der α -d-Galakturonsäure $[\alpha]_D^{23} = +50.9^0$ an.

2 ccm der zur Polarisation benutzten Lösung, enthaltend 35.08 mg, verbrauchten bei Verwendung von Phenolphthalein als Indicator 1.65 ccm $n/_{10}$ -NaOH, entspr. 34.98 mg α -Säure.

Die Konstanten der Uronsäure änderten sich beim Umkrystallisieren aus Wasser nicht; sie gab sehr starke Naphthoresorcin-Reaktion. Fehlingsche Lösung wurde in der Kälte nicht, beim Erwärmen kräftig reduziert.

92. O. Hinsberg: Über β -Phenylsulfid (II. Mitteil.)¹⁾.

(Eingegangen am 13. Januar 1936.)

In Verfolg der Versuche zur Darstellung des β -Phenylsulfids hat sich ergeben, daß die Ausbeuten an Perchlorat, $(\beta-C_6H_5 \cdot S \cdot C_6H_5)_2$, $HClO_4$, bedeutend besser werden, und daß ein reineres Produkt erzielt wird, wenn man die Einwirkung der Überchlorsäure auf das α -Phenylsulfid bei Gegenwart größerer Mengen von Essigsäure oder Propionsäure vor sich gehen läßt. Bei der Verseifung des so erhaltenen Perchlorats werden 65% des angewandten α -Sulfids an rohem β -Sulfid erhalten.

Die Isolierung des reinen β -Sulfids aus dem Rohprodukt läßt sich bei Verwendung größerer Mengen, die nach dem neuen Verfahren leicht erhaltbar sind, durch fraktionierte Destillation erreichen, da es etwa 30^0 höher siedet als die α -Verbindung. Die früher mitgeteilte Beobachtung, daß bei der Destillation der β -Verbindung eine teilweise Umlagerung in die α -Verbindung stattfindet ist, nach neuerdings angestellten Versuchen, irrtümlich. Außerdem wurde festgestellt, daß sich β -Phenylsulfid, entgegen den früher gemachten Angaben, im geschlossenen Rohr 3 Stdn. auf $290-300^0$ erwärmen läßt, ohne Veränderung zu erleiden. Erst wenn man das β -Sulfid bei Gegenwart von wenig Phosphorpentoxyd etwa 30 Min. zum gelinden Sieden erwärmt, gelingt die Umlagerung, wobei allerdings Nebenprodukte in kleiner

¹⁾ O. Hinsberg, Über Iso-phenylsulfid und seine Derivate, B. **62**, 127 [1929]. Die Bezeichnung „Iso-“ ist inzwischen durch „ β -“ ersetzt worden.