

Verseifung mit Bariummethylat.

15 g Nitro-Holz wurden mit 120 ccm 1.7-n. methylalkohol. Bariummethylat-Lösung 4 Stdn. am Rückflußkühler unter Abschluß der Luftkohlen-säure gekocht, zentrifugiert und mit Methanol gewaschen, wobei ein Rückstand von 15.9 g verblieb, der noch kurz mit 5-proz. Essigsäure gewaschen wurde und dann auf knapp 14 g abnahm. Verlust an Ester-N war nur zu 0.2% eingetreten.

0.1506 g Sbst.: 25.7 ccm NO (20°, 764 mm), das sind 10.0% Ester-N.

255. Hermann Frieze und Hanni Glassner: Die Darstellung und Sulfonierung des Lignins aus Buchenholz (VIII. Mitteil. über Lignin).

[Aus d. Organ.-chem. Institut d. Techn. Hochschule Berlin.]

(Eingegangen am 26. Mai 1937.)

Vor kurzem wurde gezeigt, daß es möglich ist, Roggenstroh und Fichtenholz¹⁾ durch den Abbau mit Schwefelsäure/Essigsäure-anhydrid/Eisessig in die Komponenten zu spalten. Die Polysaccharide werden zu einfachen Zuckeracetaten hydrolysiert, das Lignin wird sulfoniert und mit Hilfe der Ultrafiltration in einen höher molekularen und einen ultrafiltrierbaren Anteil getrennt, deren Analysendaten hinlänglich übereinstimmen.

Die Reaktion wurde jetzt auch auf Rotbuchenholz ausgedehnt, dessen Ligningehalt nach R. S. Hilpert²⁾ durch empfindliche Kohlenhydrate des Holzes vorgetauscht sein soll. Zur Verwendung kam ein Reaktionsgemisch, das 5.5 Vol.-% Schwefelsäure enthielt. Der Versuch, in ähnlicher Weise ausgeführt wie früher beschrieben, lieferte einen ungelösten Anteil von rotbrauner Farbe in einer Ausbeute von 8% des angewandten Buchenholzes. Er besaß 48.85% C, 5.0% H, 3.48% S, 6.7% OCH₃ und 15% Essigsäure, die aber nicht den Endwert darstellen. Infolge des geringeren Schwefelsäuregehalts des Ansatzes war die Menge des Rückstandes größer als beim Fichtenholz. Eine Nachhydrolyse mit 10-proz. Schwefelsäure spaltete das Präparat in einen Kohlenhydrat-Anteil, der als ätherlösliches Acetat isoliert wurde, und einen sulfonierten Lignin-Anteil.

Die saure Reaktionslösung wurde wie üblich mit Wasser und Chloroform in zwei Fraktionen getrennt. Die Chloroformlösung hinterließ nach dem Eindunsten einen hellgelben Sirup, der bald durchkristallisierte und frei von Methoxyl und Schwefel war. Nach der Umrechnung auf freies Kohlenhydrat betrug die Ausbeute 54% des Ausgangsmaterials.

Die saure wäßrige Lösung lieferte nach dem Entfernen der flüchtigen Säuren, Neutralisieren mit überschüss. Bariumcarbonat, Auskochen des Salzkuchens mit viel Wasser und Eindunsten unter vermindertem Druck einen Rückstand, der zunächst mit absol., dann mit 80-proz. Methanol ausgekocht wurde. Beide Extraktionen lieferten nach der weiteren Aufarbeitung insgesamt noch 7% freie Zucker. Auch nun trat wieder eine gleichzeitig in Chloroform und Wasser lösliche Fraktion auf, wie beim Roggenstroh beschrieben; sie machte 11% des angewandten Holzes aus. Die Spaltung in Lignin und Zuckerkomponente verlief schwieriger als dort beschrieben.

¹⁾ H. Frieze, B. **70**, 1059 [1937].

²⁾ B. **68**, 380 [1935].

Die auch in 80-proz. Methanol nicht gelöste Substanz enthielt das sulfonierte Lignin als Bariumsalz. Durch die Methode der Ultrafiltration gelang es mittels eines Ultrafilters „fein“, zunächst den höher molekularen Anteil abzutrennen. Die Ausbeute betrug 7%, erreichte also die beim Fichtenholz erzielte nicht ganz. Das Präparat stellte ein braunes Pulver dar und enthielt 43.06% C, 4.28% H, 5.55% S, 13.73% Ba und 12.45% OCH₃. Aus der Übereinstimmung dieser Werte mit denjenigen der auf gleichem Wege gewonnenen Substanzen aus Roggenstroh und Fichtenholz muß der Schluß gezogen werden, daß ein grundsätzlicher Unterschied im Lignin der einzelnen Holzarten nicht besteht. Der leicht erhöhte Kohlenstoffgehalt ist auf den größeren Methoxylwert zurückzuführen. Die Acetylierung des Produktes verursachte erhebliche Schwierigkeiten. Der Wert der anderen Präparate konnte nicht erreicht werden, doch ist dies aus der Natur des Materials zu erklären.

Auch das Ultrafiltrat ließ sich durch weitere Ultrafiltration durch ein Filter „feinst“ und Fraktionierungsversuche in Präparate aufteilen, die einen von 0% auf 12% steigenden Methoxylwert und einen von 45% auf 14% fallenden Bariumgehalt hatten.

Zur Übersicht seien die Daten der nicht ultrafiltrierbaren Lignin-Derivate tabellarisch zusammengefaßt. Die Analysenwerte der Ligninsulfonsäuren

Holzart:	% C	% H	% S	% Ba	% OCH ₃	
Buche	43.06	4.28	5.55	13.73	12.45	
Fichte	42.4	3.87	5.34	14.0	11.59	
Kiefer	42.6	3.9	5.49	13.98	11.5	unveröffentlicht
Roggenstroh ...	42.68	3.95	5.12	14.65	8.99	

der einzelnen Holzarten stimmen also innerhalb der Fehlergrenze, die natürlich für hochmolekulare Substanzen etwas weiter gezogen werden muß als für wohlkristallisierte Verbindungen, überein. Es kommt noch hinzu, daß Bariumsalze von Sulfonsäuren überhaupt schwierig zu verbrennen sind. Werden die Ergebnisse zu einer Bruttoformel ausgewertet, so ergibt sich folgendes Bild:

Buche: C₃₆H₄₂O₂₁S₂Ba; Fichte, Kiefer und Roggenstroh: C₃₆H₃₉O₂₁S₂Ba.

Sie führen also zu einer einheitlichen Vorstellgung, der erhöhte Wasserstoffwert des Buchenholzes bleibt außer Betracht. Wenn weiter angenommen wird, daß die Schwefelsäure nicht sulfurierend, sondern addierend unter Bildung einer Hydroxyl- und Sulfonsäuregruppe gewirkt hat, so lautet die gemeinsame Formel: C₃₆H₃₇O₁₃. Eine Teilung durch vier führt zu dem gleichen Grundkörper C₉H₁₀O₃₋₄, wie ihn K. Freudenberg³⁾ oder K. Storch⁴⁾, der auch C₁₈ diskutiert, für ihr Lignin annehmen. Wird dagegen nur eine sulfurierende Tätigkeit der Schwefelsäure in Betracht gezogen, so kommt man zu einer Verbindung, deren Kohlenstoffwert gegenüber dem ursprünglichen Lignin zu niedrig ist, während der %-Gehalt an Sauerstoff dementsprechend eine unwahrscheinliche Erhöhung aufweist. Die Formel würde dann C₃₆H₄₁O₁₅ lauten, mit einem Gehalt von 60.56% C und 5.79% H, während die Verbindung C₃₆H₃₇O₁₃ dem ursprünglichen Lignin offensichtlich viel besser entspricht, sie enthält 63.78% C und 5.5% H.

³⁾ z. B. B. **70**, 500 [1937].

⁴⁾ Cellulosechem. **17**, 51 [1936].

Einer endgültigen Lösung wird dieses Problem, das für die Chemie des Lignins nicht ohne Bedeutung ist, jedoch erst später an Hand anderer Versuche zugeführt werden.

Beschreibung der Versuche.

In ein unter Eiskühlung hergestelltes Gemisch von 650 ccm Essigsäureanhydrid, 350 ccm Eisessig und 60 ccm konz. Schwefelsäure wurden 150 g mit Aceton extrahiertes und getrocknetes Rotbuchenholzmehl eingetragen. Das Holz nahm nach kurzer Zeit eine grüne Färbung an, die bald violett wurde; die Temperatur innerhalb der Reaktionsflüssigkeit stieg rasch auf 45°, so daß gekühlt werden mußte. Nach einiger Zeit war eine leicht viscosa, dunkle Lösung entstanden, die 6 Stdn. auf 47° erwärmt wurde, dann 6 Stdn. bei 45° und schließlich 8 Stdn. bei 50° gehalten wurde. Nach dem Abzentrifugieren vom Rückstand wurde dieser gründlich mit Chloroform, Eisessig und Wasser gewaschen. Er wog 12.8 g und hatte 48.85% C, 5.0% H, 3.48% S, 6.7% OCH₃ und 14.98% Essigsäure.

0.1591 g Sbst.: 0.2853 g CO₂, 0.0697 g H₂O. — 0.1292 g Sbst.: 0.0328 g BaSO₄. — 0.1571 g Sbst.: 0.0799 g AgJ. — 0.1522 g Sbst.: verbraucht 1.9 ccm *n*/₅-NaOH.

Zur Spaltung wurden 10 g der Substanz fein gepulvert und 4 Tage auf dem Wasserbade mit 200 ccm Wasser gequollen, anschließend 18 ccm Schwefelsäure zugesetzt und 16 Stdn. im Ölbad von 115—120° gekocht. Nach dem Abzentrifugieren und Waschen mit Wasser hinterblieben 6 g einer dunkelbraunen Substanz, die nun 10.2% Methoxyl und 3.93% S besaß.

0.1552 g Sbst.: 0.1197 g AgJ. — 0.1487 g Sbst.: 0.0425 g BaSO₄.

Die saure, wäßrige Lösung wurde mit Bariumcarbonat von der Schwefelsäure befreit und solange mit Wasser abgedunstet, bis keine flüchtige Säure mehr überging. Der verbliebene helle Sirup (3.2 g) wurde mit 25 ccm Pyridin und 20 ccm Essigsäureanhydrid bei 55—60° acetyliert, wobei alles in Lösung ging. Nach dem Eindunsten unter vermindertem Druck blieb eine dunkle Substanz zurück, die erschöpfend mit Äther ausgekocht wurde. Der nicht aufgenommene Anteil (0.4 g) war dunkelbraun und verharzt, während das ätherlösliche Acetat (4.5 g) einen hellen, zur Krystallisation neigenden Sirup darstellte und 70.10% Essigsäure besaß. Die Substanz war frei von Methoxyl und Schwefel.

0.1592 g Sbst.: verbraucht 9.3 ccm *n*/₅-NaOH.

Die saure Reaktionslösung wurde in ein Gemisch von 1 l Wasser und 3 l Chloroform eingerührt. Nach der Schichtentrennung extrahierte man den wäßrigen Anteil noch einmal mit Chloroform. Die Chloroformlösung war nach einigen Tagen völlig blank geworden; sie wurde unter vermindertem Druck zum leichten Sirup eingedunstet, der nach einiger Zeit durchkrystallisierte. Nach dem Absaugen auf einer Glasfritte und Waschen mit Äthylalkohol blieben 22.7 g weiße Krystalle zurück, die sich nach dem Schmp. 229° als α-Celluloseacetat erwiesen. Aus der restlichen Lösung ließen sich 143 g eines Zuckeracetats isolieren, das frei von Schwefel und Methoxyl war und 72.93% Essigsäure besaß.

0.1555 g Sbst.: verbraucht 9.55 ccm *n*/₅-NaOH.

Die wäßrige Lösung wurde solange mit Bariumcarbonat versetzt, bis gerade Barium in der Lösung auftrat, abgesaugt, das Filtrat bei 45° im Vak. bis zur Entfernung der flüchtigen Säuren mit Wasser abdestilliert, dann auf

750 ccm aufgefüllt, zuerst auf dem Wasserbade und dann durch Kochen im Ölbad bei 115° mit Bariumcarbonat vollkommen neutralisiert, abfiltriert und der zurückgebliebene Salzkuchen noch einmal erschöpfend mit heißem Wasser ausgezogen. Als Rückstand verblieb ein bräunlicher Salzkuchen, der zunächst 2-mal mit je 500 ccm Methanol ausgekocht wurde. Die Methanol-Lösung hinterließ 33.7 g mit einem Bariumgehalt von 25.69%. Die anschließend erfolgende Extraktion mit der gleichen Menge 80-proz. Methanol lieferte 6.2 g eines gleichen Präparates.

Acetylierung des methanol-löslichen Anteils.

33.0 g der Substanz wurden mit 240 ccm Pyridin und 180 ccm Essigsäureanhydrid 8 Stdn. auf dem Wasserbade unter Rühren acetyliert, anschließend durch eine Glasfritte gesaugt und der Rückstand mit Chloroform ausgekocht (2-mal je 150 ccm). Er wog dann 17.15 g, war methoxylfrei und besaß 45.75% Ba, er konnte also als sulfoessigsäures Barium angesprochen werden.

0.1523 g Sbst.: 0.1184 g BaSO₄.

Die Pyridin-Anhydrid-Lösung wurde mit dem Chloroform-Filtrat vereinigt und unter vermindertem Druck eingedunstet. Eine erschöpfende Extraktion mit insgesamt 600 ccm Äther lieferte 17.2 g eines Zucker-acetates, welches weder Schwefel noch Methoxyl besaß, dagegen 62.4% Essigsäure.

0.1496 g Sbst.: verbraucht. 7.7 ccm $n/_{16}$ -NaOH.

Vor der weiteren Aufarbeitung des Chloroform-Auszuges sei eingeschaltet, daß 6 g des in 80-proz. Methanol löslichen Anteils unter den gleichen Bedingungen zur Acetylierung angesetzt wurden. An unlöslichem Rückstand verblieben 3.4 g, die aber nur 35.26% Ba besaßen. Die Ätherlösung hinterließ nur 0.3 g; der chloroformlösliche Teil wurde mit der oben beschriebenen Chloroform-Lösung vereinigt. Nach dem Abdunsten des Lösungsmittels blieben insgesamt 17.6 g, die bis auf einen geringen Rückstand in Wasser löslich waren. Zur Spaltung wurde die Substanz mit 200 ccm 10 Vol.-% Schwefelsäure 2 Tage auf dem Wasserbade behandelt, durch eine Glasfritte von etwa 1.0 g schwarzem Rückstand abgesaugt und weiter insgesamt 32 Stdn. im Ölbad bei 115° gekocht, wobei kein Niederschlag mehr entstand, die Schwefelsäure mit Bariumcarbonat abgestumpft und die Lösung mit Wasser abdestilliert, bis die geringe Menge an vorhandener Essigsäure abdestilliert war, schließlich mit überschüssigem Bariumcarbonat wiederum durch Kochen im Ölbad vollständig neutralisiert, das Filtrat eingedunstet, wobei 15 g eines zähflüssigen Sirups zurückblieben, der nur 1.5% Barium besaß. Er war stickstoffhaltig, aber frei von Pyridin. Die weitere Aufarbeitung ist noch nicht abgeschlossen.

Aufarbeitung des Lignin-Anteils.

Der auch in 80-proz. Methanol unlösliche Salzkuchen (insgesamt 28.8 g; 24% Ba, 6.2% OCH₃) wurde in 5-proz. wäßriger Lösung durch ein Ultrafeinfilter „fein“ filtriert, wobei ständig gerührt und an der Pumpe gesaugt wurde. Nach 3-maliger Zugabe von frischem Lösungsmittel wurden aus 325 ccm Filtrat nur noch 0.2 g eines Lösungs-Rückstandes erhalten, dessen Bariumgehalt 15.12% betrug, so daß der Vorgang als beendet angesehen werden konnte.

Die auf der Nutsche verbliebene konzentrierte dunkelbraune Lösung wurde mit viel Alkohol gefällt und ergab insgesamt 9.8 g eines braunen

Pulvers, das im Durchschnitt 43.06% C, 4.28% H, 5.55% S, 13.73% Ba und 12.45% OCH_3 besaß.

4.340 mg Sbst.: 6.850 mg CO_2 , 1.730 mg H_2O (4.46% H); 0.2054 g Sbst.: 0.3245 g CO_2 , 0.0780 g H_2O (4.25% H). — 0.1846 g Sbst.: 0.0749 g BaSO_4 (S). — 0.1033 g Sbst.: 0.0241 g BaSO_4 (Ba). — 0.1456 g Sbst.: 0.1380 g AgJ.

Bei Makro-Analysen wurde der Wasserstoffwert im Durchschnitt immer zu 4.2—4.3% gefunden und dürfte daher richtiger sein.

Das gesammelte Ultrafiltrat ging noch einmal durch ein Ultrafeinfilter „feinst“, wobei 4.0 g zurückblieben, die 23.26% Ba enthielten und sich weiter aufteilen ließen. Die wäßrige Lösung wurde ebenfalls durch Fällen mit Methanol in verschiedene Fraktionen aufgeteilt, die sich wie früher beschrieben verhielten, so daß auf eine Fortsetzung des Versuches verzichtet werden konnte.

256. Hermann Fink: Über die Isolierung der natürlichen Harnporphyrine*).

[Aus d. landwirtschaftl.-tierärztl. Fakultät d. Universität Berlin und d. Institut für Gärungsgewerbe.]

(Eingegangen am 14. Mai 1937.)

Bei aller Wichtigkeit, die dem Studium pathologischer Porphyrin-Ausscheidungen zukommt, und so wichtig auch die chemische Aufklärung der in pathologischen Fällen auftretenden Porphyrinfarbstoffe ist, so wurde es als ein ebenso bedeutendes Problem bezeichnet^{1) 3)}, den normalen Fall des gesunden Menschen zu studieren und klar zu stellen, welche Porphyrine im normalen Harn vorkommen. Daß diese Frage trotz der jahrelangen Bemühungen von Chemikern und Medizinern solange unbeantwortet blieb, hängt damit zusammen, daß in 1 l Harn von gesunden Menschen, wie wir heute wissen, nur etwa 10—20 γ Porphyrin vorkommen. Die Isolierung im kristallisierten Zustande und damit die Identifizierung schienen bisher unüberwindliche Schwierigkeiten zu bereiten. Wenn auch durch die eingehenden spektroskopischen Untersuchungen von H. Fischer¹⁾, von Schumm²⁾ u. a. bewiesen worden war, daß im ätherlöslichen Porphyrin Koproporphyrin vorliegt, so blieb in der Folgezeit immer noch im Dunkeln, welches von den isomeren Koproporphyrinen, vor allem, ob Koproporphyrin I oder das dem Blutfarbstoff näher stehende Koproporphyrin III im normalen Urin enthalten ist. Auf die grundlegende biologische Bedeutung dieser Frage, auf die ich hier leider nicht weiter eingehen kann, ist in früheren Jahren immer wieder von H. Fischer¹⁾ und H. Kämmerer³⁾ hingewiesen worden, von denen letzterer dieses Problem geradezu als einen Angelpunkt für die Deutung in der Biologie der Porphyrine betrachtete.

*) Vortrag, gehalten beim Reichstreffen der Deutschen Chemiker in München am 9. Juli 1936.

¹⁾ Verh. dtsh. Ges. inn. Med. 45, 21 [1933]; H. Fischer, Abderhaldens Handb. d. biolog. Arbeitsmeth. I/11, H. 2 [1927].

²⁾ Spektrochem. Analyse natürl. organ. Farbstoffe. Fischer 1927.

³⁾ Verh. dtsh. Ges. inn. Med. 45, 30 [1933].