

Über das Anthochlor von *Linaria vulgaris* (gemeines Leinkraut)

Von

LEOPOLD SCHMID und WALTHER RUMPEL

Aus dem II. Chemischen Universitäts-Laboratorium in Wien

(Vorgelegt in der Sitzung am 11. Dezember 1930)

Die als Anthochlor bezeichneten, gelben Blütenfarbstoffe, die im Zellsaft gelöst vorkommen, haben von botanischer Seite eine rege Bearbeitung gefunden. G. KLEIN bringt in seiner Arbeit „Studium über das Anthochlor“¹ bei 43 Arten den Nachweis für Anthochlor. Im Gegensatz dazu sind die chemischen Versuche, die dem Konstitutionsproblem dieser Verbindungen näher traten, sehr spärlich. Im Falle des Dahlien-Anthochlors konnten SCHMID und WASCHKAU² den Nachweis erbringen, daß dort ein Gemisch zweier Farbstoffe vorliegt, von denen der eine mit Sicherheit als Apigenin erkannt wurde. Über den Begleiter soll demnächst berichtet werden. Einen aus *Antirrhinum majus* isolierten Farbstoff untersuchte WHELDALE³ und erkannte diesen ebenfalls als Apigenin. G. KLEIN (Literatur siehe oben) teilt Versuche über „Mikrochemische Kristallisation“ und über das Verhalten des Farbstoffes bei Anwendung mikrochemischer Methoden mit. Literatur über weitere Arbeiten, die aber vor allem vom botanischen Gesichtspunkte aus unternommen wurden (siehe unten⁴).

Auch über den Linarienfarbstoff ist bisher nur bekannt, daß es möglich war, ihn auf mikrochemischem Wege zur Kristallisation zu bringen. Bevor wir das Studium dieses Körpers beginnen konnten, mußte zunächst die Methodik ausgearbeitet werden, ihn makrochemisch zu isolieren und zur Kristallisation zu bringen, da die mikrochemischen Methoden nicht ohne

¹ Monatsh. Chem. 41, H. 7 und 8, 1920, bzw. Sitzb. Ak. Wiss. Wien (II b) 129, H. 7 und 8, 1920.

² Monatsh. Chem. 49, 1928, S. 83, bzw. Sitzb. Ak. Wiss. Wien (II b) 137, 1928, S. 83.

³ Biochem. Ztschr. (7) 87, S. 141.

⁴ Siehe Monatsh. Chem. 49, 1928, S. 83, bzw. Sitzb. Ak. Wiss. Wien (II b) 137, 1928, S. 83, und die Arbeit von G. KLEIN.

weiteres auf die Isolierung im großen Maßstabe zu übertragen waren. Das in Arbeit genommene Blütenmaterial war teils in der Umgebung von Wien, teils im oststeirischen Niederwechelgebiet, in der Umgebung von Friedberg, gesammelt worden. Orientierende Vorversuche zeigten uns bald, daß der Farbstoff mit Eisessig leicht in Lösung geht und daraus mit Äther fällbar ist. Etwas schwerer löslich ist der Farbstoff in mäßig warmem Alkohol. Zur Isolierung zogen wir die Extraktion mit Alkohol vor, weil sich zeigte, daß erstens die warmen alkoholischen Extrakte beständig sind, zweitens, weil die rohen Alkoholauszüge sympathischere Eigenschaften hatten als die Ätherfällungen aus Eisessig. Der Farbstoff konnte aus dem Pflanzenmaterial durch kochenden Alkohol ziemlich vollständig extrahiert werden. Aus den heiß filtrierten Auszügen schied sich beim Abkühlen ein gallertig aussehender Körper ab. Nach Filtrieren davon wurde die Mutterlauge weiter eingeengt. Beim Abkühlen dieser fielen weitere Partien des gallertigen Körpers aus. Bei der Aufarbeitung der Mutterlaugen wurde nun das Hauptaugenmerk darauf gelegt, ob wir es mit einem einheitlichen Farbstoff zu tun haben oder mit einem Gemenge solcher. Daß auf diesen Umstand besonders zu achten ist, wurde bereits mehrfach bei Blütenfarbstoffen festgestellt⁵. Daß unser Farbstoff von dieser Erscheinung keine Ausnahme machte, konnte man auf folgendem Weg zeigen: Der erwähnte, gallertige Körper gab im reinen Zustande mit Alkalien intensive Gelbfärbung, ebenso die aus den Mutterlaugen gewonnenen Anteile desselben. Die letzten Mutterlaugen gaben in alkalischer Lösung eine Rotfärbung, die eben auf das Vorliegen eines zweiten Farbstoffes hindeuteten. Es wurde daher bei der Isolierung des zuerst ausfallenden Farbstoffes auf eine vollständige Aufarbeitung der Mutterlaugen verzichtet. Jedoch soll über den zweiten Farbstoff in einer weiteren Arbeit noch berichtet werden.

Der zuerst ausfallende Farbstoff ist im Rohzustande braun gefärbt. Durch lange fortgesetzte Alkoholbehandlung gelang es schließlich, ihn als schwach gelb gefärbtes, vollständig homogenes Produkt vom Zersetzungspunkt 230° zu erhalten. Zersetzungspunktsbestimmungen an verschiedenen Alkoholfraktionen zeigten immer gleiches Verhalten. Das isolierte Produkt ist löslich in Wasser, Alkohol, Methylalkohol, Essigester und fällt aus ersteren drei Lösungsmitteln in der Kälte gallertartig aus, zeigt hingegen

⁵ WILLSTÄTTER, Ann. 412, S. 136 und 231.

aus Essigester seidenglänzende Nadeln. In Alkohol gelöst, mit Bleiessig versetzt, gibt es eine Bleiverbindung. Seine Eisenchloridreaktion in wässriger Lösung ist schmutziggrün. Alkalien erzeugen je nach der Konzentration Gelb- bis Orangegebfärbung, die beim Ansäuern der Lösung wieder verschwindet. Durch öfteres Umlösen aus Alkohol konnte der Schmelzpunkt um 10° erhöht werden, so daß dieser bei reinstem Material mit 240° unter Zersetzung anzugeben ist. Nach sehr langsamem Erhitzen ist der Zersetzungspunkt etwas tiefer. Die Analyse ergab einen stickstoff-, halogen- und schwefelfreien Körper, dessen Löslichkeit in Ätzalkalien auf Vorhandensein von Hydroxylgruppen hinwies, was sich ja auch später durch die leichte Azetylierbarkeit erhärten ließ. Die Verbrennung ergab 54.62% C und 5.86% H.

Zur Entscheidung der Frage, ob der Linarienfarbstoff ein Glukosid ist, wurde ein Teil davon mit 10%iger alkoholischer Salzsäure in der Wärme behandelt, hierauf die Lösung mit Wasser versetzt, wobei ein zuckerfreier Bestandteil ausfiel, dessen Filtrat deutlich FEHLINGSCHE Lösung reduzierte. Die quantitative Verfolgung dieses Vorganges führte zu dem Ergebnis, daß der glukosidische Farbstoff in ein Aglukon vom Schmelzpunkt 200° übergeht, an welches ein Mol. Hexose und ein Mol. Methylpentose gebunden waren. Die Menge des Zuckers wurde durch eine Gesamtzuckerbestimmung nach BERTRAND ermittelt. Für das Vorliegen einer Hexose spricht der Erhalt eines Phenylsazons vom Schmelzpunkt 210° , ferner ein quantitativ durchgeführter Gährungsversuch. Die Methylpentose ließ sich qualitativ nachweisen durch die Bildung eines roten Methylfurfurol-Phlorogluzids nach der Pentosenreaktion von KRÜBER-TOLLENS. Auf eine zweite Art gelang der Nachweis dieser Menthylpentose nach der Resorzinreaktion von BAYER-ROSENTHALER⁶. Schließlich konnten wir das Vorliegen einer Menthylpentose noch beweisen durch die Reaktion mit Pyrogallol von BAYER-ROSENTHALER und mit Anilinazetat. Nach Vergärung der Hexose wurde schließlich noch ein Pentosazon dargestellt, dessen Schmelzpunkt jedoch auf die offenstehende Frage nach der Art der Menthylpentose keine befriedigende Antwort gab. Aus unseren Versuchen geht jedoch mit Sicherheit hervor, daß die Farbkomponente des Linariafarbstoffes mit je einem Mol. einer Hexose und einem Mol. Methylpentose glukosidisch verknüpft ist. Die Glukosidspaltung wurde

⁶ Ber. D. ch. G. 5, S. 26; Ann. 48, S. 169.

mittels 10%iger alkoholischer Salzsäure und in einem zweiten Versuch mit 5%iger Schwefelsäure durchgeführt. Mit besserem Erfolg wurde mit Salzsäure hydrolysiert, da das Aglukon bei weitem reiner ausfiel. Das Aglukon konnte nach mehrfachem Umfällen aus Alkohol-Wasser rein dargestellt werden und war in diesem Zustande ein lichtgelbes Pulver, dessen Schmelzpunkt bei 200° liegt. Es ist im Hochvakuum sublimierbar zwischen 130 und 150°. Das Sublimat bildet zitronengelbe Nadelchen, die sehr scharf bei 200 bis 201° schmolzen. Der Mischschmelzpunkt des sublimierten Körpers mit dem durch Alkohol-Wasser-Behandlung erhaltenen Aglukon lag unverändert zwischen 200 und 201°, was wir als eine Bestätigung dafür ansehen dürfen, daß das nach Wasserfällung erhaltene Produkt den gleichen Reinheitsgrad besitzt wie das sublimierte. Es ist löslich in Alkohol, Äther, Essigester, Eisessig, Alkalien. Die Lösung in Alkalien zeigt wie die des Glukosids das gleiche Verhalten, nämlich Gelb- bis Orangegebfärbung, je nach Wahl der Konzentration. Ebenso zeigen die bei der Sublimation erhaltenen Nadeln dieselbe Erscheinung. Aus Äther ist das Produkt kristallisiert zu erhalten. Zur Analyse wurde sublimiertes Material verwendet. Das Produkt lieferte C = 64·88%, H = 4·45%, was einer Formel von $C_{17}H_{14}O_6$ entsprechen würde.

Während das Glukosid, in Lauge gelöst, intensive FEHLINGSCHER Reaktion gab, zeigte das Aglukon diese Reaktion nicht mehr. Das Aglukon erwies sich methoxylhaltig. Die Mikromethoxylbestimmung nach PREGL-ZEISEL vom sublimierten Produkt lieferte 18·52% OCH_3 . Dieser Wert zeigt wohl das Vorhandensein von Methoxylgruppen an, doch stimmt er unter der Annahme der Formel $C_{17}H_{14}O_6$ auf das Vorliegen von zwei Methoxylgruppen nicht mit Exaktheit; diese Erscheinung bedingt naturgemäß eine gewisse Unsicherheit in der Aufstellung der Bruttoformel. Das Aglukon ist azetylierbar. Zur Ermittlung der Funktion der Sauerstoffatome wurde die Azetylierung vorgenommen. Diese führte zu einem Produkt vom Schmelzpunkt 145—146°. Das Azetylprodukt hatte für uns die weitere Bedeutung, daß es nach seiner Rückverseifung zum Ausgangsmaterial dieses quantitativ in seiner ursprünglichen Form zurückgebildet hatte. Darin dürfen wir wohl den sicheren Beweis sehen, daß wir es mit einem reinen, einheitlichen Farbstoff zu tun hatten. Eine weitere Bedeutung hatte das Azetylprodukt noch dadurch, daß es uns zwei azetylierbare Hydroxylgruppen erkennen läßt unter der Voraussetzung, daß der Farbstoffkomponente die Formel $C_{17}H_{14}O_6$ zukommt. Das

Azetylprodukt, welches durch dreistündiges Kochen von *reinem* Aglukon mit überschüssigem Essigsäureanhydrid erhalten wurde, fiel nach Überführen des Essigsäureanhydrides mit Alkohol in Essigester und Abdestillieren desselben nach Wasserzusatz als grauweißes Produkt aus, welches durch Lösen in Alkohol und Fällen mit Wasser vom definitiven Schmelzpunkt 145—146° erhalten wurde. Die Verbrennung lieferte 63·31% C und 4·97% H, die Methoxylbestimmung 14·11%. Gelbfärbung mit Lauge konnte nicht mehr beobachtet werden, jedoch trat diese nach längerer Berührung mit Lauge wieder auf. Das Azetylprodukt ist löslich in Alkohol, Essigester, Benzol und Chloroform, unlöslich in Äther und Wasser. 10%ige alkoholische Salzsäure spaltete die Azetylgruppen nach dreistündigem Kochen ab. Die Verseifung lieferte ein Produkt vom Schmelzpunkt 200°. Ein Mischschmelzpunkt mit dem Aglukon, Gelbfärbung mit Lauge, Ätherlöslichkeit, Sublimation im Hochvakuum und darauffolgender Schmelzpunkt bewiesen, daß wir es mit unverändertem Aglukon zu tun hatten.

Um die Konstitution zu ermitteln, entschlossen wir uns zum alkalischen Abbau, da uns orientierende Vorversuche gezeigt haben, daß bei der alkalischen Zersetzung eine Reihe kristallisiert fäßbarer Produkte entstehen. Ein Abbau mit 72%iger Kalilauge lieferte in guter Ausbeute nach Sublimation der Spaltprodukte im Hochvakuum (140—160°) ein kristallisiertes Produkt, das nach dem Umlösen aus viel heißem Wasser den Schmelzpunkt 184° aufzeigte. Die Verbrennung dieses Produktes ergab auf Anissäure stimmende Werte. Es war außerdem methoxylhaltig. Die Vermutung, daß man es mit Anissäure zu tun hatte, wurde noch durch den Mischschmelzpunkt mit analysereiner Anissäure bestätigt, der keine Depression zeigte. Von sechs im Farbstoffmolekül angenommenen Sauerstoffatomen dürften wir auf Grund unserer Methoxylbestimmungen mit einiger Wahrscheinlichkeit zwei als verätherte Phenolsauerstoffe ansprechen. Zwei weitere Sauerstoffatome müssen auf Grund unseres Azetylierungsversuches ebenfalls als in phenolischer Bindung angenommen werden. Nun wäre es naheliegend, auf Grund der Analysenergebnisse ein Flavon von der Formel $C_{17}H_{14}O_6$ anzunehmen, in welchem zwei Hydroxylgruppen veräthert sind. So verlockend diese Formulierung auf den ersten Blick auch erscheinen mag, so wollen wir dies aber aus dem Grund nicht vorschlagen, weil bei dem alkalischen Abbau neben der Anissäure merkwürdigerweise in verhältnismäßig guter Ausbeute ein Kohlenwasserstoff zu isolieren war, der

natürlich nach den bisherigen Analysenergebnissen nicht ohne weiteres zu erwarten ist. Da nun die Isolierung des Farbstoffes und der Abbau zu jener Stufe einige Zeit erfordert, so wollen wir unsere bisherigen Versuchsergebnisse deshalb mitteilen, um uns die weitere Bearbeitung dieses Problems zu sichern.

Beschreibung der Versuche.

I. Isolierung des Ausgangsmaterials. Glukosidgewinnung.

Die Blüten wurden vor dem Trocknen von Kelch und Stengel befreit, sodann längere Zeit zum Trocknen an der Luft liegen gelassen. Es erwies sich als empfehlenswert, alle chlorophyllhaltigen Teile noch bei den frischen Blüten zu entfernen. In getrocknetem Zustande ist dies viel mühsamer. Binnen einer Woche war das gesamte Blütenmaterial bei Zimmertemperatur getrocknet. Die Blüten wurden zunächst partienweise mit Petroläther bei Siedetemperatur kurz gewaschen, um eventuell vorhandene Fette zu entfernen. Das mit Petroläther behandelte Material wurde wieder an der Luft vom Petroläther getrocknet und dann erst dem eigentlichen Extraktionsverfahren zugeführt. Das Blütenmaterial wurde sechs Stunden lang im Rundkolben partienweise mit Alkohol unter Rückfluß gekocht, der Extrakt durch einen Heißwassertrichter filtriert und kalt gestellt. Auf dieselben Blüten wurde jedesmal frischer Alkohol aufgegossen, abermals sechs Stunden gekocht und wie oben verfahren. Dieser Vorgang wurde viermal wiederholt; die Blüten waren nun nahezu farblos. Aus den kalt gestellten Extrakten fiel ein gallertartiger Stoff aus, der nach dem Filtrieren und Waschen mit wenig Alkohol und Äther gelbliches Aussehen hatte. Die Mutterlaugen, welche stark dunkelbraun angefärbt waren, wurden bei 60° im Vakuum eingengt und abermals kalt gestellt. Es konnte wieder eine ziemliche Menge Material gewonnen werden, das aber viel unreiner war und den von der Mutterlauge herrührenden, braunroten Farbstoff hartnäckig festhielt. Wegen des mit der Konzentration des Extraktes Hand in Hand gehenden, absteigenden Reinheitsgrades des jeweilig ausfallenden Produktes wurde auf eine quantitative Aufarbeitung des Extraktes auf diesem Wege verzichtet. Theoretisch ist von Interesse, daß man noch von der Fähigkeit des Glukosids, mit Bleiazetat eine Fällung zu geben, Gebrauch

machen konnte, um aus den Mutterlaugen die letzten Materialanteile unseres Körpers herauszuholen, wie am Ende dieses Abschnittes erwähnt werden soll. Nach dem Trocknen und Pulverisieren wurde das Rohprodukt zwei Tage lang im Soxhlet'schen Extraktionsapparat mit Alkohol behandelt, wonach es wesentlich lichter erschien. Da die Substanz sich jedoch zu einem harten Klumpen zusammenballte, konnte der Alkohol schlecht ins Innere eindringen und so die Reinigung nicht zu einem befriedigenden Resultat geführt werden. Daher wurde das Extraktionsverfahren unterbrochen, die Substanz in dem vorliegenden partiell gereinigten Zustande im Heißwasser-Exsikkator getrocknet, wieder gut pulverisiert und abermals mit Alkohol im Soxhlet behandelt. Dies wurde dreimal wiederholt; die Substanz hatte nahezu weißes Aussehen. Zersetzungspunkt bei 230°.

Wir haben oben erwähnt, daß die letzten Anteile des Glukosids aus den Mutterlaugen über das Bleisalz herausgeholt werden konnten. Praktisch ist diese Gewinnungsmethode bedeutungslos, da sie ein sirupartiges Glukosid liefert, auf dessen Isolierung man verzichten mußte und es besser gleich zum Aglukon hydrolysierte. Es wurde folgendermaßen verfahren: Die stark konzentrierten, alkoholischen Mutterlaugen wurden erhitzt, mit Bariumhydroxyd alkalisch gemacht, hierauf mit soviel Bleiessig versetzt, bis nichts mehr ausfiel. Das Bleisalz war fleischrot, in getrocknetem Zustand dunkelrotbraun. Es wurde nach Filtration mehrmals mit heißem Wasser ausgewaschen, bis die Waschflüssigkeit keine FEHLINGSCHE Reaktion mehr zeigte. Das Filtrat war natürlich noch immer, u. zw. infolge der alkalischen Reaktion, ganz besonders dunkelrotbraun gefärbt, was unsere Vermutungen für das Vorliegen eines Begleitfarbstoffes, der nicht mit Bleiessig fällbar ist, bestätigte. Das Bleisalz wurde im Heißwasser-Exsikkator getrocknet, pulverisiert, in möglichst wenig Eisessig gelöst, von Ungelöstem filtriert, mit wenig 10%iger alkoholischer Salzsäure versetzt. Das ausfallende Bleichlorid wurde filtriert, das Filtrat mit viel überschüssigem Äther (etwa 50faches Volum) versetzt, worauf eine sirupartige Fällung resultierte. Nach 24 Stunden wurde die überstehende Flüssigkeit abgegossen und die Ätherfällung mit Äther gewaschen. Eine Hydrolyse mit 10%iger alkoholischer Salzsäure bei Wasserbadtemperatur, 20 Minuten lang, lieferte ein Aglukon, welches nach dem Reinigen dieselbe Beschaffenheit hatte, wie das nach der Hydrolyse des weißen Glukosids erhaltene.

II. Analyse und Eigenschaften des Glukosids.

Nach der in I. beschriebenen Reinigungsmethode mittels Soxhlet-Extraktion lag ein weißes Produkt vor, das den Schmelzpunkt unter Zersetzung bei 230° aufzeigte. Umlösen aus Alkohol erhöhte den Zersetzungspunkt auf 240°, der beim langsamen Erhitzen aber niedriger war. Eine qualitative Prüfung auf Stickstoff, Schwefel und Halogen fiel negativ aus. Das Glukosid ist ein amorphes weißes Pulver.

Löslich in Alkohol	bei Siedehitze, in der Kälte gallertartig ausfallend
„ „ Wasser	bei Siedehitze, in der Kälte gallertartig ausfallend.
„ „ Essigester	bei Siedehitze, kristallisiert beim Abkühlen in seiden-glänzenden Nadeln.
„ „ Eisessig	in der Kälte, mit Äther daraus fällbar.
„ „ Alkalien	unter Gelbrotfärbung, die Säuren wieder rück-gängig macht.
„ „ konz. Schwefel-säure	unter Gelbfärbung.

Die Lösung in Alkohol oder Alkalien zeigt FEHLINGSche Reaktion. Die Eisenchloridreaktion in wässriger Lösung war grün-gelb.

Analyse:

4.480 mg Substanz ergaben 8.972 mg CO₂, 2.345 mg H₂O.

Ber. für C₂₉H₃₄O₁₅ + 1 H₂O: C 54.37, H 5.66%.

Gef.: C 54.62, H 5.86%.

Es ist im Hochvakuum nicht sublimierbar und gibt ein weißes Bleisalz.

III. Glukosidspaltung und Zuckernachweis.

1.3550 g Glukosid wurden mit 50 cm³ 10%iger alkoholischer Salzsäure zwei Stunden lang unter Rückfluß am Drahtnetz gekocht. Das Glukosid löste sich allmählich mit goldgelber Farbe auf. Es wurde noch heiß von eventuellen Verunreinigungen filtriert. Hierauf wurde die Lösung bei 60° im Vakuum eingeeengt, wobei sich ein Teil des Aglukons ausschied. Nach dem Einengen wurde mit heißem Wasser versetzt, wodurch das Aglukon vollständig ausfiel. Es wurde einmal aus Alkohol-Wasser umgefällt, filtriert, getrocknet und gewogen. Ausbeute: 0.5401 g. Es sei er-

wähnt, daß zur Gewinnung des Aglukons die Hydrolyse mit 10%iger alkoholischer Salzsäure der Hydrolyse mit Schwefelsäure vorzuziehen ist.

Qualitativer und quantitativer Nachweis der Pentose.

Qualitativ wurde eine Pentose nachgewiesen:

a) mittels der BAYER-ROSENTHALERSCHEN Reaktion ⁷.

Das Saccharid (etwa ein halbes Gramm) wurde wie bei der Pentosanbestimmung (siehe später) mit Salzsäure destilliert; es wurde mit 30 cm³ 12%iger Salzsäure destilliert und unter jedesmaliger Hinzugabe von 5 cm³ 12%iger Salzsäure neunmal 5 cm³ und das zehnte Mal 10 cm³ abdestilliert. Dem gesammelten Destillat wurde ein gleiches Volum Salzsäure und ein wenig Resorzin zugegeben und die Flüssigkeit einige Minuten lang am siedenden Wasserbade erhitzt. Es entstand eine lichterote Färbung, welche auf das Vorhandensein von Methylpentose schließen ließ.

b) Nach der BAYER-ROSENTHALERSCHEN Pyrogallolreaktion.

Das Saccharid wurde wie oben destilliert, nur wurde dem vereinigten Destillat Pyrogallol zugefügt, worauf eine Violett-färbung zu beobachten war, die auch für das Vorhandensein von Methylpentose sprach.

c) Das Pentosandestillat gab mit Anilinazetat eine Gelbfärbung ⁸, siehe unter quantitativen Versuch.

d) Das mit Salzsäure überdestillierte Methylfurfurol gab mit Phlorogluzin einen für Methylfurfurolphlorogluzin charakteristischen, roten Niederschlag, der sich in 90%igem Alkohol bei 60°, ohne einen Rückstand, der von Furfurol-Phlorogluzid her-rühren könnte, zu hinterlassen, löste. Wäre noch Furfurolphlorogluzid zugegen gewesen, hätte ein schwarzgrüner Rückstand bleiben müssen.

e) Etwas Glukosid wurde mit 5%iger Schwefelsäure hydrolysiert, die Hydrolysenflüssigkeit wie bei der Vergärung (siehe dort) mit Bariumkarbonat behandelt. Die alkoholischen Extrakte der Bariumkarbonatmasse wurden zur Trockene verdampft, mit Wasser aufgenommen und mit frischer Hefe bei 38° vier Stunden

⁷ Ann. Physik 48, 1909, S. 169.

⁸ SCHIFF, 20, S. 540; Ann. Physik 201, S. 355.

lang belassen. Nach dieser Zeit mußte Hexose vollständig vergoren sein, während die Pentose nicht angegriffen wurde. Flüssigkeit samt Hefe wurden zur Trockene verdampft, der Rückstand mit 96%igem Alkohol aufgenommen, ausgekocht, erkalten gelassen und filtriert. Da nach diesem Verfahren die Hefe nicht auf einmal entfernt werden konnte, wurde genannte Behandlung noch viermal wiederholt. Das letzte Mal wurde der Rückstand mit Wasser aufgenommen und noch einmal filtriert. Hierauf wurde mit einem Überschuß an Natriumazetat versetzt und mit etwas Phenylhydrazinchlorhydrat eine Stunde lang am siedenden Wasserbad erhitzt. Nach Ablauf dieser Zeit wurde mit Wasser verdünnt, worauf das Osazon ausfiel. Das abgeschiedene Osazon wurde nach Filtration aus verdünntem Alkohol umgelöst, mit Azeton rasch gewaschen. Trotz wiederholter Reinigung behielt das Osazon seinen Schmelzpunkt 156° , der auf nichts Charakteristisches hinwies. Wir begnügten uns daher, mit ersteren vier Reaktionen die Methylpentose zu identifizieren. Ob Rhamnose oder Fukose vorliegt, ist aber noch in Frage gestellt.

Quantitativ wurde die Methylpentose nachgewiesen durch die KRÜGER-TOLLENS-KRÖBERSCHHE Phlorogluzinmethode. 1.0751 g Saccharid wurden mit 100 cm^3 12%iger Salzsäure in einem 250-cm^3 -Veresterungskolben (nicht in einem gewöhnlichen Rundkolben), der mit einem kleinen Scheidetrichter, Destillierbügel und Kühler versehen war, auf dem Drahtnetz erhitzt. Durch den Kolben strich ein gleichmäßiger Luftstrom; dadurch wurde das Stoßen der Flüssigkeit vermieden. Nachdem 30 cm^3 abdestilliert waren, wurden 30 cm^3 10%ige Salzsäure in den Kolben zugegeben und wiederum 30 cm^3 abdestilliert. Dies geschah so oft, bis im ganzen etwa 400 cm^3 Destillat erhalten waren. Den gesammelten Destillaten wurden 0.8 g Phlorogluzin, in heißer, verdünnter Salzsäure gelöst, zugesetzt. Die Flüssigkeit färbte sich anfangs orangegelb, nach 24 Stunden hatte sich ein rotbrauner Niederschlag zu Boden gesetzt, der durch einen bei 98° getrockneten Sintertiegel filtriert, gut mit Wasser gewaschen und nach dem Trocknen bei 98° im Trockenschrank nach kurzem Abkühlen im Exsikkator rasch gewogen wurde, da die Substanz hygroskopisch war.

1.0436 g Substanz ergaben 0.1327 g Phlorogluzid, entsprechend 0.19685 g Rhamnosehydrat.

Ber. für $\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{O}_{15} + \text{H}_2\text{O}$: 25.62%.

Gef.: 18.86%.

Qualitativer und quantitativer Nachweis der
Hexose.

Qualitativ wurde die Hexose nachgewiesen:

a) durch die Vergärungsprobe (siehe dort),

b) durch die charakteristische Bildung eines Osazons vom Schmelzpunkt 210°. Das Osazon wurde auf folgende Art erhalten: Die Pentose des Glukosids wurde bei der Pentosandestillation mit 10%iger Salzsäure, wie oben beschrieben, quantitativ zerstört. Nach Filtration des bei dieser Hydrolyse erhaltenen Aglukons enthielt die Flüssigkeit nur mehr Hexose, die sich gegen die Salzsäurebehandlung resistent erwiesen hatte. Die durch Kochen mit Tierkohle entfärbte Flüssigkeit wurde mit einem großen Überschuß an Natriumazetat versetzt, etwas Phenylhydrazinchlorhydrat zugegeben und zwei Stunden am siedenden Wasserbad erhitzt. Nach Ablauf dieser Zeit wurde die Flüssigkeit mit Wasser verdünnt, das ausgefallene Osazon filtriert und dreimal aus verdünntem Alkohol umgelöst, wonach sein Schmelzpunkt von 210° konstant blieb. Ein Mischschmelzpunkt mit Glukosazon ergab keine Depression.

Quantitativ wurde die Hexose durch Vergärung im Lohnsteinschen Apparat nachgewiesen. Es wurde dabei nach folgendem Rezept verfahren: 0.5866 g Glukosid wurde während zwei Stunden mit 20 cm³ 4%iger Schwefelsäure auf dem Drahtnetz unter Rückfluß gekocht. Nach erfolgter Hydrolyse wurde das Aglukon filtriert und mit Wasser gut nachgewaschen. Das Filtrat wurde mit einem geringen Überschuß an Bariumkarbonat neutralisiert. Die Flüssigkeit wurde samt Bariumsalzmasse bis zur Trockene verdampft, die trockene Masse mehrere Male gut mit Alkohol ausgekocht. Die Extrakte wurden filtriert, gut nachgewaschen, der Alkohol abgedampft und der sirupöse Rückstand mit möglichst wenig destilliertem Wasser aufgenommen. Die wässrige Lösung wurde in einen 10-cm³-Meßkolben gespült und mit Wasser bis zum Teilstrich aufgefüllt.

Gesamtzuckerbestimmung nach BERTRAND⁹.

0.1192 g Glukosid wurden mit 5%iger Schwefelsäure zwei Stunden lang unter Rückfluß am Drahtnetz gekocht, das Aglukon nach dem Erkalten filtriert und gut nachgewaschen. Das Filtrat

⁹ Rec. trav. chim. I., 1906, S. 1293.

wurde schwach alkalisch gemacht und mit je 20 cm^3 der FERLINGSCHEN Lösungen versetzt. Die tiefblaue Lösung wurde bis zum Sieden erhitzt und drei Minuten lang im Sieden erhalten. Nach dem Erkalten wurde das Kupferoxydul durch ein Schwarzbandfilter filtriert und gut mit heißem Wasser ausgewaschen. Die Alkalien konnten aber durch bloßes Nachwaschen nicht ganz entfernt werden; daher wurde der Niederschlag in Salzsäure gelöst, das Kupfer mit Schwefelwasserstoff ausgefällt, wieder filtriert, gewaschen und dann in einem vorher bis zur Gewichtskonstanz geglühten Tiegel naß verascht, zwei Stunden geglüht, mit einem Tropfen Salpetersäure befeuchtet, abermals geglüht und gewogen.

0·1192 mg Substanz ergaben 0·1129 mg CuO.

Ber. für $\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{O}_{15} + \text{H}_2\text{O}$ 53·75%.

Gef.: 50·34%.

IV. Reindarstellung des Aglukons; Eigenschaften, Analyse.

Die Reinigung der zuckerfreien Farbstoffkomponente konnte auf vier Arten geschehen.

1. Durch Auflösen in Alkohol und Fällen mit Wasser.

Das Aglukon wird in möglichst wenig heißem Alkohol gelöst, vom Ungelösten heiß filtriert, das Filtrat mit einem großen Überschuß heißen Wassers versetzt, worauf das Produkt in schönen hellgelben Flocken ausfiel. Nach erfolgter Filtration und öfterem Auswaschen mit heißem Wasser wurde das Produkt im Heißwasser-Exsikkator getrocknet. Nach dem Trocknen lag ein lichtgelbes Pulver vor. Nach dreimaligem Umfällen aus Alkohol-Wasser blieb der Schmelzpunkt konstant und lag zwischen 199 und 200° .

2. Durch Umkristallisieren aus Äther.

Das bei der Hydrolyse erhaltene, vorher getrocknete Rohaglukon wurde mit viel Äther ausgekocht, worauf es zum Teil in Lösung ging. Nach erfolgter Filtration wurde die ziemlich gelb angefärbte Ätherlösung eingengt, worauf das Aglukon in gelben Nadelchen vom scharfen Schmelzpunkt 200° ausfiel.

3. Über das Azetylprodukt.

Diese Methode ist jedoch praktisch nicht von Wert, da zur Darstellung des Azetylproduktes (siehe dort) nur ein Aglukon verwendet werden konnte, das einen gewissen Reinheitsgrad aufwies. Durch Verseifung des Azetylproduktes (V. und VI.) konnte reinster Farbstoff vom Schmelzpunkt 200° erhalten werden.

4. Durch Sublimation im Hochvakuum.

Das Aglukon sublimierte im Hochvakuum zwischen 130 und 155° . Das Sublimat bestand aus gelben Nadeln, welche ebenfalls den Schmelzpunkt 200° aufwiesen. Ein Mischschmelzpunkt mit unsublimiertem Aglukon ergab keine Depression.

Das Aglukon ist im amorphen Zustande ein hellgelbes Pulver, kristallisiert besteht es aus gelben Nadelchen. Es ist löslich in Alkohol, Äther, Essigester, Eisessig mit hellgelber Farbe, in Ätzalkalien unter Rotorangefärbung, kristallisierbar aus Äther. Es ist sublimierbar nur im Hochvakuum zwischen 130 und 140° ; Sublimation im gewöhnlichen Vakuum führt zu teilweiser Zersetzung. Es erwies sich methoxylhaltig, was durch eine qualitativ und quantitativ durchgeführte Mikromethoxylbestimmung nach PREGL-ZEISEL bewiesen wurde.

Analyse des sublimierten Produktes:

4·407 mg Substanz ergaben 10·485 mg CO_2 , 1·920 mg H_2O .

Ber. für $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_6$: C 64·95, H 4·49%.

Gef.: C 64·88, H 4·88%.

4·850 mg Substanz ergaben 6·800 mg AgJ.

Ber. für $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_6$: OCH_3 19·74%.

Gef.: OCH_3 18·52%.

V. Azetylprodukt.

Der Azetylierungsversuch konnte nur bei reinem Aglukon mit gutem Ergebnis durchgeführt werden.

0·1420 g gereinigtes Aglukon wurde mit einem Überschuß an Essigsäureanhydrid drei Stunden unter Rückfluß mit aufgesetztem Kalziumchloridrohr am Drahtnetz gekocht, wobei sich das Produkt nahezu auflöste. Es wurde vom Ungelösten filtriert, das Essigsäureanhydrid hierauf möglichst weitgehend abdestilliert und der Rest auf einem siedenden Wasserbad unter mehr-

maligem Zufügen von gleichem Volumen Alkohol so lange erhitzt (ohne Rückfluß), bis der Geruch nach Essigester vorwaltete. Die Flüssigkeit wurde möglichst eingengt, sodann mit einem großen Überschuß heißen Wassers versetzt, worauf das Azetylprodukt in grauweißen Flocken ausfiel. (Sollte es nicht sofort in filtrierbarer Form ausfallen, führt schwaches Ansäuern mit Salzsäure zum Ziele. Der ausgefallene Körper wurde nach dem Erkalten filtriert, gewaschen und gut getrocknet. Ausbeute: 0·116 g. Das Produkt war schon nach einmaligem Umfällen aus Alkohol-Wasser reinweiß, zeigte den Schmelzpunkt 145—146° (sehr scharf), der auch nach nochmaliger Reinigung konstant blieb. Der Azetylkörper zeigt mit Lauge keine Gelbfärbung mehr, ist löslich in Alkohol, Essigester, Benzol und Chloroform, unlöslich in Äther und Wasser.

Analyse:

4·001 mg Substanz gaben 9·319 mg CO₂; 1·778 mg H₂O.

Gef.: C 63·52, H 4·97%.

Methoxylbestimmung:

4·280 mg Substanz gaben 4·570 mg AgJ.

Gef.: OCH₃: 14·11%.

VI. Verseifung des Azetylproduktes.

Eine kleine Menge des Azetylkörpers wurde mit 10%iger alkoholischer Salzsäure zwei Stunden unter Rückfluß am Drahtnetz gekocht; hierauf wurde mit Wasser versetzt, wonach ein Produkt in gelben Flocken ausfiel, welches nach dem Umlösen aus Alkohol-Wasser den Schmelzpunkt bei 200° zeigte. Es wurde im Hochvakuum sublimiert unter den Bedingungen, die beim Aglukon angeführt sind, wobei hellgelbe Nadeln vom Schmelzpunkt 200° erhalten wurden. Ein Mischschmelzpunkt mit sublimiertem Aglukon zeigte keine Depression. Auch die Gelbfärbung mit Lauge sowie andere für das Aglukon charakteristische Eigenschaften waren wieder zu ersehen.

VII. Alkalischer Abbau.

8 g Ätzkali und 3 cm³ Wasser (entsprechend 72% KOH) befanden sich in einem Fraktionierkolben, der mit Kühler, Thermo-

meter und Einleitungsrohr versehen war. Durch die Apparatur strich ein mäßiger Wasserstoffstrom. Bis alle Luft verdrängt war, wurde die Kalilauge auf ca. 100° erhitzt, der Kolben rasch geöffnet und $\frac{1}{2}$ g Aglukon hineingeschüttet, wieder verschlossen, innerhalb 3 Minuten auf 170° erhitzt und auf dieser Temperatur eine halbe Minute belassen. Häufiges Umschwenken des Kolbens war erforderlich, um die Substanz mit der Kalilauge innig zu vermischen. Sodann wurde durch rasches Eintauchen in ein mit kaltem Wasser gefülltes Gefäß im Wasserstoffstrom abgekühlt, mit verdünnter Salzsäure unter fortwährender Kühlung angesäuert, die Flüssigkeit sechsmal mit Äther ausgeschüttelt und die vereinigten Ätherauszüge hierauf mit Natriumsulfat getrocknet. Nach erfolgter Filtration wurde der Äther abdestilliert und der Rest in einem Sublimationsrohr zur Trockene verdampft. Im Hochvakuum sublimierte zwischen 140 und 160° ein Produkt, das aus viel heißem Wasser (schwer löslich) in glänzenden, weißen Nadeln kristallisierte und den Schmelzpunkt 184° aufwies. Ein Mischschmelzpunkt mit analysenreiner Anissäure gab keine Depression. Das Produkt konnte also tatsächlich als Anissäure angesprochen werden.

Analyse:

3·842 mg Substanz gaben 8·875 mg CO₂, 1·910 mg H₂O.

Ber. für C₈H₈O₃: C 63·00, H 5·56%.

Gef.: C 63·16, H 5·30%.