

Der Farbstoff des Klatschmohns (*Papaver rhoeas*)

(II. Mitteilung)

Von

LEOPOLD SCHMID und RICHARD HUBER

Aus dem II. Chemischen Laboratorium der Universität in Wien

(Vorgelegt in der Sitzung am 11. Februar 1932)

In ihrer Abhandlung über die färbenden Bestandteile des Mohns (*Papaver rhoeas* L., Ranunkelmohn fl. pl. „scharlach“) weisen WILLSTÄTTER und WEIL¹ auf die große Mannigfaltigkeit der von den verschiedenen Arten und Varietäten hervorgebrachten Farbstoffkomponenten hin. Aus diesen Versuchen ging hervor, daß außer zyaninähnlichem roten Anthozyan auch scharlachrote und orangerote Anthozyane vorkommen, die in ihrem Verhalten Ähnlichkeit mit dem Pelargonin zeigen, sich aber doch deutlich von ihm unterscheiden. Endlich erwähnt WILLSTÄTTER noch einen im Zellsaft gelösten, intensiv gelben glukosidischen Blütenfarbstoff, der sich im wesentlichen den Anthozyanen analog verhält. Im Gebiet der Naturstoffchemie ist es nun eine oft erwiesene Erscheinung, daß mehrere konstitutionell nahestehende Verbindungen auch nebeneinander vorkommen. Was nun die Anthozyangruppe betrifft, so sei darauf hingewiesen, daß zumeist die bunte Farbenpracht bedingt wird durch die Existenz einiger weniger Grundkörper, des Pelargonidins $C_{15}H_{12}O_5$, des Zyanidins $C_{15}H_{12}O_6$ und des Delphinidins $C_{15}H_{12}O_7$. Diese können in Form der Stammkörper, in Form ihrer Methylprodukte sowie gebunden an verschiedene Zucker in wechselnden Farbnuancen auftreten. Es ist weiter bekannt, daß die Farbstofflösungen oft durch beigemischte Flavone, durch Polyenfarbstoffe oder durch Gerbstoffe eine Mischfarbe besitzen, die dem reinen Farbstoff gar nicht zukommt. Angesichts des vergesellschafteten Vorkommens von Farbstoffen sowie angesichts der Beobachtungen WILLSTÄTTERS wurde bei der Isolierung des Farbstoffes des Klatschmohns besonders auf diesen Umstand geachtet. Es gelang auch tatsächlich, neben dem in der Veröffentlichung „Über die Konstitution des Farbstoffes des Klatschmohns (*Papaver rhoeas*)“ von SCHMID und

¹ Liebigs Ann. 412, S. 231

HUBER² beschriebenen Anthozyan einen zweiten Farbstoff zu isolieren. Bei diesem handelte es sich nun keineswegs um die schon oben erwähnte Möglichkeit, daß nämlich die Farbe seiner Lösung durch anders gefärbte Beimengungen überlagert wird. Mehrere Reinigungsverfahren hatten stets zu einem Produkt von gleichen Eigenschaften geführt. Dieser zweite Farbstoff lenkte durch sein eigentümliches Verhalten die Aufmerksamkeit auf sich. Er erweckte den Eindruck, daß mit ihm die Stammformen der Blumenfarbstoffe um eine neue Form bereichert würden. Auf Grund seiner schwereren Löslichkeit in Alkohol war es möglich, ihn von dem in Hauptmenge vorkommenden Farbstoff zu trennen. Dieser konnte in der bereits zitierten Arbeit von L. SCHMID und R. HUBER als ein Zyanidin, gebunden an zwei Moleküle Hexose, ermittelt werden. Der nur in geringer Menge vorhandene dunklere Begleitfarbstoff soll nun in folgender Arbeit behandelt werden. Zunächst angestellte Vorversuche zeigten uns, daß auch dieser ein Glukosid ist. Für die Isolierung des Materials aus den Blüten sowie für die Reindarstellung bewährt sich folgendes Verfahren. Zur Gewinnung des Rohfarbstoffes wurden die Mohnblüten (zirka 4 kg), mit Eisessig extrahiert und der Farbstoff mit chlorwasserstoffhaltigem Äther gefällt. Die weitere Aufarbeitung erfolgte durch Aufnehmen der Fällung mit Wasser und Versetzen mit absolutem Alkohol, um die alkoholunlöslichen Verunreinigungen zu entfernen. Daran schloß sich eine Fällung des alkoholischen Filtrates mit Äther. Nunmehr wurde durch Auflösen in Alkohol die Trennung des leichtlöslichen roten vom dunkleren schwerlöslichen Farbstoff bewirkt. Dieser Vorgang wurde einige Male wiederholt. Durch die Alkoholbehandlung war wohl der leichter lösliche Farbstoff quantitativ entfernt, jedoch waren mit dem schwerer löslichen zweiten Farbstoff eine Reihe von mineralischen und hochmolekularen organischen Substanzen zurückgeblieben, deren Entfernung nun die weitere Aufgabe war. Durch Auflösen in Wasser und Fällen mit viel Eisessig konnte eine weitere Reinigung erzielt werden. Trotzdem enthielt das violette Produkt, das jetzt nur mehr in einer Menge von 1·8 g vorhanden war, immer noch 45% anorganischer Substanz.

Ein Versuch, den Farbstoff über das Pikrat zu reinigen, mißlang wegen der Leichtlöslichkeit des Glukosidpikrats in Methylalkohol. Die endgültige Reindarstellung des Glukosids gelang

² Monatsh. Chem. 57, 1931, S. 1049, bzw. Sitzb. Ak. Wiss. Wien (II b) 139, 1930, S. 383.

durch oftmaliges Auflösen des Farbstoffes in schwach salzsaurem absoluten Methylalkohol und Fällen mit Äther. Die Fällung wurde nun in wässriger 0·3%iger Salzsäure gelöst und mit Eisessig abgeschieden. Dieses Produkt enthielt keine Asche mehr.

Die Ausbeute betrug 0·8 g. Eine Kristallwasserbestimmung ergab 2 Moleküle Kristallwasser.

8·028 mg nahmen, im Hochvakuum bei 80—90° getrocknet, um 0·464 mg ab.
Ber. für $C_{26}H_{29}O_{13} \cdot Cl \cdot 2 H_2O$: 5·80 %.
Gef.: 5·78 %.

Verbrennungen und Mikrochlorbestimmung nach vorheriger Hochvakuumtrocknung bei 90° ergaben folgende Werte.

6·087 mg Substanz gaben 12·000 mg CO_2 und 3·115 mg H_2O
6·655 mg „ „ „ 13·123 mg CO_2 „ „ 3·040 mg H_2O
5·090 mg „ „ „ 9·981 mg CO_2 „ „ 2·390 mg H_2O .
Ber. für $C_{26}H_{29}O_{13} \cdot Cl$: C 53·36, H 5·00 %.
Gef.: I. C 53·77, H 5·72 %.
II. C 53·78, H 5·11 %.
III. C 53·48, H 5·25 %.

10·464 mg Substanz verbrauchten 1·19 cm³ einer 1/100 n-Natronlauge³.
Ber. für $C_{26}H_{29}O_{13} \cdot Cl \cdot H_2O$: Cl 5·71 %.
Gef.: Cl 4·03 %.

Analyse III wurde mit einer Substanz angestellt, die, obwohl schon gereinigt, nochmals fünfmal aus Alkohol mit Äther umgefällt worden war.

Beschreibung des Glukosids.

Das Glukosid war ein violettstichiges, dunkelrotes Pulver von mikrokristalliner Struktur. Bei Hochvakuumtrocknung verlor es sein Kristallwasser und war dann äußerst hygroskopisch, was man vom kristallwasserhaltigen Produkt durchaus nicht sagen konnte. In salzsaurem Methyl- und Äthylalkohol löste es sich mit einer dunkelroten, leicht ins Blaue spielenden Farbe auf. Mit Sodalösung versetzt, gab es vorerst eine violette, dann eine in Reinblau übergehende Farbreaktion. Mit Alkali entstand ein blauer Farbenumschlag. Mit Eisenchlorid fand keine Reaktion statt. In saurer wässriger Lösung zeigte es eine reinrote Farbe. Die Löslichkeitsverhältnisse sind denen des in Hauptmenge vorkommenden Farbstoffes sehr ähnlich bis auf seine schwerere Löslichkeit in 3%igem und 96%igem bzw. absolutem Alkohol.

³ Ber. D. ch. G. 65, 1932, S. 586.

In Essigester, Äther, Eisessig ist er schwer löslich; in Wasser, 3—9%igem Alkohol, Salz- und Schwefelsäure mittlerer Konzentration etwas leichter löslich, in Säuren von geringerem Gehalt als 1 und höherem als 18% sowie in Methylalkohol leicht löslich.

Der Farbstoff war auch frei von Methoxyl-, Oxymethylen- und Stickstoffgruppen. Aus neutralen Lösungen fiel mit Äther ein blaß-violettes Produkt aus, das, mit salzsaurem Methylalkohol versetzt, wieder in die rote Modifikation überging.

Glukosidspaltung.

Vorversuche ließen eine merkliche Säureempfindlichkeit des Aglukons in der Hitze erkennen. Infolgedessen wurde die Spaltung in kalter, verdünnter Salzsäure vorgenommen. Zur völligen Hydrolyse wurde das Glukosid 5 Tage lang unter der Einwirkung der Salzsäure belassen.

Zuckernachweis.

Quantitativ wurde der Gesamtzucker nach BERTRAND⁴ bestimmt.

Das alkalisch gemachte Filtrat der Hydrolysen-spaltung wurde mit Fehlingscher Lösung versetzt, 3 Minuten lang zu schwachem Sieden erhitzt und das ausgeschiedene Kupferoxydul zu Kupferoxyd geglüht und als solches gewogen. 0·0738 g gaben 0·0762 g Kupferoxyd, entsprechend 53·12% Zucker; ber. 56·46%. Qualitativ konnte der Nachweis einer Pentose mittels der Furfurolreaktion erbracht werden. Zu diesem Zweck wurde das Glukosid mit Salzsäure von der Dichte 1·06 erhitzt. Das Destillat hatte den für Furfurol charakteristischen Geruch und gab, auf Anilinizetatpapier gebracht, die typische rote Färbung. Ein weiterer Beweis dafür wurde durch den positiven Befund der Phlorogluzinreaktion erbracht. Ein anderer Teil des Glukosids wurde mit Schwefelsäure hydrolysiert und das Hydrolysat mit Bariumkarbonat neutralisiert. Das Reaktionsgemisch wurde eingedampft; der trockene Rückstand wurde mit Alkohol aufgenommen und nach Filtration zur Trockene verdampft. Der zurückbleibende Syrup wurde nun in Wasser gelöst und im Lohnsteinschen Apparat zur Vergärung gebracht.

Gef.: 28·71%.

Ber. für $C_{26}H_{29}O_{13} \cdot Cl$: 30·28%.

⁴ Bull. soc. chim. [3] 35, 1906, S. 1235.

Um die Pentose zu identifizieren, entfernten wir die Hexose durch Vergärung. Hierauf wurde versucht, ein Hydrazon der Pentose zu bilden. Der Versuch aber mißlang wegen der geringen zur Verfügung stehenden Substanzmenge. Die Ausbeute an Hydrazon war so gering, daß eine Reinigung durch Umkristallisieren und somit eine Identifizierung unmöglich war.

B e s c h r e i b u n g d e s A g l u k o n s .

Das Aglukon war ein dunkelviolettes, kristallwasserhaltiges Pulver von mikrokristalliner Struktur. Nach Hochvakuumtrocknung lieferte es folgende Analysenwerte:

5·510 *mg* gaben 12·670 *mg* CO₂ und 2·145 *mg* H₂O.

Ber. für C₁₅H₁₁O₄Cl: C 61·97, H 3·82%.

Gef.: C 62·71, H 4·35%.

Nach 5 maligem Umkristallisieren aus Alkohol und Salzsäure.

5·640 *mg* gaben 12·967 *mg* CO₂ und 2·290 *mg* H₂O.

Gef.: C 62·70, H 4·54%.

Eine Kristallwasserbestimmung gab folgende Werte:

6·903 *mg* Substanz verlor 0·671 *mg* ihres Gewichtes. Das sind 9·72%.

Ber.: 11·03%.

Eine Methoxylbestimmung nach ZEISEL bewies die Abwesenheit von Methoxylgruppen.

Mit Lauge versetzt, gibt der Farbstoff eine grüne Färbung. Mit Salzsäure bildet er ein Chlorhydrat, das sich in Säuren mit ziegelroter Farbe auflöst. Mit Eisenchlorid gibt er keine Reaktion. In Wasser ist er sehr wenig, in 2 *n*-Salzsäure fast gar nicht löslich, wohl aber in Alkohol und in 0·3 *n*-Salzsäure. Äther löst den Farbstoff gar nicht, Eisessig nur mäßig auf. Nach Hochvakuumtrocknung erwies sich das Chlorhydrat des Aglukons als sehr hygroskopisch.

K a l i s c h m e l z e .

Da, wie schon erwähnt, der Farbstoff große Ähnlichkeit mit den Farbstoffen der Anthozyanreihe zeigte und da er ferner frei von Methoxylgruppen war, erschien der alkalische Abbau der gegebene Weg, um in seine Konstitution einen weiteren Einblick zu erhalten. In Anlehnung an die Bedingungen, unter denen WILLSTÄTTER den alkalischen Abbau bei den Anthozyanen durchgeführt hatte, wurde eine 60%ige Kalilauge gewählt. Für den

Abbau standen nach den bisherigen Versuchen nur mehr 0.2 g Farbstoff zur Verfügung. Die Aufarbeitung der Schmelze erfolgte durch Ansäuern und Ausäthern. Nach Entfernung des Äthers wurde der Rückstand fraktioniert sublimiert. Als Hauptmenge ging eine Fraktion zwischen 130 und 150° über. Diese Kristalle gaben mit Eisenchlorid eine Grünfärbung, die sehr an die der Protokatechusäure erinnerte; auch zeigte ein Vergleich der Kristallformen Übereinstimmung mit solchen der Protokatechusäure. Schließlich bestätigte ein Schmelzpunkt von 198° sowie ein Mischschmelzpunkt mit synthetischer Protokatechusäure das Vorliegen dieser Verbindung. Da zur Kalischmelze nur 0.2 g zur Verfügung standen, so war die Säureausbeute so gering, daß Analysen damit nicht durchgeführt werden konnten. Selbstredend war bei diesen kleinen Substanzmengen an die Identifizierung des phenolischen Spaltproduktes nicht zu denken.

Während die Klatschmohnblüten für die Isolierung des leichtlöslichen Mohnfarbstoffes ein ausgezeichnetes und ergiebiges Ausgangsmaterial darstellen, sind sie leider für die Gewinnung des zweiten Mohnfarbstoffes nicht günstig. Es stand dieser daher in nicht ausreichender Menge zur Verfügung. Daraus folgt auch, daß wir mit dieser Mitteilung über den zweiten Mohnfarbstoff die interessante Aufgabe, die er uns bietet, in nicht restloser Weise zu lösen imstande waren. Schließlich seien die Ergebnisse mitgeteilt mit jenem Vorbehalt, der nötig ist, wenn eine Versuchsreihe aus Substanzmangel nicht wiederholt werden konnte. Ungeachtet dessen sollen die Beobachtungen jetzt schon veröffentlicht werden, weil die Wiederbeschaffung und Reindarstellung genügender Substanzmengen zu lange Zeit in Anspruch nehmen würde und weil die Versuchsergebnisse auch jetzt schon eine Bereicherung unserer Kenntnisse der Anthozyane versprechen, indem sie das Vorhandensein eines neuen Grundkörpers wahrscheinlich erscheinen lassen.

Zusammenfassend läßt sich nun sagen, daß nach der Identifizierung des leichtlöslichen Farbstoffes im Klatschmohn mit einem Zyanidindiglukosid auch die Isolierung eines zweiten Farbstoffes gelang. Zu dessen Darstellung wurde ein Verfahren ausgearbeitet. Dieser Farbstoff konnte erkannt werden als ein Glukosid, das mit je einem Mol Hexose und einem Mol Pentose verknüpft ist. Das Aglukon zeigt das Verhalten der Anthozyanidine. Seine Analyse liefert aber Werte, die auf eine Theorie $C_{15}H_{11}O_4 \cdot Cl$ stimmen.

Der alkalische Abbau gab als saures Spaltprodukt Protocatechusäure. Der phenolische Anteil konnte wegen der äußerst geringen Ausbeute nicht identifiziert werden.

Experimenteller Teil.

4 kg Mohnblüten, die von Stengeln und Staubgefäßen sorgfältig befreit worden waren, wurden in einem Filtrierstutzen mit 7 l Eisessig überschichtet und 60 Stunden stehen gelassen. Nun trennten wir mit Hilfe einer Filterpresse den Eisessigauszug möglichst vollständig von der Blütenmasse. Das Filtrat wurde nach Zusatz von 70 cm³ 10%iger methylalkoholischer Salzsäure mit 14 l Äther gefällt. Der sehr unreine und schwer filtrierbare Niederschlag wurde durch Lösen in 250 cm³ Wasser und Ausfällen mit absolutem Alkohol von den verunreinigenden Zuckern und alkoholunlöslichen Bestandteilen befreit. Der schleimige Rückstand enthielt außer den genannten Verunreinigungen auch noch etwas von dem dunkleren Farbstoffe. Dieser Rückstand wurde mittels 420 cm³ mit Salzsäure angesäuertem Alkohol ausgewaschen. Die Waschflüssigkeit enthielt in der Hauptsache den dunkleren Farbstoff gelöst. Das Filtrat wurde nun mit 250 cm³ 10%iger alkoholischer Salzsäure versetzt und durch Zugabe des dreifachen Volumens Äther der gesamte Farbstoff als ein sirupöses Gemisch ausgefällt. Hierauf zogen wir den Sirup zweimal mit je 880 cm³ absolutem Alkohol aus, der 3% Salzsäure enthielt. Im Verlaufe dieser Operation erhärtete der Rückstand zu einer festen Masse. Zu dieser fügten wir nun den Rückstand, den wir aus den Waschflüssigkeiten analog aufgearbeitet hatten.

Die vereinigten Rückstände wurden sechsmal mit 3%iger absolut alkoholischer Salzsäure ausgezogen. Der von der alkoholischen Lösung abgetrennte Rückstand wurde jetzt in 40 cm³ 0·3%iger wässriger Salzsäure gelöst und mit 700 cm³ Eisessig versetzt. Es erfolgte eine momentane Abscheidung eines violett gefärbten Niederschlages. Eine restliche Menge von etwa 0·3 g Farbstoff erhielten wir ferner durch Behandlung der Mutterlauge mit Äther. Das durch Eisessigfällung gewonnene Produkt (1·8 g) war noch sehr unrein und enthielt 45% anorganische Bestandteile. Zur weiteren Reinigung des durch Eisessigfällung gewonnenen Rohmaterials wurden je 0·5 g mit 50 cm³ absoluter methylalkoholischer 3%iger Salzsäure ausgezogen, filtriert und der Farbstoff mit Äther wieder ausgefällt. Dieser Vorgang wurde viermal wiederholt. Eine Aschenbestimmung ergab noch zirka 1% Asche. Zur weiteren

Reinigung wurde die Substanz in 0·3%iger wässriger Salzsäure aufgelöst und mit überschüssigem Eisessig ausgefällt. Die Ausbeute betrug 0·8 g. Nach vorherigem Trocknen im Hochvakuum bei 90° wurde die hygroskopische Substanz analysiert.

Eine Methoxylbestimmung fiel negativ aus; die Substanz war einmal in Phenol, ein zweites Mal in Essigsäureanhydrid gelöst worden.

Glukosidspaltung.

0·5 g Glukosid wurden in 30 cm³ 5%iger Salzsäure gelöst und 5 Tage lang stehen gelassen. Nach Ablauf dieser Frist hatte sich das Aglukon ziemlich vollständig ausgeschieden. Das abfiltrierte Aglukon wurde gut ausgewaschen, in einen mit Rückflußkühler versehenen Rundkolben gegeben, mit 20 cm³ Alkohol versetzt und am Drahtnetz zum Sieden erhitzt. Hierauf gossen wir durch ein Filter und fügten zur alkoholischen Lösung des Farbstoffes die doppelte Menge 2 n-Salzsäure zu. Sofort schied sich das Aglukon aus. Wir ließen über Nacht den Alkohol abdunsten und filtrierten dann von der fast ungefärbten Mutterlauge ab.

Das Umkristallisieren aus Alkohol und 2 n-Salzsäure wiederholten wir nun noch fünfmal, bevor das Produkt zur Analyse kam.

Zuckerbestimmung.

Qualitativ: Furfuroldestillation. Etwa 0·05 g Saccharid wurden mit 30 cm³ 12%iger Salzsäure in einen 100 cm³-Veresterungskolben gegeben, der mit einem kleinen Tropftrichter, Destillierbügel und Kühler versehen war. Nun erhitzen wir den Kolben über einem Drahtnetz. Durch den Kolben strich ein Luftstrom, der das lästige Stoßen der Flüssigkeit verhindern sollte. Nachdem 10 cm³ abdestilliert waren, wurden aus einem Tropftrichter 10 cm³ Salzsäure von der Dichte 1·06 zugegeben und wieder 10 cm³ abdestilliert. Dies geschah so oft, bis 50 cm³ Destillat gewonnen waren. Das deutlich nach Furfurol riechende Destillat wurde mit Anilinazetatpapier geprüft; es gab eine rote Färbung. Die Hälfte des Destillates wurde mit der gleichen Menge einer Lösung von Phlorogluzin in 12%iger Salzsäure versetzt. Die Flüssigkeit färbte sich anfangs gelb, dann grün und nach 24 Stunden hatte sich ein grünschwarzer, in 90%igem Alkohol unlöslicher Niederschlag von Furfurolphlorogluzid gebildet.

Quantitative Zuckerbestimmung nach BERTRAND: 0·0738 g Glukosid wurden in 10 cm³ 4%iger Schwefelsäure zwei Stunden

lang unter Rückflußkühlung gekocht, abfiltriert, gründlich nachgewaschen und das Filtrat schwach mit Lauge alkalisch gemacht. Dann wurden 40 cm^3 einer Fehlingschen Lösung dazugegeben und drei Minuten lang zum Sieden erhitzt. Das gebildete Kupferoxydul ließen wir über Nacht absitzen, filtrierten dann durch ein Blaubandfilter und veraschten im Porzellantiegel. Wir fanden 0.0762 g Kupferoxyd, entsprechend 53.12% Zucker.

Hexosebestimmung durch Vergärung: 0.2298 g Glukosid wurden mit 4% iger Schwefelsäure hydrolysiert. Das Hydrolysat wurde mit Bariumkarbonat neutralisiert. Nun wurde zur Trockene eingedampft und der Rückstand gründlich mit heißem absoluten Alkohol ausgezogen. Die vereinigten Alkoholauszüge dampften wir wieder ein und nahmen den zurückbleibenden Sirup mit 6 cm^3 Wasser auf. Die Lösung spülten wir in einen 10 cm^3 -Meßkolben und füllten bis zur Marke mit Wasser auf. Von dieser Zuckerlösung pipettierten wir einen Teil in den Lohnsteinschen Apparat, versetzten mit einigen Tropfen einer Aufschlammung von gewöhnlicher Bäckerhefe in Wasser und stellten den Apparat während der Dauer des ganzen Versuches in ein auf 38° konstant gehaltenes Wasserbad.

Gef.: 28.72% .

Ber. 30.28% .

Kalischmelze.

0.2 g Aglukon wurden schnell in 10 cm^3 auf 100° vorgewärmte 60% ige Kalilauge eingetragen. Das Ganze befand sich in einem mit Kühler, Thermometer und Einleitungsrohr versehenen Destillierkolben. Aus der ganzen Apparatur war die Luft durch einen Wasserstoffstrom verdrängt worden. Nun wurde 20 Minuten lang zum Sieden erhitzt, hierauf durch Eintauchen in kaltes Wasser rasch abgekühlt und unter weiterer Kühlung vorsichtig mit Salzsäure angesäuert. Die saure Lösung wurde nun vier Tage lang im Soxhlet mit Äther extrahiert, bis eine Probe des abfließenden Äthers beim Verdampfen keinen Rückstand mehr hinterließ. Die eingeeengte ätherische Lösung wurde in ein Sublimationsrohr gefüllt und der Äther vollständig abgedampft. Der Rückstand wurde im gewöhnlichen Vakuum bei $130\text{--}150^\circ$ sublimiert und gab dabei ein weißes Sublimat. Dieses lösten wir mit Äther aus dem Röhrchen heraus und behandelten die Ätherlösung mit gesättigter Natriumbikarbonatlösung. Der rosagefärbte Bi-

karbonatauszug wurde nun mit 2 *n*-Salzsäure angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt. Nach Verdampfen des Äthers wurde der Rückstand im Hochvakuum sublimiert. Das reinweiße Sublimationsprodukt hatte einen Schmelzpunkt von 198—199° (korr.) und gab mit Eisenchlorid die der Protokatechusäure eigentümliche Grünfärbung. Ein Mischschmelzpunkt mit Protokatechusäure anderer Herkunft ergab keine Depression. Eine Analyse konnte der geringen Ausbeute wegen nicht ausgeführt werden.

Die beim Ansäuern der eben erwähnten Kalischmelze ausgefallenen Produkte wurden gesammelt und gemeinsam mit den Rückständen der Hochvakuumsublimation einer zweiten Schmelze unterzogen, die ebenfalls mit 60%iger Kalilauge analog der ersten durchgeführt wurde. Die Aufarbeitung erfolgte in der gleichen Weise, wie weiter oben bei der ersten Kalischmelze beschrieben worden war. Innerhalb der Temperaturen von 130—150° sublimierte eine verschwindende Menge eines weißen Sublimates über, ebenso bei einer Temperatur von 205°. Die Ausbeute reichte selbst für eine Schmelzpunktsbestimmung nicht mehr aus.
