

O redukcji kwasu galakturonowego i estru metylowego metylogalakturonidu.

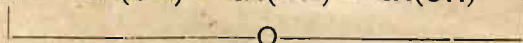
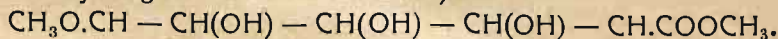
Badania nad związkami pektynowymi.*)

Sur la réduction de l'acide galacturonique et de l'éther méthylique du méthylgalacturonide.

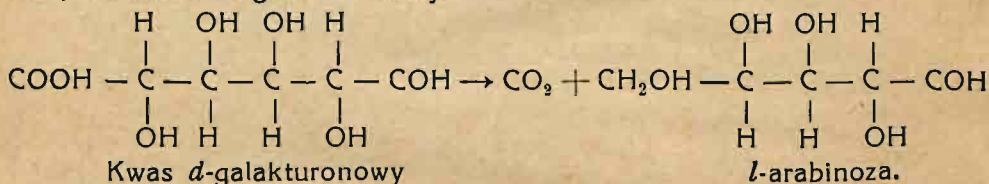
Recherches sur les matières pectiques.

(Otrzymano 30.V.1934).

Podstawową substancją związków pektynowych, według badań F. Ehrlicha oraz K. Smoleńskiego, jest kwas poligalakturonowy. Przez hydrolizę kwasową tego kwasu otrzymuje się kwas galakturowy $(C_6H_8O_6)_n + n H_2O = n C_6H_{10}O_7$. Metylując kwas galakturonowy, np. według metody Fischera, otrzymuje się ester metylowy metylogalakturonidu:¹⁾



Celem pracy niniejszej było zbadanie produktów redukcji kwasu galakturonowego i estru metylowego metylogalakturonidu. Przez redukcję kwasu galakturonowego powinno się otrzymać kwas galaktonowy, *d* lub *l*, zależnie od konfiguracji kwasu galakturonowego. Przyjmowaliśmy dotychczas kwas galakturonowy, otrzymany ze związków pektynowych, za kwas *d*-galakturonowy, czyli za pochodną *d*-galaktozy, nie mając zresztą potemu bezpośrednich dowodów, a opierając się głównie na tem, że kwas ten jest dość silnie prawoskrętny, $[\alpha]_D^{20} = +57^{\circ}$ ²⁾, podobnie jak *d*-galaktoza ($[\alpha]_D^{20} = +81,7^{\circ}$), a także na tym fakcie, że w przyrodzie żywej spotyka się pospolicie tylko *d*-galaktozę. Dowodem pośrednim mógł być też ten fakt, że w związkach pektynowych znajdujemy *l*-arabinozę, genetycznie związaną z kwasem *d*-galakturonowym:



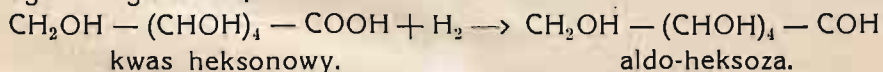
*) Praca XI.

¹⁾ K. Smoleński i M. Cichoński, Roczniki Chem. 13, 37 (1933). Coll. Trav. chim. Tchecosl. 4, 500; F. Erlich i R. Guttman, Ber. 66, 220 (1933).

²⁾ zob. Roczniki Chem. 13, 38 (1933).

utrzymując na początku odczyn słabo kwaśny (dodawanie H_2SO_4), a później — słabo alkaliczny. Neuberger i Marx¹⁾ — zastosowali do tego samego celu wapń metaliczny, przepuszczając w czasie wykonywania redukcji CO_2 , ażeby utrzymać reakcję bardzo słabo alkaliczną. Fischer redukował także w podobny sposób, w środowisku stale słabo alkalicznym, lakton kwasu glukuronowego, otrzymując kwas gulonowy.

Przez redukcję kwasów heksonowych otrzymywał Fischer odpowiednie cukry, np. z kwasu glukonowego — glukozę, z kwasu *d*-galaktonowego — *d*-galaktozę:



Same kwasy lub ich sole nie dają się redukować, natomiast podlegają redukcji laktony tych kwasów lub ich estry. Reakcję redukcji amalgamatem sodowym, należy prowadzić w środowisku wyraźnie kwaśnym; w środowisku alkalicznym laktony lub estry uległyby zmydleniu.

1. REDUKCJA KWASU GALAKTURONOWEGO.

Do redukcji użyto, w braku krystalicznego kwasu galakturonowego, preparat, otrzymany w jednej z poprzednich prac, przez strącanie acetonem niekrystalizującego roztworu macierzystego od krystalicznego kwasu galakturonowego. Preparat ten, po długim staniu w eksykatorze, był, według analitycznych oznaczeń (liczba kwasowa i estrowa, spalanie), prawdopodobnie, mieszaniną kwasu galakturonowego (ok. 60%) i jego laktonu (ok. 40%). Redukcję prowadziliśmy dwójako: albo wapniem metalicznym albo amalgamatem sodowym, stosując w każdym z tych przypadków inną drogę wyodrębniania produktów reakcji.

a) *Redukcja wapniem metalicznym.* Po kilku wstępnych próbach stosowaliśmy następującą metodę. 3 g kwasu galakturonowego rozpuszczano w 40 cm^3 wody, ochładzano lodem ($0^\circ - +2^\circ$), i wśród energicznego mieszania dodawano wiórki wapnia, małymi porcjami (po 0,2 g), zużywając ogółem 15 g wapnia, w przeciągu 8-u godzin. W celu utrzymania reakcji tylko słabo alkalicznej (fenoloftaleina) dodawano, w miarę potrzeby, kwasu solnego. Zauważono, że w razie zbytowego wzrostu alkaliczności strąca się biały osad, prawdopodobnie zasadowego galakturonianu wapnia, osad ten po dodaniu kwasu rozpuszcza się. Po 8-u godz. redukowalność roztworu zanikła prawie zupełnie. Wtedy zobjętniono otrzymany roztwór, dodając ostrożnie kwasu solnego, a następnie kredy. Odciedzono od nadmiaru kredy i zanieczyszczeń, a roztwór zagęszczono do ok. 20—25 cm^3 . Do roztworu, zawierającego sól wapniową domniemanego kwasu galaktonowego oraz CaCl_2 , dodano 300 cm^3 alkoholu (96%). Strącał się osad, który po dłuższym staniu, odsączono, poczem rozpusz-

¹⁾ Blochem. Z. 3, 539 (1907).

czono go w małej ilości wody i ponownie strącono alkoholem. Otrzymano soli wapniowej ok. 1,0 g czyli ok. 35% wydajności teoretycznej. Z soli wapniowej otrzymano lakton w następujący sposób. Z roztworu soli strącono Ca^{++} kwasem szczawiowym, tak ażeby w roztworze nie było ani Ca^{++} ani jonów kwasu szczawiowego. Przesącz stężono powoli do małej objętości (w czasie stężania winna następować laktonizacja) i oznaczono jego skręcalność. Znaleziono na 100 g substancji $[\alpha]_D^{20} = +65,3^\circ$. Według E. Fischera¹⁾ $[\alpha]$ czystego laktonu kwasu *l*-galaktonowego wynosi $+70^\circ$ do $+72^\circ$. W celu zidentyfikowania kwasu otrzymano jego fenylhydrazyd ($\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_6\text{N}_2\text{H}_2\text{C}_6\text{H}_5$).

Do 30 cm³ roztworu, zawierającego domniemany kwas galaktonowy, dodano 0,5 g fenylhydrazydy oraz 1 cm³ 30%-go kwasu octowego i grzano na łaźni wodnej ok. 1 godz. Po 20-u godz. odsączono wykrystalizowany osad, który przekrystalizowano z 20%-go alkoholu. Otrzymano 0,7 g srebrzystych charakterystycznych blaszek. Temp. topnienia $202^\circ - 203^\circ$; według Fischera: $200 - 205^\circ$.

Analiza:

Znaleziono: C 50,3, 50,1; H 6,40, 6,39; N 9,70.

Obliczono: C 50,35; H 6,29; N 9,79.

Jako jeszcze jeden dowód więcej, że mieliśmy do czynienia z kwasem galaktonowym, możemy przytoczyć, że przez utlenienie kwasem HNO_3 ($d = 1,15$) otrzymaliśmy kwas słuzowy (t. t. 210° , charakterystyczna sól talowa).

Nie ulega więc kwestji, że jako produkt redukcji kwasu galakturonowego wapniem met. w środowisku słabo alkalicznym otrzymaliśmy kwas galaktonowy i że kwas ten posiada konfigurację *l*, jak to widać z jego prawej skręcalności $+65^\circ$, podczas kiedy kwas *d*-galaktonowy skręca w lewo, $[\alpha]_D = -77^\circ$. Fakt ten daje bezpośredni dowód, iż kwas galakturonowy, otrzymany ze związków pektynowych, jest kwasem *d*-galakturonowym.

b) *Redukcja amalgamatem sodowym.* 2 g kwasu galakturonowego, rozpuszczone w 30 cm³ wody, redukowano przy intensywnym mieszaniu w temperaturze $0^\circ - 3^\circ$ amalgamatem sodowym (4%-owym), dodając go porcjami po 10 g co pół godziny. Ogółem zużyto amalgamatu przez 5 godzin ok. 100 g. W czasie redukowania otrzymywano odczyn słabo alkaliczny na fenoloftaleinę, dodając w miarę potrzeby kroplami kwas solny ($d = 1,19$). Po oddzieleniu od rtęci i odcedzeniu od zanieczyszczeń zubożniono roztwór i odparowano do sucha. Dalsze postępowanie oparte zostało na wykonanych przez nas uprzednio próbach na suchej mieszaninie NaCl i soli sodowej kwasu *d*-galaktonowego.

¹⁾ E. Fischer i Hertz, Ber. 25, 1258 (1892).

Do mieszaniny tej dodawaliśmy (na 2 g soli kwasu galaktonowego licząc) 75 cm³ 96%-go spirytusu i 5 cm³ kwasu solnego ($d = 1,19$); wolny kwas galaktonowy przechodzi do roztworu w spirytusie, w którym NaCl (wobec wolnego HCl) jest prawie zupełnie nierozpuszczalny. Postępując w ten sam sposób we właściwym doświadczeniu, gotowaliśmy suchą mieszaninę ze spirytusem i kwasem solnym przez pół godziny; z przesączu usunęliśmy HCl, dodając proszku PbCO₃. Po odsączeniu i odparowaniu otrzymano ok. 1,5 g syropu (ok. 75% wydajności teoretycznej). Dla syropu tego, który winien był zawierać lakton kwasu *l*-galaktonowego ewentualnie z domieszką nielaktonizowanego kwasu, oznaczono liczbę kwasową i liczbę zmydlania, według których wypadło, że syrop ten zawiera ok. 84% laktonu i ok. 16% kwasu. Dla syropu tego oznaczono $[\alpha]_D$, a uwzględniając zawartość 16% kwasu *l*-galaktonowego, którego skręcalność wynosi $[\alpha]_D = +10,5^\circ$, obliczono $[\alpha]_D$ otrzymanego laktonu na $+71,0^\circ$.

Fischer znalazł dla laktonu kwasu *l*-galaktonowego $[\alpha]_D = +70^\circ$ do $+72^\circ$. Z badanego syropu otrzymano też fenylohydrazyd i po przekrystalizowaniu surowego fenylohydrazynu otrzymano 0,8 g fenylohydrazynu o t. t. 202—203°. Znalaziono dla wodnego roztworu tego hydrazynu lewą skręcalność $[\alpha]_D = \text{ok. } -10^\circ$ do -15° . Dla fenylohydrazynu kwasu *d*-galaktonowego podaje Nef $[\alpha]_D = +10,4^\circ$ ¹⁾.

Ponieważ używany przez nas kwas galakturonowy zawierał znaczną domieszkę laktonu, którego zachowanie się w czasie redukcji, pomimo że zachodziła ona w środowisku (słabo) alkalicznym mogło nie być całkiem obojętne, wykonaliśmy też doświadczenie, w którym redukowaliśmy sól sodową kwasu galakturonowego, otrzymaną przez dodanie do roztworu kwasu galakturonowego (zawierającego domieszkę laktonu) odpowiedniej ilości NaOH. Otrzymano wyniki identyczne z osiągniętymi poprzednio. Otrzymano więc przez redukovanie kwasu galakturonowego, przygotowanego z substancji pektynowej (z miąższu buraka cukrowego), zarówno przy użyciu wapnia metalicznego jak amalgamatu sodowego, ten sam kwas *l*-galaktonowy. Wynika z tego, w myśl podanych wyżej rozważań, że kwas galakturonowy posiada konfigurację *d* (porównaj wyżej wzory przestrzenne).

2. REDUKCJA ESTRU METYLOWEGO METYLOGALAKTURONIDU.

Doświadczenia przygotowawcze. Redukcja tego związku, zawierającego grupę aldehydową związaną z resztką CH₃OH i grupą COOH związaną estrowo z CH₃OH, mogła mieć charakter dość skomplikowany. Powstawała przedewszystkiem wątpliwość, czy grupa aldehydowa jest w do-

¹⁾ Nef, Ann. 403, 280 (1914).

statecznej mierze ochroniona przez wiązanie $-\text{OCH}_3$ od redukcji (do grupy alkoholowej), szczególnie w środowisku kwaśnym, w którym z innych względów wypadało prowadzić reakcję. W literaturze nie znaleźliśmy prób redukowania odpowiednich związków, np. metyloheksozydów (metyloaldozydów).

Redukcja metylogalaktozydu. Wykonaliśmy sami odpowiednią próbę, poddając redukcji amalgamatem sodowym metylogalaktozyd, otrzymamy według metody Maquenne'a¹⁾ (metylowanie siarczanem dwumetylowym; otrzymuje się głównie izomer β — o niskiej skręcalności). Wykonano dwie próby: w pierwszej zredukowano w środowisku słabo alkalicznym (60 g 4%-go amalgamatu na 0,5 g galaktozydu, czas redukcji 4—5 godz.), w drugiej w środowisku kwaśnym na kongo ($p_{\text{H}} = \text{ok. } 2-4$).

Z oznaczeń zawartości galaktozy (po hydrolizie kwasowej) w roztworze pierwotnego metylogalaktozydu i prób otrzymanych po redukcji przekonano się, że w środowisku słabo alkalicznym uległo redukcji ok. 60% metylogalaktozydu, w środowisku kwaśnym — ok. 24%.

Przekonaliśmy się więc, że grupa OCH_3 nie broni w dostatecznej mierze grupy aldehydowej przed redukcją, szczególnie w środowisku alkalicznym.

Co dotyczy redukcji grupy $-\text{COOH}$ związanej estrowo z CH_3OH , to w literaturze znaleźliśmy jeden tylko przykład analogiczny: wykonaną przez Fischera²⁾ redukcję estru etylowego kwasu śluzowego; redukcja ta dała bardzo małą wydajność kwasu *dl*-galaktonowego (ok. 2%) obok pewnej ilości dulcytu. Redukcję prowadzono początkowo w środowisku

kwaśnym, w celu zredukowania grupy $-\text{COOH}$ do $-\text{C} \begin{smallmatrix} \text{O} \\ \diagup \\ \text{H} \end{smallmatrix}$, (kwas *dl*-galakturonowy), a następnie — w środowisku alkalicznym w celu zredukowania

grupy $-\text{C} \begin{smallmatrix} \text{O} \\ \diagup \\ \text{H} \end{smallmatrix}$ do $-\text{CH}_2\text{OH}$.

Redukcja estru metylowego kwasu d-glukonowego. Podjęliśmy sami próbę w celu przekonania się, jak idzie redukcja estru metylowego np. kwasu *d*-glukonowego. Ester ten otrzymaliśmy z soli wapniowej kwasu *d*-glukonowego, podług wskazówek wziętych z pracy Hlasiwetz a i Habermanna³⁾, poddając zawiesinę jej w CH_3OH działaniu suchego HCl . Zachowując potrzebne ostrożności, otrzymaliśmy w ten sposób krystaliczny związek o składzie: $(\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_7\text{CH}_3)_2\text{CaCl}_2$.

Znaleziono: C 31,31, H 5,69, Ca 7,8, Liczba estrowa 382.

Obliczono: C 31,64, H 5,27, Ca 7,55, Liczba estrowa 388.

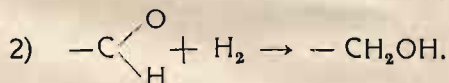
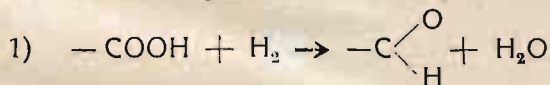
¹⁾ Maquenne, Bull. Soc. Chim. [3] 33, 260, 469 (1905).

²⁾ E. Fischer i Hertz, Ber. 25, 1247 (1892).

³⁾ Ann. 155, 127.

Redukowano ten ester (0,75 g) w środowisku kwaśnym (na kongo), zużywając w przeciągu 4-ch godz. 40 g amalgamatu. Z otrzymanego w odpowiedni sposób roztworu domniemanego cukru przyrządzono fenyl-osazon (0,15 g), który po przekrystalizowaniu posiadał odpowiednią t. t. 209°. Wydajność glukozy była nieznaczna i wynosiła ok. 10%.

Zachodziło dalej pytanie, w jakich warunkach, a przede wszystkim, w jakim środowisku (kwaśnym, alkalicznym) prowadzić redukcję estru metylowego metylogalakturnidu, ażeby dojść od grupy $-\text{COOH}$ do $-\text{CH}_2\text{OH}$. Redukcja ta, teoretycznie, zachodzić winna w dwóch stadiach:



W pierwszym stadium powstawałby z kwasu galakturonowego—dwualdehyd $\begin{array}{c} \text{O} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{H} \end{array} \text{C} - (\text{CHOH})_4 - \text{C} \begin{array}{l} \text{O} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{H} \end{array}$; związki takie w szeregu cukrów nie są dotychczas znane i są prawdopodobnie mało trwałe.

Według wskazówek F i s c h e r a, dotyczących redukcji kwasów aldehydowych do aldoz, stadium to należy prowadzić w środowisku kwaśnym (inaczej redukcja wogóle nie zachodzi).

W stadium drugim, redukcji aldoheksoz do heksytów, należy redukcję prowadzić w środowisku słabo alkalicznym. Czy redukcja ta zachodzi też w środowisku kwaśnym, F i s c h e r wyraźnie nie mówi, aczkolwiek w wielu przypadkach stwierdził przy redukcji kwasów (ich laktonów) w środowisku kwaśnym powstawanie pewnej ilości alkoholi.

Wykonaliśmy wobec tego parę własnych eksperymentów, dotyczących redukcji *d*-galaktozy i laktonu kwasu *d*-galaktonowego w środowisku kwaśnym.

Redukcja *d*-galaktozy. Redukcję *d*-galaktozy w środowisku kwaśnym (na kongo) przeprowadzono w dość szybkim tempie (2 godz., 60 g amalgamatu w dwóch porcjach). Uległo redukcji ok. 15% galaktozy (według zmniejszenia się redukowalności).

Redukcja laktonu kwasu *d*-galaktonowego. Redukcję laktonu kwasu *d*-galaktonowego prowadzono w środowisku kwaśnym w tempie dość wolnym (5 godz., amalgamat małymi porcjami). Po odpowiednim przeobrażeniu produktów reakcji otrzymano roztwór alkoholowy, z którego wykryształizowało około 50% ilości teoretycznej dulcytu (t. t.—188°; C = 39,31; 39,06; H = 7,85; 7,65).

Z przesączu od dulcytu otrzymano *galaktozę* w postaci *o*-tolylohydrazonu (t. t. 176°) w ilości ok. 10% teoretycznej.

Fischer radzi redukować kwasy aldonowe w kwaśnym środowisku szybko, dodając amalgamat dużymi porcjami; wtedy otrzymuje dużą wydajność cukru, a małą alkoholu. My zaś, postępując inaczej, prowadząc redukcję wolno i dodając amalgamat małymi porcjami, otrzymaliśmy dużą wydajność alkoholu a małą cukru.

Na zasadzie tych przygotowawczych doświadczeń doszliśmy do przekonania, że redukcję metylogalakturnidu do metylogalaktozydu trzeba próbować wykonać w środowisku kwaśnym, dodając amalgamat małymi porcjami i przedłużając czas redukcji.

Redukcja estru metyloвого metylogalakturnidu. Sam ester otrzymano według sposobu, opracowanego dawniej przez jednego z nas wspólnie z p. M. Cichockim¹⁾. Otrzymano ok. 20% krystalicznego izomeru α , o t. t. 137—138° i $[\alpha]_D$ po przekrystalizowaniu = +128,9°. Niekryształizująca część, która według analizy elementarnej i liczby zmydlenia była też estrem, miała $[\alpha]_D$ ok. +5°; była to zapewne mieszanina izomerów α i β . Do redukcji użyto mniej czystą frakcję izomeru α , która zawierała zapewne domieszkę izomeru β .

1,3 g tego estru metylogalakturnidu rozpuszczono w 75 cm³ wody, ochłodzono lodem do ok. 0°—+2° i silnie mieszając, dodawano amalgamat (4%) porcjami po 10 g, zakwaszając kwasem siarkowym tak ażeby p_H wynosiło 2—3. Zużyto ogółem przez 7 godz. 150 g amalgamatu. Roztwór zobojętniono, odparowano prawie do suchości i ekstrahowano 96%-ym spirytusem; ekstrakt stężono i ponownie ekstrahowano spirytusem, powtarzając tę operację parokrotnie. Ekstrakt alkoholowy stężono prawie do suchości i rozpuszczono w 30 cm³ wody. Roztwór ten zawierał znaczną ilość pierwotnego estru metylogalakturnidu, który zmydlono ogrzewając z wodorotlenkiem barowym. Po odparowaniu do sucha ekstrahowano spirytusem; pozostałość zawierała sól barową kwasu metylogalakturnowego (odpowiednie reakcje i $[\alpha]_D$), otrzymano jej ok. 60% ilości pierwotnej. Syropu po odpędzeniu alkoholu, a więc domniemanych produktów redukcji otrzymano ok. 30%, licząc na wyjściowy ester. Syrop ten (ok. 0,4 g) posiadał $[\alpha]_D$ = +51°, a po hydrolizie kwasem solnym ok. +26,5°. Utleniany rozcieńczonym kwasem azotowym — dawał kwas śluzowy, którego ilość odpowiadała ok. 0,28 g galaktozy. Syrop ten mógł zawierać: metylo-*d*-galaktozyd (głównie, zapewne izomer α o skręcalności +179°), dulcyt (próba wykrywania dulcytu nie udała się); nie była też wykluczona obecność *l*-galaktozy, która mogła powstać przez redukcję kwasu *l*-galaktonowego. Sądząc ze skręcalności przed i po hydrolizie produkt mógł zawierać ok. 0,12 g czyli ok. 10% wyjściowego estru α -metylo-*d*-galaktozydu. Syrop poddano hydrolizie, ogrzewano z 3%-ym kwa-

¹⁾ K. Smoleński i M. Cichocki, Roczniki Chem. 13, 37 (1933);

sem solnym; z produktu hydrolizy otrzymano nieznaczną ilość *o*-tolylohydrazonu, o t. t. 172°—173° (zamiast 176°).

Sądząc z wykonanego badania, otrzymano przez redukcję estru metylowego α -metylogalakturnonu—nieznaczną ilość ok. (8—10%) α -metylo-*d*-galaktozydu, a przez jego hydrolizę *d*-galaktozę. Badania nad redukcją estru metylowego metylogalakturnonu prowadzone są przez nas dalej.

Streszczenie.

Przez redukcję kwasu galakturonowego, otrzymanego z substancji pektynowej, zarówno amalgamatem sodowym jak wapniem metalicznym, w środowisku słabo alkalicznym otrzymano z dobrą wydajnością l a k t o n k w a s u l - g a l a k t o n o w e g o (skręcalność, fenylohydrazyd, kwas słazowy). Daje to dowód, że kwas galakturonowy z substancji pektynowych jest kwasem *d*-galakturonowym. Przez redukcję estru metylowego α -metylogalakturnonu otrzymano z małą wydajnością α -metylo-*d*-galaktozyd.

Marzec 1934.

Zakład Technologji Węglowodanów
Politechniki Warszawskiej.

R é s u m é.

La réduction de l'acide galacturonique préparé à partir de substances pectiques effectuée à l'aide aussi bien d'amalgame de sodium que de calcium métallique dans un milieu légèrement alcalin conduit à un bon rendement en lactone de l'acide *l*-galactonique (pouvoir rotatoire, phénylhydrazide, acide mucique). Ceci prouve que l'acide galacturonique dérivé des matières pectiques est un acide *d*-galacturonique. La réduction de l'éther méthylique de l' α -méthylgalacturonide conduit à l' α -méthyl-*d*-galactoside dont le rendement n'est pas grand.

Warszawa. Institut de la Technologie des Hydrates
de Carbone de l'École Polytechnique.
