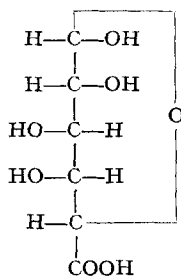


Zur Darstellung der D-Galacturonsäure aus D-Galactose

K. TÄUFEL und W. BOCK

Zahlreiche natürliche, vielfach aus verschiedenartigen Konstituenten bestehende Polysaccharide, wie Pektinstoffe¹, Pflanzengummi und -schleime², Hemicellulosen³, Bakterienpolysaccharide^{4, 5, 6}, Pilzpolysaccharide⁷, Saponine⁸, enthalten als wesentlichen Baustein die D-Galacturonsäure (I). Ihr Verhalten ist mitbestimmend für dasjenige der genannten Naturstoffe, und so nimmt diese Uronsäure das Interesse in analytisch- und in physiologisch-chemischer Hinsicht in Anspruch. Ihre Darstellung aus den ubiquitär verbreiteten, entsprechend vorbehandelten Pektinstoffen, bei denen es sich um partielle Methylester der α -1,4-verknüpften Polygalacturonsäure handelt, erfolgt durch schonende Hydrolyse mittels Mineralsäuren⁹ oder vorteilhaft mit pektolytischen Enzymen¹⁰. Diese Gewinnungsweise ist mit einer recht komplizierten, die Ausbeute beeinträchtigenden Reinigung der Hydrolysate verbunden. Untersuchungen über die natürlichen Polyuronide und



I

¹ KERTESZ, Z. I., The Pectic Substances, Interscience Publishers, INC., New York 1951.

² WHISTLER, R. L. u. C. L. SMART, Polysaccharide Chemistry, New York 1953.

³ NORMAN, A. G., The Biochemistry of Cellulose, etc., Oxford 1937, S. 36.

⁴ BURGER, M., Bacterial Polysaccharides, Springfield 1950, Bd. 3.

⁵ EVANS, T. H. u. H. HIBBERT, Advances Carbohydrate Chem. **2**, 204 (1946).

⁶ STACEY, M., Advances Carbohydrate Chem. **2**, 162 (1946).

⁷ HIRSCH, E. F. u. D. D'ANDREA, J. infect. Diseases **40**, 634 (1927).

⁸ HAAR, A. W. van der, Ber. dtsch. chem. Ges. **55**, 3041 (1922).

⁹ LINK, K. P. u. R. NEDDEN, J. biol. Chemistry **94**, 307 (1931).

¹⁰ ISBELL, H. S. u. H. L. FRUSH, J. Res. nat. Bur. Standards **33**, 389, 401 (1944).

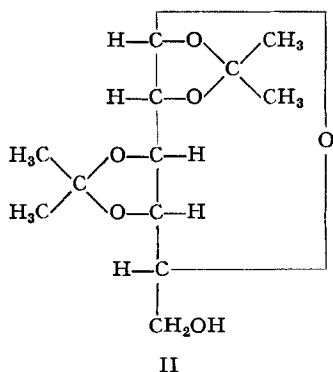
die sie konstituierenden Monomeren stellten uns vor die Notwendigkeit, die Galacturonsäure als definierte Substanz in größerer Menge zur Verfügung zu haben. Wir befaßten uns deshalb mit den Verfahren ihrer synthetischen Darstellung.

1. Grundsätzliches zur Synthese von Galacturonsäure

Ohne auf die älteren, in die Zeit von E. FISCHER¹¹ zurückreichenden Versuche zur Synthese von Galacturonsäure näher einzugehen, seien nur die Bestrebungen erwähnt, die Galactose am C-Atom 6 mit spezifisch wirkenden Oxydationsmitteln direkt zur Galacturonsäure umzusetzen. Eine solche Arbeitsweise geben z. B. K. MAURER und G. DREFAHL¹² an. Bessere Ergebnisse werden erzielt, wenn man von Derivaten der Galactose ausgeht; so oxydiert das flüssige Distickstofftetroxyd (N_2O_4) selektiv das Methylgalactosid zum entsprechenden Galacturonid¹³. C. NIEMANN und K. P. LINK¹⁴ erreichen die partielle Oxydation dieses Glycosids auf elektrochemischem, C. A. MARSH¹⁵ auf katalytischem Wege.

Bei solchen Umsetzungen treten am Zuckermolekül mehr oder minder starke Nebenreaktionen ein, die zu einer Degradation der Kohlenstoffkette führen. Will man dies hintanhalten, so müssen die bei der Synthese unbeteiligten Hydroxylgruppen an den C-Atomen 1, 2, 3 und 4 der Galactose vorübergehend geschützt werden; neben der Veresterung mit Essigsäure¹⁶ hat sich vor allem die Acetalisierung bewährt.

H. OHLE und G. BEREND¹⁷ führten die D-Galactose durch Umsetzung mit Aceton in die stabile 1,2;3,4-Diisopropyliden-D-galactose (II) über, welche bei der Oxy-



¹¹ FISCHER, E., Ber. dtsch. chem. Ges. **23**, 930 (1890); **24**, 2136 (1891); FISCHER, E. u. I. HERTZ ebd. **25**, 1247 (1892).

¹² MAURER, K. u. G. DREFAHL, Ber. dtsch. chem. Ges. **75**, 1489 (1942).

¹³ MAURER, K. u. G. DREFAHL, Chem. Ber. **80**, 94 (1947).

¹⁴ NIEMANN, C. u. K. P. LINK, J. biol. Chemistry **104**, 195 (1934).

¹⁵ MARSH, C. A., J. chem. Soc. (London) **1952**, 1578.

¹⁶ STACEY, M., J. chem. Soc. (London) **1939**, 1529.

¹⁷ OHLE, H. u. G. BEREND, Ber. dtsch. chem. Ges. **58**, 2585 (1925).

dation mit Kaliumpermanganat als Zwischenprodukt das Kaliumsalz der Diisopropyliden-D-galacturonsäure liefert, aus der die freie D-Galacturonsäure (I) gewonnen wird.

Diese Synthese der D-Galacturonsäure — aus L-Galactose ist in analoger Weise L-Galacturonsäure darstellbar¹⁸ — ist hinsichtlich der Durchführung mehrfach abgewandelt worden^{19, 20}. Eigne Versuche vermittelten einige Verbesserungen, die insbesondere die Darstellung der 1.2;3.4-Diisopropyliden-D-galactose sowie die Hydrolyse der 1.2;3.4-Diisopropyliden-D-galacturonsäure betreffen.

2. Arbeitsvorschrift zur Darstellung der D-Galacturonsäure aus D-Galactose

a) Darstellung der 1.2;3.4-Diisopropyliden-D-galactose

In einem 2,5 l Sulfierkolben, mit Rückflußkühler, Thermometer und Rührwerk ausgestattet, werden 90 g (0,5 Mol) getrocknete D-Galactose, 200 g gepulvertes wasserfreies Kupfersulfat sowie 2 l abs. alkoholfreies Aceton intensiv verrührt und mit 10 ml Schwefelsäure ($d = 1,84$) versetzt. Mit Hilfe eines IR-Laborstrahlers stellt man die Temperatur des Kolbeninhaltes gleichbleibend auf 30° ein. Nach 24 Std. ist der größte Teil der Galactose umgesetzt. Man neutralisiert die freie Schwefelsäure, indem man zum Reaktionsgemisch 2mal je 50 g Natriumhydrogencarbonat hinzufügt und die Temperatur auf 40—45° steigert. Während aller Operationen wird der Kolbeninhalt ununterbrochen mechanisch gerührt. Die acetonische Lösung, die die gebildete Diisopropyliden-galactose enthält, muß nach beendeter Neutralisation (etwa 2 Std.) — die Entwicklung von Kohlendioxyd ist zu diesem Zeitpunkt beendet — mit Universal-Indikatorpapier neutrale Reaktion zeigen; die suspendierten Kupfersulfatkörnchen reagieren dabei noch sauer, was aber ohne Einfluß auf die weitere Verarbeitung ist.

Die von der Reaktionsmischung abgesogene Lösung — mehrfaches Nachwaschen mit trockenem Aceton — wird zweckmäßigerweise noch einmal durch ein hartes Papierfilter filtriert, um die sauer reagierenden Trubstoffe restlos zu entfernen. Wird dies nicht beachtet, so tritt während der Konzentrierung der Lösung eine Zersetzung der Diisopropyliden-galactose ein, und man erhält unveränderte kristalline Galactose als Endprodukt.

Vom klaren Filtrat wird die Hauptmenge des Acetons zur Rückgewinnung bei Atmosphärendruck abdestilliert; der restliche Anteil wird im Vakuum der Wasserstrahlpumpe bei einer Badtemperatur von 60° abgetrieben. Bei dieser Operation (2 Std.) geht gewöhnlich eine geringe Menge von Mesityloxyd über, das in Nebenreaktion durch Selbstkondensation des Acetons entstanden ist.

¹⁸ NIEMANN, C. u. K. P. LINK, J. *biol. Chemistry* **104**, 743 (1934).

¹⁹ REICHSTEIN, T., A. GRÜSSNER u. R. OPPENAUER, *Helv. chim. Acta* **16**, 1033 (1933).

²⁰ SELL, H. M. u. K. P. LINK, J. *Amer. chem. Soc.* **60**, 1813 (1938).

Die rohe Diisopropyliden-D-galactose — dickflüssiger, honiggelber Sirup — fällt in einer Ausbeute von 110—125 g an; sie wird unmittelbar in die 2. Stufe eingesetzt. Das reine Präparat zeigt die in Tab. 1 angegebenen Kennzahlen.

b) Darstellung des Kaliumsalzes der 1.2;3.4-Diisopropyliden-D-galacturonsäure

Die rohe Diisopropyliden-D-galactose (110—125 g) wird in 4,5 l dest. Wasser gelöst, das 35 g Natriumhydroxyd bzw. 44 g Kaliumhydroxyd enthält. Man oxydiert in einem 6 l-Sulfierkolben, wie unter a), nur ohne Rückflußkühler ausgestattet, mit insgesamt 300 g pulverisiertem Kaliumpermanganat, indem man das Oxydationsmittel in so kleinen Portionen einträgt, daß die Temperatur im Reaktionsgefäß 40° nicht übersteigt. Liegt nach 24 Std. Rühren noch unverändertes Kaliumpermanganat vor, so hat Reduktion durch Zugabe von Wasserstoffperoxyd zu erfolgen. Die farblose Lösung wird durch Filtrieren über eine Glasfritte vom ausgeschiedenen Mangandioxyd unter mehrmaligem Auswaschen des Niederschlages mit dest. Wasser abgetrennt und abschließend mit Hilfe eines Papierfilters klar filtriert. Die vereinigten Filtrate werden durch Einleiten von Kohlendioxyd neutralisiert (Probe mit Phenolphthalein). Die etwa 5 l betragende Lösung wird zuerst im Vakuum-Umlaufverdampfer bei ungefähr 35° auf ein möglichst geringes Volumen und anschließend in einer Vakuumdestillationsapparatur bis zur Trockne eingengt, wobei die Badtemperatur 65° nicht überschreiten soll. Der trockene Rückstand wird 2mal mit je 300 ml abs. Äthanol in der Wärme extrahiert und von den ungelösten Carbonaten auf einer Glasfritte abgetrennt. Das Filtrat wird abermals im Vakuum der Wasserstrahlpumpe zur Trockne eingedampft und zur Abtrennung der unveränderten Mono- und Diisopropyliden-D-galactose mit 300 ml abs. Aceton ausgezogen. Als kristalliner Rückstand hinterbleibt das farblose Kaliumsalz der 1.2;3.4-Diisopropyliden-D-galacturonsäure in einer Ausbeute von 60 bis 80 g; es wird ohne weitere Reinigung in die 3. Stufe eingesetzt. Das reine Präparat zeigt die in Tab. 1 angegebenen Kennzahlen.

c) Darstellung der 1.2;3.4-Diisopropyliden-D-galacturonsäure

Das Kristallwasser enthaltende rohe Kaliumsalz der Diisopropyliden-galacturonsäure (60—80 g) wird zur Überführung in die freie Säure in 0,5 n-Schwefelsäure gelöst. Die dazu notwendige Menge (375—500 ml) ist derart zu bemessen, daß die Lösung bei völligem Umsatz des Salzes einen p_H -Wert von 2 bis 3 aufweist. Da die freigesetzte Diisopropyliden-galacturonsäure wesentlich schwerer löslich ist als ihr Kaliumsalz, setzt bei dieser Operation öfters spontane Kristallisation ein. Ungeachtet dessen extrahiert man die saure Lösung 4mal mit je 250 ml Äther. Die vereinigten Auszüge werden über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und anschließend bei einer Badtemperatur bis maximal 45° eingedampft. Es hinterbleibt als farblose, kristalline Verbindung die 1.2;3.4-Diisopropyliden-D-galac-

turonsäure; sie wird aus wenig siedendem Benzol unter nachfolgendem Zusatz von Petroläther umkristallisiert; Ausbeute: 40 bis 45 g. Das Präparat zeigt die in Tab. 1 angegebenen Kennzahlen.

d) Darstellung der D-Galacturonsäure

Eine Mischung aus schmelzpunktreiner 1.2;3.4-Diisopropyliden-D-galacturonsäure und dest. Wasser im Verhältnis 1:3 wird auf dem siedenden Wasserbad unter Rückfluß erhitzt, wobei zur Eindämmung oxydativer Zersetzungsprozesse während dieser Hydrolyse — Verfärbung der Lösung — ein schwacher Strom von Kohlendioxyd in das Reaktionsgefäß eingeleitet wird. Nach 2 Std. ist die Abspaltung des Acetons beendet. Die Lösung wird — evtl. nach vorherigem Behandeln mit wenig Aktivkohle — im Vakuum der Wasserstrahlpumpe bei einer Badtemperatur von 40 bis 45° auf ein möglichst geringes Volumen — bis zur beginnenden Kristallisation — eingengt. Durch Zusatz des ungefähr doppelten Volumens an abs. Äthanol erreicht man die vollständige Kristallisation der D-Galacturonsäure; evtl. vorhandene färbende Verunreinigungen bleiben im Alkohol gelöst. Die farblosen, feinen Kristalle werden nach einigem Stehen bei 0° auf einer Glasfritte gesammelt, mit abs. Äthanol und Äther gewaschen und über Phosphorpentoxyd im Vakuum-exsikkator getrocknet. Man erhält aus den eingesetzten 90 g D-Galactose durchschnittlich 23—26 g im Papierchromatogramm einheitliche, analysenreine D-Galacturonsäure.

Tabelle 1

Kennzahlen der bei der Synthese der D-Galacturonsäure aus D-Galactose auftretenden analysenreinen Verbindungen^{17, 20}

Verbindung	Reinigung	Schmp. Sdp.	$[\alpha]_D^{20}$
1.2; 3.4 Diisopropyliden-D-galactose	Destillation bei 10^{-2} — 10^{-3} mm Hg	130— 140°	—54,7° (c = 3,57 in Chloroform)
Kaliumsalz der 1.2;3.4-Diisopropyliden-D-galacturonsäure	Umkristallisation aus Äthanol/Aceton	200— 205°	—61,1° (c = 2,05 in Wasser)
1.2;3.4-Diisopropyliden-D-galacturonsäure	Umkristallisation aus Benzol/Petroläther	157°	—84,0° (in Wasser)
α -D-Galacturonsäure · H ₂ O	Umkristallisation aus Wasser	Sintern ab 110°, 159—160° (Zers.)	+98,0° → +50,9° (Endwert), (c = 2,10 in Wasser)
β -D-Galacturonsäure ²¹	Umkristallisation aus abs. Äthanol	160° (Zers.)	+27,0° → +55,3° (Endwert), (c = 2,25 in Wasser)

²¹ EHRLICH, F u. F. SCHUBERT, Ber. dtsch. chem. Ges. 62, 1974 (1929).

Das Präparat ist ein Gemisch von α - und β -D-Galacturonsäure; es enthält nach der Titration mit 0,1 n-Kalilauge und Phenolphthalein als Indikator 0,5 Mol Kristallwasser. Durch spezielle Kristallisationsverfahren, wie in der Tab. 1 angegeben, lassen sich daraus die optisch reinen Komponenten α -D-Galacturonsäure und β -D-Galacturonsäure gewinnen.

Zusammenfassung

Anhand der Literatur werden die Verfahren zur Darstellung von D-Galacturonsäure, insbesondere die aus D-Galactose erörtert. Die von H. M. SELL und K. P. LINK angegebene Synthese wird durch Vereinfachung abgewandelt und verbessert. Es wird eine ausführliche Arbeitsvorschrift zur Darstellung von chromatographisch reiner D-Galacturonsäure mitgeteilt.

Summary

With regard to literature the methods to produce D-galacturonic acid, especially from D-galactose, are discussed. The synthesis indicated by H. M. SELL and K. P. LINK is varied and improved by simplification. Authors give a detailed instruction to produce chromatographically pure D-galacturonic acid.

Резюме

На основании литературы обсуждены способы получения д-галактуроновой кислоты, особенно методы на основе д-галактозы. Предложенный Зелл'ом и Линк'ом синтез упрощен и усовершенствован. Сообщается точная пропись для получения хроматографически чистой д-галактуроновой кислоты.

Professor Dr. Dr. h. c. K. TÄUFEL und Dr. W. BOCK, Potsdam-Rehbrücke, Arthur-Scheunert-Allee 114/116.

Eingegangen 12. 11. 1959.