

Über die chemischen Bestandteile grüner Pflanzen.

20. Mitteilung.¹⁾

Über die Säuren der Kirschen (*Prunus avium*).

Von

Hartwig Franzen und Fritz Helwert.

(Aus dem chemischen Institut der Technischen Hochschule zu Karlsruhe.)

(Der Redaktion zugegangen am 22. Juni 1922.)

Vor einiger Zeit konnte der eine von uns gemeinsam mit Eugen Schuhmacher²⁾ zeigen, daß die durch Bleiacetat fällbaren Säuren der Johannisbeeren (*Ribes rubrum*) hauptsächlich aus Citronensäure bestehen, daß nebenbei aber auch noch kleine Mengen Äpfelsäure vorhanden sind. In dieser Arbeit konnte auch noch nachgewiesen werden, daß die bisher zur Untersuchung von Früchten benutzten Methoden unzureichend sind. Gemeinsam mit Rudolf Ostertag³⁾ wurden weiter die durch Bleiacetat fällbaren Säuren der Vogelbeeren (*Pirus aucuparia*) untersucht und gefunden, daß sie hauptsächlich aus Äpfelsäure bestehen; nebenbei konnten noch Spuren Bernstein- und Citronensäure nachgewiesen werden. Auch in diesem Falle zeigte sich die Unzulänglichkeit der früher angewandten Untersuchungsmethoden, denn die von Justus Liebig für diese Früchte angegebenen reichlichen Mengen Wein- und Citronensäure konnten nicht aufgefunden werden. In weiterer Verfolgung der Absicht, die in den Früchten vor-

¹⁾ 19. Mitteilung, siehe diese Zs. H. Franzen u. E. Stern z. Zt. im Druck.

²⁾ Diese Zs. Bd. 115, S. 9 (1921).

³⁾ Diese Zs. Bd. 119, S. 150 (1922).

kommenden Säuren möglichst genau kennen zu lernen, um die Grundlagen zur Kenntnis der sich in ihnen abspielenden chemischen Vorgänge zu legen, haben wir die Kirschen untersucht; in diesem Falle beschränkten wir uns aber nicht auf die durch Bleiacetat fällbaren Säuren, sondern wandten unsere Aufmerksamkeit auch den aus dem Filtrat vom Bleiniederschlag durch Äther extrahierbaren zu.

Der Kirschsafte wurde ebenso wie der Johannisbeer- und der Vogelbeersafte zunächst mit Bleiacetatlösung und dann mit basischer Bleiacetatlösung gefällt. Es dürfte angebracht sein, an dieser Stelle einige Worte über die Methodik der Fällung mit Bleiacetatlösung — worüber sich kaum irgendwo im Schrifttum etwas angegeben findet — zu sagen. Bei den großen Mengen Saft, die in Arbeit genommen werden müssen, um auch in kleinerer Menge vorhandener Säuren zu fassen, ist es zweckmäßig zunächst eine Probefüllung vorzunehmen, um annähernd die Anzahl Liter Bleiacetatlösung kennen zu lernen, welche zur Fällung der Gesamtmenge notwendig sind. Wir wandten hierfür — und diese Menge hat sich auch bei der Untersuchung anderer Pflanzensäfte und -auszüge bewährt — 1 Liter Saft an. Er wird in einer tiefen Porzellankelle auf dem Wasserbade erhitzt und aus einem Meßzylinder langsam unter Umrühren soviel kalt gesättigte Bleiacetatlösung hinzugefügt, bis eben kein Niederschlag mehr entsteht. Ob bei weiterem Zusatz keine Fällung mehr erfolgt, ist am Anfang ganz gut so zu erkennen, daß man den Niederschlag absetzen läßt und nun vorsichtig einige Tropfen Bleiacetatlösung hinzufügt; in der überstehenden Flüssigkeit ist eine event. eintretende Fällung gut zu erkennen. Später läßt sich dies Verfahren nicht mehr anwenden, da der Niederschlag sich meistens schwer absetzt; man muß dann kleinere Mengen der trüben Flüssigkeit durch direkt auf Reagenzgläser aufgesetzte kleine Filter abfiltrieren und das Filtrat auf Fällbarkeit untersuchen. Auf diese Weise läßt sich der Endpunkt der Fällung gut ermitteln. In gleicher Weise wird bei der Fällung mit basischer Bleiacetatlösung verfahren. Man muß sich jedenfalls davor hüten zu viel basische Bleiacetatlösung

anzuwenden, da ein großer Teil der Bleisalze organischer Säuren leicht von dieser Lösung aufgenommen wird. Nachdem so die Menge der zur Fällung von 1 Liter Saft notwendigen Anzahl Kubikzentimeter Bleiacetatlösung festgestellt ist, werden größere Mengen — wir wandten ungefähr 20 Liter Saft an — der Fällung unterworfen. Man setzt etwas weniger als die durch die Probefällung ermittelte Menge hinzu und bestimmt zum Schluß wieder an abfiltrierten Proben, wann die Fällung beendet ist. In den meisten Fällen sind recht große Mengen Bleiacetat- und bas. Bleiacetatlösung zur Fällung von Pflanzensäften notwendig; so gebrauchten 1 Liter des von uns untersuchten Kirschsafte 225 ccm kalt gesättigte Bleiacetatlösung und 400 ccm bas. Bleiacetatlösung. Nach dem Abkühlen des Gemisches ist es zweckmäßig, sich noch einmal davon zu überzeugen, ob die Fällung tatsächlich beendet ist.

Der Bleiniederschlag setzt sich, wenn die Fällung in der Hitze vorgenommen wird, nach dem Abkühlen meistens als dicker Schlamm zu Boden, während die überstehende Flüssigkeit vollkommen klar wird. Sie wird sorgfältig abgehebert, der Niederschlag scharf abgesaugt und möglichst zusammengepreßt. Das Auswaschen der Bleiniederschläge auf der Nutsche hat sehr wenig Zweck, da sie sich beim Abpressen zu plastischen, lehmartigen Massen verdichten, die das Wasser nur außerordentlich schwer hindurchlassen. Außerdem enthalten die Bleiniederschläge nicht nur die Bleisalze der Säuren, sondern auch noch erhebliche Mengen Bleiverbindungen von Zuckerarten, des Inosits und vielleicht noch anderer Körper, die sich durch Auswaschen nicht entfernen lassen. Sie sind bei der späteren Verarbeitung der Säuren außerordentlich lästig, wie sich bei der Untersuchung der Johannisbeeren gezeigt hat. In dem Estergemisch aus den Säuren dieser Frucht fanden sich recht erhebliche Mengen Lävulinsäureester und Äthoxymethylfurfurolacetal, die der Einwirkung von alkoholischer Salzsäure auf Zucker ihre Entstehung verdanken und die seine Aufarbeitung natürlich außerordentlich erschweren. Um nun diese Bleiverbindungen und die noch anhaftende Mutterlauge zu entfernen, verfährt

man am besten in der Weise, daß der Bleiniederschlag möglichst fein in Wasser verteilt und in die Aufschlammung unter kräftigem Schütteln so lange Kohlendioxyd eingeleitet wird, bis Sättigung erreicht ist. Durch diese Behandlung werden die Bleiverbindungen der nicht sauren Körper zersetzt und gehen in Lösung. Die Menge des Wassers zum Aufschlänmen wird so gewählt, daß ein ziemlich dünner Brei entsteht; für den Bleiniederschlag aus 20 Liter Kirschsafft nahmen wir 4 Liter. Um den plastischen Bleiniederschlag möglichst fein zu verteilen, wird so verfahren, daß man ihn zusammen mit dem Wasser durch ein Haarsieb treibt; es entsteht eine ganz einheitliche Aufschlammung, in der keine Klumpen mehr vorhanden sind. Den frisch abgessaugten Bleiniederschlag auf die eben geschilderte Weise durch das Sieb zu treiben, ist mit einigen Schwierigkeiten verknüpft; man zerteilt ihn deshalb in kleine Stücke, übergießt sie mit Wasser und läßt 24 Stunden stehen; durch diese Behandlung quillt er auf und kann nun viel leichter verarbeitet werden. Das ganze Verfahren wird, um die weiter oben erwähnten Stoffe möglichst zu entfernen, noch einmal wiederholt. Die Filtrate von dem so gereinigten Bleiniederschlag (Saturationswasser) werden mit dem ursprünglichen Filtrat vereinigt. Der Bleiniederschlag wird dann wieder in Wasser aufgeschlämmt und mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Auf diesem Wege wurden 94 Liter Kirschsafft mit 9,8% Trockensubstanz verarbeitet.

Die auf die eben geschilderte Weise gewonnene kirschrote Lösung der durch Bleiacetat fällbaren Säuren wurde durch Eindampfen im Vakuum auf eine Konzentration von etwa 30% Trockensubstanz gebracht und dann mit Äther extrahiert. Dieser Weg wurde deshalb eingeschlagen, weil wir befürchteten, daß die Behandlung des Bleiniederschlags mit Kohlendioxyd nicht ausreichen würde, um den gesamten Zucker, der später bei der Veresterung der Säuren zur Bildung von Lävulinsäureester und von Äthoxymethylfurfurolacetal Veranlassung geben könnte zu entfernen; sicher zuckerfreie Säuren mußten aber durch Extraktion der wäßrigen Lösung mit Äther erhalten werden. Nach einer bestimmten Zeit wurde die Extraktion unterbrochen, die extrahierten Säuren

verestert und die Ester im Vakuum fraktioniert. Dies geschah deshalb, weil wir erwarteten, daß die leichter löslichen Säuren sich in den ersten Extrakten, die schwerer löslichen in den letzten finden würden und daß dadurch event. nur in kleiner Menge vorhandene Säuren leichter zu fassen wären. Wie jedoch die Siedepunktsbilder der Ester der einzelnen Extrakte, die annähernd übereinstimmen, zeigen, hat das Verfahren für Trennungszwecke keine Bedeutung. Da die gleiche Erfahrung auch schon bei der Untersuchung der Vogelbeeren gemacht wurde, wird man in Zukunft bei der Anwendung des Extraktionsverfahrens auf eine getrennte Verarbeitung der einzelnen Extrakte verzichten können.

Nachdem ungefähr 50% der Trockensubstanz von dem Äther aufgenommen waren, trat in dem Extraktionsgefäß eine so kräftige Emulsionsbildung ein, daß die Extraktion unterbrochen werden mußte. Um nun aber auch noch die in der wäßrigen Lösung befindlichen Säuren der Extraktion zuzuführen, wurden sie im Vakuum zu einem dicken Sirup eingedampft und der Rückstand mit dem mehrfachen Volumen Alkohol durchgeschüttelt; hierbei blieben die Pectinstoffe, die sich verhältnismäßig gut absaugen ließen, ungelöst. Die alkoholische Lösung wurde dann wieder zu einem dicken Sirup eingengt und die Behandlung mit Alkohol wiederholt. Auch bei dieser zweiten Behandlung schieden sich noch recht erhebliche Mengen Pectinstoffe ab. Bei der dritten Wiederholung des Verfahrens blieb die alkoholische Lösung klar. Sie wurde nun verestert und der nach dem Abdestillieren des Alkohols bleibende Rückstand mit Äther aufgenommen; hierbei schieden sich bedeutende Mengen einer roten etwas schmierigen Masse, der Farbstoff der Kirschen, ab. Die Fraktionierung dieser Ester gab das gleiche Siedepunktsbild wie das der Ester aus den einzelnen ätherischen Extrakten; Lävulinsäureester und Äthoxymethylfurfurolacetal waren nicht vorhanden. Die weiter oben geschilderte Behandlung des Bleiniederschlages mit Kohlendioxyd genügt also vollständig, um den Zucker zu entfernen. Die Ätherextraktion wird also bei der Untersuchung der durch Bleiacetat fällbaren Säuren

anderer Früchte nicht notwendig sein. Man wird so verfahren können, daß man den in der weiter oben geschilderten Weise gereinigten Bleiniederschlag zersetzt, die Säurelösung im Vakuum zu einem dicken Sirup eindampft, den Rückstand zur Entfernung der Pectinstoffe mit Alkohol behandelt, die Säuren verestert und die Ester fraktioniert. Diese Abänderung des Verfahrens ist natürlich mit einem großen Zeitgewinn verknüpft.

Die vereinigten Ester wurden nun der mehrfachen Fraktionierung im Vakuum unterworfen. Das Siedepunktsbild der dritten Fraktionierung zeigt ohne weiteres, daß die Ester jedenfalls zum allergrößten Teil aus Äpfelsäureester bestehen, daß daneben aber auch noch andere Ester in kleiner Menge vorhanden sind.

Zur näheren Kennzeichnung wurden die Ester, ebenso wie bei den vorhergehenden Arbeiten, in die Hydrazide bzw. deren Benzylidenverbindungen umgewandelt, und zwar wurde bei allen Fraktionen ganz gleichmäßig nach einer im Versuchsteil angegebenen Vorschrift gearbeitet, welche zum Teil auch schon bei der Untersuchung der Ester aus dem Filtrat vom Bleiniederschlag der Himbeerblätter benutzt wurde.

In den niedrig siedenden Fraktionen findet sich Oxalsäureester. Sein Siedepunkt ist im Schrifttum zu 85° 11 mm angegeben; im hiesigen Institut wurde er zu 74° 11 mm und 78° 15 mm bestimmt. Keine der Fraktionen ist ein annähernd reiner Oxalsäureester; in den beiden niedrigst siedenden Fraktionen von $55\text{--}75^{\circ}$ und von $75\text{--}95^{\circ}$ ist er mit Bernsteinsäureester gemischt, dessen Siedepunkt bei 96° 10 mm liegt. Auch in den höher siedenden Fraktionen, bis zu 115° , sind immer noch Spuren Oxalsäureester vorhanden. Mit Hilfe des Hydrazids gelingt es leicht, auch sehr kleine Mengen Oxalester in einem Estergemisch nachzuweisen, da seine Bildung in alkoholischer Lösung auch in sehr starker Verdünnung fast augenblicklich erfolgt und er praktisch in Alkohol unlöslich ist. Noch aus $\frac{1}{2}\%$ igen Lösungen des Esters in absolutem Alkohol erhält man berechnete Ausbeuten an Hydrazid.¹⁾ Ist

¹⁾ Die hier und weiter unten aufgeführten Angaben über die Erscheinungen bei der Bildung der Hydrazide, über ihre Eigenschaften,

die Lösung des Oxalesters einigermaßen konzentriert, so rufen schon die ersten Tropfen Hydrazinhydrat augenblicklich einen dicken, weißen, käsigen Niederschlag hervor; bei stärkerer Verdünnung entsteht ein flimmernder krystalliner Niederschlag, der aus feinen Blättchen besteht; bei noch stärkerer Verdünnung dauert es 1—2 Minuten, bis die Krystallabscheidung eintritt. Kennzeichnend für die Bildung des Oxalsäuredihydrazids aus Oxalsäureester ist, daß sie so außerordentlich schnell erfolgt, was bei keinem der in Betracht kommenden Ester bisher beobachtet wurde. Man wird also immer, sobald niedrig siedende Esterfraktionen in absolut alkoholischer Lösung auf Zusatz von Hydrazinhydrat augenblicklich oder nach 1—2 Minuten Niederschläge geben, auf Oxalsäuredihydrazid zu prüfen haben. Nach den Angaben von Th. Curtius, G. Schöfer und N. Schwan¹⁾ schmilzt Oxalsäuredihydrazid bei 235° unter Braunfärbung. Reines Oxalsäuredihydrazid, wie es sich aus alkoholischer Lösung abscheidet, schmilzt unter heftiger Gasentwicklung bei 243—244°; eine Braunfärbung ist dabei nicht zu bemerken; nach dem Schmelzen wird das Hydrazid wieder fest, wahrscheinlich unter Bildung des sek. Hydrazids. Um den Schmelzpunkt gut beobachten zu können, ist es zweckmäßig, das Hydrazid in dem Schmelzpunktsröhrchen fest zu stopfen und nicht zu langsam zu erhitzen, da sonst die Umwandlung in das sek. Hydrazid ohne sichtbare Gasentwicklung und Schmelzerscheinungen erfolgt.

Neben Oxalsäureester findet sich in den niedrig siedenden Fraktionen Bernsteinsäureester. Bei der Einwirkung von Hydrazinhydrat auf diesen Ester dauert die Hydrazinbildung erheblich länger als beim Oxalsäureester. In konz. Lösung beginnen sich nach ungefähr $\frac{1}{2}$ Stunde die ersten Krystalle abzuscheiden und nach 24 Stunden ist das Ganze zu einem dicken Brei farbloser Nadelchen erstarrt. Die Trennung eines Gemisches von Oxalsäuredihydrazid und Bernsteinsäure-

die der Benzylidenverbindungen usw. stammen zum Teil von Herrn W. Stritt her, der augenblicklich die Eigenschaften der Hydrazide und ihrer Benzylidenverbindungen näher untersucht.

¹⁾ J. pr. Bd. 51, S. 194 (1895).

dihydrazid, wie es z. B. bei der Einwirkung von Hydrazinhydrat auf die Fraktion 2 (75—95°) ausfällt, bietet keine Schwierigkeit, da das erste Hydrazid in Alkohol unlöslich, das zweite verhältnismäßig leicht löslich ist. 1,0 g Bernsteinsäuredihydrazid lösen sich in 63 ccm siedendem Alkohol; erheblich schwieriger ist der Körper in absolutem Alkohol löslich; 1,0 g benötigen in diesem Falle 140 ccm. Um die beiden Körper zu trennen, wird das Gemisch mit einer zur Lösung des Bernsteinsäuredihydrazids ausreichenden Menge Alkohol ausgekocht und heiß filtriert. Kennzeichnend ist das Aussehen des Bernsteinsäuredihydrazids bei 70facher Vergrößerung; es sind lange flache Nadeln. Aus verdünnteren Lösungen des Bernsteinsäureesters scheiden sich bei der Einwirkung von Hydrazinhydrat unter Umständen auch nach dem Kochen des Gemisches keine Krystalle ab. In diesem Falle wird das Reaktionsgemisch eingedampft und der Rückstand in die Benzylidenverbindung umgewandelt. Die Benzylidenverbindung des Bernsteinsäuredihydrazids ist schon von Th. Curtius, G. Schöfer und N. Schwan¹⁾ dargestellt worden; der Schmelzpunkt und die Löslichkeit finden sich jedoch nicht angegeben. 1,0 g lösen sich in ungefähr 335 ccm siedendem Alkohol; beim Erkalten fallen feine Blättchen aus, die bei 233—234° schmelzen. Der Körper hat die für analytische Zwecke sehr angenehme Eigenschaft, in Alkohol sehr schwer löslich zu sein und beim Erkalten der Lösung zum größten Teil wieder auszufallen, so daß sich noch sehr kleine Mengen durch Umkrystallisieren reinigen und durch Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt kennzeichnen lassen. Da das Bernsteinsäuredihydrazid sich quantitativ in seine Benzylidenverbindung umwandeln läßt, vergrößert sich sein Gewicht um das 2,2fache; es lassen sich also mit seiner Hilfe noch sehr kleine Mengen Bernsteinsäuredihydrazid bzw. Bernsteinsäureester nachweisen.

In Fraktion 2 (75—95°) findet sich schon Äpfelsäureester. Die Trennung des Bernsteinsäuredihydrazids vom Äpfelsäuredihydrazid ist ebenfalls mit keinen besonderen Schwierigkeiten

¹⁾ J. pr. Bd. 51, S. 190 (1895).

verknüpft, da die Löslichkeitsunterschiede der beiden Körper in Alkohol recht beträchtliche sind. 1,0 g Bernsteinsäuredihydrazid lösen sich in 63 ccm siedendem Alkohol, während für 1,0 g Äpfelsäuredihydrazid ungefähr 800 ccm notwendig sind. Zur Trennung wird das Gemisch der beiden Körper mit einer zur Lösung des Bernsteinsäuredihydrazids ausreichenden Menge Alkohol gekocht und heiß filtriert. Gelegentlich scheidet sich jedoch aus dem Filtrat ein Gemisch der beiden Hydrazide ab, welches durch Krystallisation nicht zu reinigen ist. Man verfährt dann so, daß man das Gemisch in die Benzylidenverbindungen umwandelt; jetzt haben sich die Löslichkeitsverhältnisse umgekehrt, das Benzylidenbersteinsäuredihydrazid ist in Alkohol sehr schwer, das Benzylidenäpfelsäuredihydrazid verhältnismäßig leicht löslich; durch Auskochen mit Alkohol lassen sich die beiden Körper dann trennen. Sind größere Mengen Äpfelsäureester in dem Gemisch vorhanden, dann treten bei der Einwirkung von Hydrazinhydrat die schon bei der Untersuchung der Vogelbeeren geschilderten kennzeichnenden Erscheinungen auf. Je nach der Menge des Äpfelsäureesters bilden sich in kürzerer oder längerer Zeit — 0,25—1,5 Stunden — die charakteristischen Wäzchen des Äpfelsäuredihydrazids und wenn der Ester annähernd rein ist, erstarrt das Ganze zu einem dicken farblosen Brei von porzellanartigem Aussehen. Da das Äpfelsäuredihydrazid mikrokrySTALLIN ausfällt — bei 300facher Vergrößerung ist noch keine krystalline Struktur zu erkennen — läßt sich durch mikroskopische Beobachtung leicht erkennen, ob ein Gemisch von Bernsteinsäuredihydrazid und Äpfelsäuredihydrazid vorliegt.

Bernsteinsäureester findet sich in Mischung mit Äpfelsäureester bis zu Fraktion 9 (124—126°). Dann folgt reiner Äpfelsäureester.

Die höher siedenden Anteile, von 127° an, zeigten die Eigentümlichkeit in alkoholischer Lösung nach Hinzufügen des Hydrazinhydrates klar zu bleiben, nach kurzer Zeit sich zu trüben und dann eine klare schmierige Schicht abzusetzen. Diese Erscheinung ist typisch für die Bildung von Citronensäuretrihydrazid aus Citronensäuretriäthylester. Bei der Frak-

tion 12 (127—146°) schieden sich später auch noch Äpfelsäuredihydrazidwarzen ab. Die Trennung der beiden Stoffe gelingt durch Auskochen mit Alkohol, in welchem sich das Citronensäuretrihydrazid löst. Da das Citronensäuretrihydrazid nur schwierig zur Krystallisation zu bringen ist, wurde es durch seine Benzylidenverbindung gekennzeichnet. Beim Umkrystallisieren des Körpers aus verdünntem Alkohol bildeten sich gelbliche, feine Flocken, die bei 175° zu sintern begannen und bei 227° klar geschmolzen waren; gleiches Verhalten zeigte ein aus Kahlbaumschen Citronensäureester gewonnene Benzylidenverbindung; sie zeigte in Mischung mit dem aus Kirschenester gewonnenen Körper keine Schmelzpunktserniedrigung, so daß wohl kein Zweifel bestehen dürfte, daß in den höher siedenden Estern Citronensäureester vorhanden ist, worauf auch der Siedepunkt hindeutet. Theodor Curtius und Friedrich Sauvin¹⁾ beschreiben die Benzylidenverbindung des Citronensäuretrihydrazids als schöne, längliche, farblose Krystalle, die bei 227° schmelzen; wir konnten solche auch nicht aus reinem Citronensäureester erhalten. Die Kennzeichnung des Citronensäureesters als Benzylidenverbindung ist noch nicht völlig befriedigend; weitere Untersuchungen müssen lehren, sie zu verbessern.

Die durch Bleiacetat fällbaren Säuren der Kirschen bestehen hauptsächlich aus Äpfelsäure; nebenbei sind Spuren Oxalsäure und geringe Mengen Bernsteinsäure und Citronensäure vorhanden.

Nachdem die durch Bleiacetat fällbaren Säuren der Kirschen ermittelt waren, wurde noch das Filtrat vom Bleiniederschlag auf ätherlösliche Säuren untersucht. Zu diesem Zwecke wurden die vereinigten Filtrate (ursprüngliches Filtrat und die Saturationswässer) mit Schwefelwasserstoff entbleit und das Filtrat vom Bleisulfid im Vakuum auf 8 Liter eingedampft, so daß eine ungefähr 60%ige Lösung erhalten wurde. In diesen 8 Litern waren 4856 g fester Stoffe enthalten. In der Lösung der durch Bleiacetat fällbaren Säuren waren

¹⁾ J. pr. Bd. 95, S.246 (1917).

1152 g fester Stoffe vorhanden und in dem angewandten Kirschsafft 9212 g; es fehlen also 3214 g fester Stoffe. Sie müssen in den großen Mengen Bleisulfid, wie sie bei der Zersetzung des Bleiniederschlag und bei der Entbleiung des Filtrates von dem Bleiniederschlag entstehen, stecken. Die kolloidalen Massen lassen sich nur außerordentlich schwer auswaschen und außerdem ist ja bekannt, daß Bleisulfid große Mengen fester Substanzen adsorbieren kann. Wir werden auf diese Verhältnisse noch bei der Besprechung der Versuche über die Säuren der Äpfel zurückkommen.

Es war nun zu erwarten, daß die in den 8 Litern Flüssigkeit vorhandenen Säuremengen, wenigstens zum Teil an die Basen der Asche gebunden seien; sie mußten also zunächst durch Zusatz von Schwefelsäure in Freiheit gesetzt werden. Um nun einen Anhaltspunkt für die zur Bindung der Basen notwendige Menge Schwefelsäure zu bekommen, wurde ein kleiner Teil der Lösung zur Trockne eingedampft, der Rückstand verascht und durch Titration die Menge Schwefelsäure ermittelt, welche zur Neutralisation der Asche notwendig ist. Etwas mehr als die errechnete Menge Schwefelsäure wurde dann als 20%ige Lösung zu den 8 Litern Flüssigkeit hinzugefügt und nun mit Äther extrahiert. Aus dem ersten ätherischen Extrakt wurden nach dem Abdestillieren des Äthers, des Wassers und der Essigsäure herkommend, aus dem zur Fällung verwandten Bleiacetat, im Vakuum 150 g einer dunklen dickflüssigen Masse erhalten, aus welcher sich bei mehrtägigem Stehen reichliche Mengen Bernsteinsäure abschieden. Sie wurde durch Schmelzpunkt, Elementaranalyse, durch Darstellung des Hydrazids und dessen Analyse gekennzeichnet. Die Umwandlung kleiner Mengen Bernsteinsäure in ihr Hydrazid gelingt leicht durch Einwirkung von Dimethylsulfat auf das trockne Kaliumsalz bei höherer Temperatur und Behandlung des Dimethylesters mit Hydrazinhydrat. Wir erhielten aus 1,0 g Bernsteinsäure 1,3 g rohes und 1,1 g aus Alkohol umkrystallisiertes Hydrazid, was einer Ausbeute von 98,6 bzw. 83,5% entspricht. Es gelingt nicht die Bernsteinsäure durch Erhitzen ihres Hydrazinsalzes auf 110° in das Hydrazid umzuwandeln,

wie dies bei der Milchsäure leicht möglich war, da das sehr schwer lösliche, wenig kennzeichnende sek. Hydrazid entsteht. Bei der zweiten Extraktion wurde wiederum ein dickes dunkles Öl erhalten aus dem aber Nichts mehr auskrystallisierte. Im ganzen wurden in 161 Stunden 292 g durch Äther extrahierbare Substanzen gewonnen. Beim Verdünnen einer Probe mit Wasser trat keine klare Lösung ein, sondern es entstand eine trübe Flüssigkeit, der sich durch Schütteln mit Benzol die Trübung entziehen ließ. Um die in Benzol löslichen Stoffe zu entfernen wurde das Öl mit Wasser verdünnt und die trübe Lösung erschöpfend mit Benzol extrahiert. Die benzol-löslichen Körper sind noch nicht untersucht worden.

Die mit Benzol extrahierte Lösung wurde im Vakuum zu einem dicken Sirup eingedampft, dieser verestert und die Ester der fraktionierten Destillation im Vakuum unterworfen. Das Siedepunktsbild zeigt, daß große Mengen Ester bei 49—50°, 120—132° und bei 170—175° überdestillieren und verhältnismäßig große Mengen auch noch bei 80—110°. Die Siedepunkte deuten auf Milchsäureester (49—51°), Bernsteinsäureester (80—110°), Äpfelsäureester (120—132°) und einen Ester unbekannter Natur (170—175°) hin.

Zur Kennzeichnung der Ester diente wieder ihre Umwandlung in die Hydrazide bzw. deren Benzylidenverbindungen. Die niedrig siedenden Fraktionen 1₂, 2₂, 3₂, 4₂ (zwischen 21 und 55° siedend) erwiesen sich als Milchsäureester. Von Fraktion 5₂ (55—80°) an mischte sich schon etwas Bernsteinsäureester bei, dessen Menge mit steigendem Siedepunkt immer größer wurde. Die Trennung des Milchsäurehydrazids und des Bernsteinsäuredihydrazids ist verhältnismäßig einfach, da das erste in Alkohol sehr leicht, das zweite verhältnismäßig schwer löslich ist. Bei Anwesenheit von einigermaßen erheblichen Mengen Bernsteinsäureester krystallisiert das Hydrazid zum größten Teil aus. Das Filtrat vom Bernsteinsäuredihydrazid wird eingedampft und der Rückstand in die Benzylidenverbindungen umgewandelt. Diese lassen sich leicht durch heißen Methylalkohol, in welchem Benzylidenmilchsäurehydrazid sehr leicht, Benzylidenbersteinsäuredihydrazid sehr schwer

löslich ist, trennen. Von Fraktion 3₃ (105—110°) an mischt sich dem Bernsteinsäureester schon Äpfelsäureester bei. Die Trennung der Hydrazide bzw. deren Benzylidenverbindungen ist schon weiter oben besprochen worden. Fraktion 2₄ (126 bis 128°) ist reiner Äpfelsäureester und auch Fraktion 3₄ (128—130°) besteht zum allergrößten Teil aus diesem Körper. Von Fraktion 4₄ (128—130°) tritt eine neue Erscheinung auf. Es scheidet sich aus dem Reaktionsgemisch immer noch verhältnismäßig viel Äpfelsäuredihydrazid ab, dessen Menge aber mit steigendem Siedepunkt immer geringer wird. Bei der Darstellung der Benzylidenverbindungen aus den Filtraten vom Äpfelsäuredihydrazid bilden sich keine flockigen Hydrazone sondern schmierige, gelbe, die sich in Alkohol spielend lösen. Es sind die gleichen Erscheinungen wie sie auch bei der Verarbeitung der Ester aus dem Filtrat vom Bleiniederschlag der Himbeerblätter beobachtet wurden; ihre Entstehung dürfte der Gegenwart von ungesättigten Estern zu verdanken sein.

In den ätherlöslichen Säuren aus dem Filtrat vom Bleiniederschlag sind erhebliche Mengen Milchsäure, Bernsteinsäure, Äpfelsäure und wahrscheinlich ungesättigte Säure vorhanden.

An den verschiedenen Estern wurden erhalten rund

Oxalsäureester	Spuren
Bernsteinsäureester	23 g
Äpfelsäureester	478 g
Citronensäureester	8 g
Milchsäureester	49 g
Ungesättigte Ester	7 g

Diesen Mengen Ester entsprechen freie Säuren, wozu noch bei der Bernsteinsäure rund 4 g in freiem Zustande gewonnene kommen

Oxalsäure	Spuren
Bernsteinsäure	19 g
Äpfelsäure	331 g
Citronensäure	5,6 g
Milchsäure	37 g
Ungesättigte Säuren	5 g(?)

In Prozenten sind das

Oxalsäure	0,1 % (?)
Bernsteinsäure	4,7 %
Äpfelsäure	83,25 %
Citronensäure	1,4 %
Milchsäure	9,3 %
Ungesättigte Säuren	1,25 %

Diese Zahlen gelten natürlich nur unter der Voraussetzung, daß die Verluste an Säuren bei der Aufarbeitung des Kirschsafte gleichmäßig sind, was natürlich nur annähernd zutreffen kann; sie geben uns aber jedenfalls einen ungefähren Überblick, in welchem Verhältnis die Säuren in den Kirschen vorhanden sind. Sicher ist jedenfalls, daß die Säuren der Kirschen zum allergrößten Teil aus Äpfelsäure bestehen.

Es dürfte kaum möglich sein, mit den bisher üblichen Fällungsmethoden zur Untersuchung der Früchte so kleine Mengen Oxalsäure, Bernsteinsäure, Citronensäure und Milchsäure, wie sie neben großen Mengen Äpfelsäure in den Kirschen vorkommen, zu fassen. Die Ester-Hydrazidmethode dürfte den bisher üblichen weit überlegen sein.

Was ist nun bisher über die Säuren der Kirschen bekannt?

Die Arbeiten, welche sich mit den Säuren der Kirschen befassen, sind zum Teil dieselben, welche schon in der Untersuchung von Hartwig Franzen und Eugen Schuhmacher¹⁾ besprochen wurden, so daß hier nicht näher auf sie eingegangen zu werden braucht. Es sind dies die Arbeiten von M. Bérard²⁾, R. Kunz und Franz Adam³⁾, M. F. Muttelet⁴⁾ und J. M. Albahary.⁵⁾ Aus den erwähnten Arbeiten geht mit Sicherheit nur hervor, daß in den Kirschen Äpfelsäure vorhanden ist. Außer in den erwähnten Arbeiten findet sich noch in einer ganzen Reihe weiterer die Angabe, daß in den Kirschen Äpfelsäure vorhanden ist. Jedoch ist in diesen lediglich die in den

¹⁾ Diese Zs. Bd. 115, S. 9 (1921).

²⁾ Annales de Chimie et de Physique [2] Bd. 16, S. 225 (1821).

³⁾ Zs. d. Österr. Apotheker-Ver. Bd. 44, S. 243 (1906).

⁴⁾ Annales des Falsifications Bd. 2, S. 363 (1909).

⁵⁾ Annales des Falsifications Bd. 5, S. 147 (1912).

Früchten titrimetrisch ermittelte Säuremenge als Äpfelsäure in Rechnung gezogen worden, so daß auf sie nicht näher eingegangen zu werden braucht.

Versuchsteil.

Verarbeitet wurden 94 Liter Kirschsafft mit 9,8% Trockensubstanz. Zunächst wurde eine Probefällung mit 1 Liter Saft ausgeführt. Der Saft wurde bis annähernd zum Sieden erhitzt und unter fortwährendem Rühren soviel einer kalt gesättigten Bleiacetatlösung hinzugefügt, bis kein Niederschlag mehr entstand. Hierzu waren 225 ccm notwendig; weiter wurde dann soviel basische Bleiacetatlösung hinzugegeben, bis wieder kein Niederschlag mehr ausfiel; gebraucht wurden 400 ccm. Die Gesamtmenge wurde in Portionen von ungefähr 20 Litern der Fällung unterworfen, nach dem Abkühlen der blaugraue Niederschlag scharf abgesaugt, und um ihn möglichst fein zu verteilen, mit 4 Litern Wasser durch ein Haarsieb getrieben. Die Aufschlammung wurde dann in eine große Flasche, die mit Gaszu- und ableitungsrohr versehen war, gegeben und zur Zersetzung der Bleiverbindungen von Zuckerarten und von eventuell vorhandenem Inosit unter fortwährendem kräftigem Schütteln auf einer Schüttelmaschine Kohlendioxyd eingeleitet, bis dieses nicht mehr aufgenommen wurde. Der Niederschlag wurde dann wieder scharf abgesaugt und das Verfahren noch einmal wiederholt. Die Filtrate wurden mit dem ursprünglichen Filtrat von dem Bleiniederschlag vereinigt. Der so gereinigte Bleiniederschlag wurde mit 8 Liter Wasser durch ein Haarsieb getrieben, die Aufschlammung wieder in die Zersetzungsflasche gegeben und unter fortwährendem kräftigem Schütteln so lange Schwefelwasserstoff eingeleitet, bis dieser nicht mehr aufgenommen wurde. Dann wurde die ganze Masse zur Vertreibung von Schwefelwasserstoff bis annähernd zum Sieden erhitzt, nach dem Abkühlen das Bleisulfid abgesaugt und gut mit Wasser ausgewaschen.

Die kirschroten Filtrate von dem Bleisulfid wurden vereinigt, im Vakuum eingedampft, von ausgeflocktem Bleisulfid abfiltriert und schließlich auf ein Volumen von 3,2 Litern mit

1152 g Trockensubstanz gebracht. Diese 3,2 Liter wurden dann in einem später zu beschreibenden Apparat der Extraktion mit Äther unterworfen. Nach einer bestimmten Zeit wurde die Extraktion unterbrochen. Der Extrakt bestand meistens aus einer dunklen, dicken, wäßrigen und einer oberen schwach gefärbten ätherischen Schicht. Der Äther wurde möglichst abdestilliert und der Rückstand in Wasser aufgenommen, wobei sich ein erdfarbener, flockiger Niederschlag abschied, von dem abfiltriert wurde. Die wäßrige Lösung wurde dann, um etwa vorhandene benzollösliche Stoffe zu entfernen, erschöpfend mit Benzol extrahiert. Beim Verdampfen des Benzols hinterblieben 0,8 g eines dicken, gelbbraunen Öls, welches bei längerem Stehen teilweise krystallinisch erstarrte. Es besaß einen angenehmen, süßen Geruch; in diesem Öl liegen vielleicht die Duftstoffe der Kirschen vor. Benzollösliche Stoffe wurden nur aus dem ersten ätherischen Extrakt erhalten. Die wäßrige Lösung wurde nach der Benzolextraktion im Vakuum zur Trockne eingedampft, das dicke dunkle Öl zur Entfernung von etwa noch vorhandenem Wasser in dem doppelten Volumen absolutem Alkohol gelöst und dieser im Vakuum wieder abdestilliert; das Verfahren wurde noch einmal wiederholt. Zur Veresterung wurde der so getrocknete Rückstand in dem vierfachen Volumen absolutem Alkohol aufgenommen, soviel kalt gesättigte alkoholische Salzsäure hinzugefügt, daß die Lösung 2% Chlorwasserstoff enthielt und 5 Stunden zum Sieden erhitzt. Aus der Esterlösung wurde der Alkohol im Vakuum abdestilliert und der dunkle Rückstand mit Äther aufgenommen, wobei sich nach einiger Zeit dunkle, schmierige Massen abschieden, die sich fest an den Wänden des Kolbens absetzten; von diesen wurde abgesehen. Die ätherische Lösung wurde dann zur Entfernung der freien Säure mit konzentrierter Pottaschelösung durchgeschüttelt, über wasserfreiem Kupfersulfat getrocknet, der Äther verdampft und der Rückstand im Vakuum fraktioniert.

Die Extraktion mit Äther konnte nur eine gewisse Zeit durchgeführt werden; nach 577 Stunden Extraktionsdauer trat eine nicht zu bekämpfende Emulsionsbildung auf. Im ganzen

wurden in den 577 Stunden 518 g ätherlösliche Substanzen gewonnen, was ungefähr 50% der Gesamttrockensubstanz ausmacht. Um nun auch noch die in der wäßrigen Lösung vorhandenen Säuremengen der Veresterung zuzuführen, wurde zunächst der Äther entfernt und dann im Vakuum zu einem dicken Sirup eingedampft. Dieser wurde mit 4,5 Liter Alkohol durchgeschüttelt, nach dreitägigem Stehen der flockige, graue Niederschlag (Pektinstoffe) abgesaugt und getrocknet. Das Filtrat wurde wiederum zu einem dicken Sirup eingedampft, mit 5,5 Liter absolutem Alkohol behandelt und die Pektinstoffe nach mehrtägigem Stehen abgesaugt. Nach dem Abdestillieren des Alkohols gab der Rückstand bei der Behandlung mit Alkohol keinen Niederschlag mehr. Er wurde in gleicher Weise wie der Rückstand von den ätherischen Extraktionen verestert. Beim Aufnehmen dieses Esters mit Äther fielen bedeutende Mengen einer roten, etwas schmierigen Masse aus, die sich in Wasser leicht löste (Farbstoff der Kirschen).

Aus der wäßrigen Lösung des zersetzten Bleiniederschlags mit 1152 g Trockensubstanz wurden durch die oben geschilderte Behandlung erhalten:

Ätherischer Extrakt	518 g
Pektinstoffe	180
Nicht extrahierte Säuren plus Farbstoff . . .	430
	<u>1128 g</u>

1. Extraktion. Dauer 77 Stunden. 129,3 g Extrakt. Druck 13 mm.

1. — 40°	2,0 g
2. 40—120	8,8
3. 120—130	94,1
4. 130—139	0,8

Im Kolben 1,5 g eines dicken, braunen Rückstands.

Fraktion 1 und 2 waren farblos, 3 und 4 schwach gelb; alle Fraktionen besaßen einen widerlichen, knoblauchartigen Geruch.

2. Extraktion. Dauer 92,5 Stunden. 104,0 g Extrakt. Druck 13 mm.

1. —100°	4—5 Tropfen
2. 100—120	0,7 g
3. 120—130	53,2
4. 130—135	13,6
5. 135—171	1,3

Im Kolben 5,4 g eines dunklen, dicken Rückstands.

Fraktion 2 und 3 waren farblos, 4 schwach gelb, und 5 eine dicke gelbe Flüssigkeit. Der Geruch war nicht so stark wie bei den Fraktionen der ersten Extraktion.

3. Extraktion. Dauer 161,5 Stunden. 138 g Extrakt.

Druck 12 mm.

1.	—126°	8,7 g
2.	126—130	109,2
3.	130—160	10,1

Im Kolben 3,8 g eines dicken dunkelbraunen Rückstands.

Fraktion 1 und 2 waren farblos, 3 schwach gelb und ziemlich dick; der Geruch war wiederum schwächer als bei den Fraktionen der vorhergehenden Extraktionen.

4. Extraktion. Dauer 246 Stunden. 147 g Extrakt.

Druck 12 mm.

1.	—127°	5 Tropfen
2.	127—130	68,8 g
3.	130—134	28,3

Im Kolben 4,0 g eines dunklen dicken Rückstands.

Fraktion 1 und 2 waren farblos, 3 schwach gelb. Der Geruch war nur noch schwach.

Wäßrige Lösung nach Entfernung der Pektinstoffe und des Farbstoffs.

1. Fraktionierung.

Druck 12 mm.

1.	—127°	Wenige Tropfen
2.	127—130	84,0 g
3.	130—136	6,1

Hochvakuum

4.	125—140°	2,0 g
----	----------	-------

Im Kolben 6,3 g eines dunklen dicken Rückstands.

2. Fraktionierung.

Die Fraktionen von gleichem Siedepunkt wurden vereinigt und der nochmaligen fraktionierten Destillation unterworfen. Die einzelnen Zahlen, die nichts besonderes bieten, können hier fortgelassen werden.

3. Fraktionierung.

Die Ester wurden weiterhin einer dritten Fraktionierung unterworfen.

Druck 11 mm.

1.	55 — 75°	0,4 g	Farblos.
2.	75 — 95	1,2	„
3.	95 — 100	1,6	„
4.	100 — 110	3,5	„
5.	110 — 115	4,0	„
6.	115 — 120	4,4	„
7.	120 — 122	2,6	„
8.	122 — 124	3,0	„
9.	124 — 126	62,2	„
10.	126 — 126,5	285,3	„
11.	126,5 — 127	90,7	Stich ins Gelbe.
12.	127 — 146	3,6	Gelblich.
13.	146 — 150	1,2	„ , dickflüssig.
14.	150 — 160	2 Tropfen	„ , „
15.	160 — 165	2,5 g	„ , „
16.	165 — 170	2,6	„ , „
17.	170 — 180	2 Tropfen.	

Umwandlung der Ester in die Hydrazide bzw. deren Benzylidenverbindungen.

Eine bestimmte Menge Ester wird in dem dreifachen Volumen Alkohol gelöst und etwas mehr als die dem vermuteten Ester entsprechende Menge Hydrazinhydrat hinzugefügt. Die Mischung wird 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen und eventuell Krystallabscheidungen abgesaugt. Das Filtrat wird dann 2 Stunden zum Sieden erhitzt, 12 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten und die eventuell abgeschiedenen Krystalle abgesaugt. Das Filtrat wird auf dem Wasserbade zur Trockne eingedampft, der Rückstand in Wasser aufgenommen, die Lösung mit einigen Tropfen verdünnter Salzsäure angesäuert und so lange in kleinen Mengen unter kräftigem Umschütteln Benzaldehyd hinzugefügt, bis sein Geruch bestehen bleibt. Die Benzylidenverbindung wird abgesaugt, getrocknet und zur Entfernung von Benzaldazin mit Äther behandelt und weiter gereinigt.

Fraktion 1 (55—75°).

0,4 g Ester, 1,2 ccm absol. Alkohol, 0,2 ccm Hydrazinhydrat. Schon die ersten Tropfen Hydrazinhydrat riefen einen farblosen, krystallinen Niederschlag hervor, dessen Menge bei weiterer Zugabe größer wurde. 24 Stunden Zimmertemperatur: keine weitere Veränderung. Abgesaugt.

Feste Hydrazide. Das Hydrazid war etwas schmierig; mit 10 ccm Alkohol ausgekocht. Farblose, krystalline Masse. 0,03 g, Schmelzp. 234—236° unter Braunfärbung und Gasentwicklung. In Mischung mit Oxalsäuredihydrat keine Schmelzpunktserniedrigung. Oxalsäuredihydrat.

Filtrat von den festen Hydraziden. 2 Stunden gekocht: keine Veränderung. 12 Stunden Zimmertemperatur: keine Veränderung. Eingedampft: 0,25 g einer dicken, schmierigen, farblosen Masse. 25 ccm Wasser. Benzylidenverbindung: flockig. Abgesaugt, getrocknet, mit Äther behandelt. Farblose krystalline Masse. 0,2 g. Schmelzpunkt unscharf zwischen 170—192°. Aus 45 ccm siedendem Alkohol farblose Blättchen. Schmelzpunkt nicht ganz scharf zwischen 224—230°. In Mischung mit Benzyliden-Bernsteinsäuredihydrat keine Schmelzpunktserniedrigung. Benzyliden-Bernsteinsäuredihydrat. Fraktion 1 besteht aus einer Mischung von wenig Oxalsäureester und Bernsteinsäureester.

Fraktion 2 (75—95°).

1,0 g Ester, 1,0 ccm absol. Alkohol, 0,5 ccm Hydrazinhydrat. Erscheinungen wie bei der vorhergehenden Fraktion. 24 Stunden Zimmertemperatur: die krystalline Abscheidung hatte sich ganz erheblich vermehrt. Abgesaugt.

Feste Hydrazide. Farblose krystalline Masse; 0,5 g. Schmelzpunkt beginnt bei 123° zu sintern und ist bei 160° klar geschmolzen. Mit 25 ccm Alkohol ausgekocht, noch heiß das Unlösliche abfiltriert und mit heißem Alkohol gewaschen. Farblose krystalline Masse. 0,1 g. Schmelzp. 236—240° unter Gasentwicklung. In Mischung mit Oxalsäuredihydrat Schmelzp. 238—241° unter Gasentwicklung. Oxalsäuredihydrat. Das Filtrat vom Oxalsäuredihydrat wurde auf ein kleines

Volumen eingedampft; beim Erkalten reichliche Krystallisation farbloser krystalliner Massen. Abgesaugt. Unter dem Mikroskop bei 300 facher Vergrößerung die typischen flachen, großen Nadeln des Bernsteinsäuredihydrazids und ein gestaltloses Pulver. Da alle Versuche die Mischung der beiden Hydrazide durch Krystallisation zu trennen, fehlschlugen, wurden sie in der weiter oben geschilderten Weise in die Benzylidenverbindungen umgewandelt. 0,55 g. Schmelzpunkt unscharf zwischen 170 bis 198°. Mit 20 ccm Alkohol ausgekocht. Ungelöst 0,5 g. Schmelzp. 232°; sintert etwas vorher. In Mischung mit Benzyliden-Bernsteinsäuredihydrazid Schmelzp. 232°; sintert etwas vorher. Benzyliden-Bernsteinsäuredihydrazid. Das Filtrat von letzterem schied beim Einengen geringe Mengen eines farblosen Pulvers aus, welches den Schmelzp. 163—165° des Benzyliden-Äpfelsäuredihydrazids zeigte.

Filtrat von den festen Hydraziden. 2 Stunden gekocht: keine Veränderung. 12 Stunden Zimmertemperatur: keine Veränderung. Eingedampft. Der geringfügige Rückstand wurde in 25 ccm Wasser aufgenommen. Benzylidenverbindung: flockig. Abgesaugt, getrocknet, mit Äther behandelt. Farbloses Pulver. Schmelzpunkt unscharf zwischen 180—210°. Aus Alkohol farblose Blättchen. Schmelzp. 232°; in Mischung mit Benzyliden-Bernsteinsäuredihydrazid Schmelzp. 232°. Benzyliden-Bernsteinsäuredihydrazid.

Fraktion 2 besteht aus Oxalsäureester, Bernsteinsäureester und einer geringen Menge Äpfelsäureester.

Die aus den verschiedenen Fraktionen erhaltenen Mengen Oxalsäuredihydrazid wurden vereinigt, in wenig Wasser gelöst, die Lösung filtriert und mit Alkohol gefällt, wobei ein farbloser krystalliner Niederschlag entstand. Abgesaugt und getrocknet. Unter dem Mikroskop lange, breite Prismen. Schmelzp. 242° unter Braunfärbung und Gasentwicklung.

1,024 mg Substanz gaben 0,424 ccm N bei 20° und 750 mm Druck.
1,250 „ „ „ 0,514 „ N „ 18° „ 750 „ „

Ber. für $C_2H_6O_2N_4$
47,56% N

Gef.
47,57 47,60% N

Fraktion 3 (95—100°).

1,4 g Ester, 4,2 ccm absol. Alkohol, 1,0 ccm Hydrazinhydrat. Sofort nach dem Mischen Abscheidung geringer Mengen farbloser Kryställchen. 24 Stunden Zimmertemperatur: Reichliche Abscheidung farbloser krystalliner Massen. Abgesaugt.

Feste Hydrazide: Farblose krystalline Masse. 0,9 g. Beginnt bei 125° zu sintern und ist bei 150° klar geschmolzen. Mit 75 ccm Alkohol ausgekocht und vom Ungelösten abfiltriert. Farblose krystalline Masse. Schmelzp. 240° unter Gasentwicklung. In Mischung mit Oxalsäuredihydrazid Schmelzp. 240° unter Gasentwicklung. Oxalsäuredihydrazid. Das Filtrat vom Oxalsäuredihydrazid schied beim Abkühlen 0,2 g eines farblosen Pulvers aus, welches unter dem Mikroskop bei 300-facher Vergrößerung keine krystalline Struktur erkennen ließ. Schmelzp. 176—179°. In Mischung mit Äpfelsäuredihydrazid Schmelzp. 176—179°. Äpfelsäuredihydrazid. Das Filtrat vom Äpfelsäuredihydrazid wurde auf ein kleines Volumen eingedampft; beim Erkalten farblose krystalline Masse.

Unter dem Mikroskop bei 70-facher Vergrößerung neben einem gestaltlosen Pulver die typischen Nadeln des Bernsteinsäuredihydrazids. Da das Gemisch sich durch Krystallisation nicht trennen ließ, wurden die Hydrazide in die Benzylidenverbindungen umgewandelt. 1,0 g. Schmelzp. unscharf zwischen 170—197°. Mit 25 ccm Alkohol ausgekocht. Ungelöst 0,7 g. Schmelzp. 232°. In Mischung mit Benzylidenbernsteinsäuredihydrazid. Schmelzp. 232°. Benzylidenbernsteinsäuredihydrazid. Das Filtrat von letzterem gab beim Eindampfen 0,25 g eines farblosen Pulvers. Schmelzpunkt 164°; sintert etwas vorher. In Mischung mit Benzylidenäpfelsäuredihydrazid Schmelzp. 164°; sintert etwas vorher. Benzylidenäpfelsäuredihydrazid.

Filtrat von den festen Hydraziden. 2 Stunden kochen: keine Veränderung. 12 Stunden Zimmertemperatur: keine Veränderung. Eingedampft. 0,1 g farbloser Kryställchen. Aus 6 ccm Alkohol farblose flache Nadelchen. Schmelzp. 167—168°. In Mischung mit Bernsteinsäuredihydrazid. Schmelzp. 167—168°. Bernsteinsäuredihydrazid.

Fraktion 3 besteht zur Hauptsache aus Bernsteinsäureester, wenig Äpfelsäureester und einer Spur Oxalsäureester.

Fraktion 4 (100—110°).

2,0 g Ester, 6,0 ccm absol. Alkohol, 1,2 ccm Hydrazinhydrat. Sofort nach dem Hinzufießen des Hydrazinhydrats geringe Menge einer krystallinen Abscheidung. 24 Stunden Zimmertemperatur: beträchtliche Krystallbildung. Abgesaugt.

Feste Hydrazide. Farblose krystalline Masse. 1,35 g. Unter dem Mikroskop bei 70facher Vergrößerung die typischen Nadeln des Bernsteinsäuredihydrazids und viel eines gestaltlosen Pulvers. Schmelzp. unscharf zwischen 142—157°. Mit 75 ccm Alkohol ausgekocht; ungelöst 0,5 g. Schmelzp. 178°; sintert etwas vorher. In Mischung mit Äpfelsäuredihydrazid. Schmelzp. 178°. Äpfelsäuredihydrazid. Aus dem Filtrat schieden sich beim Erkalten feine flache Nadelchen aus, die unscharf zwischen 157—163° schmolzen. Unter dem Mikroskop bei 70facher Vergrößerung fast reines Bernsteinsäuredihydrazid. Nach dem Umkrystallisieren aus Alkohol 0,35 g feine farblose Nadelchen. Schmelzp. 166—167°. Bernsteinsäuredihydrazid. Beim Eindampfen des Filtrates vom Bernsteinsäuredihydrazid hinterblieb eine farblose Krystallmasse. Unter dem Mikroskop bei 70- und 300facher Vergrößerung wesentlich Bernsteinsäuredihydrazid und wenig des gestaltlosen Äpfelsäuredihydrazids. Das Gemisch wurde in die Benzylidenverbindungen umgewandelt und diese mit Alkohol ausgekocht. Ungelöst 0,45 g eines farblosen Pulvers. Schmelzp. 232°; sintert etwas vorher. In Mischung mit Benzylidenbernteinsäuredihydrazid Schmelzp. 232°; sintert etwas vorher. Beim Eindampfen des Filtrats hinterblieb nur ein ganz geringer Rückstand.

Filtrat von den festen Hydraziden. 2 Stunden gekocht: geringe Krystallisation feiner farbloser Nadelchen; 12 Stunden Zimmertemperatur: keine weitere Veränderung. 0,08 g. Schmelzp. 167—168°. In Mischung mit Bernsteinsäuredihydrazid Schmelzp. 167—168°. Bernsteinsäuredihydrazid.

Fraktion 4 besteht aus einer Mischung von Bernsteinsäureester, Äpfelsäureester und einer geringen Spur Oxalsäureester.

Fraktion 5 (110—115°).

2,0 g Ester, 6,0 ccm absol. Alkohol, 1,2 ccm Hydrazinhydrat. Sofort nach dem Mischen geringe Abscheidung farbloser Kryställchen; nach 1,5 Stunden begannen sich die typischen Äpfelsäuredihydrazidwarzen zu bilden und später erstarrte das Ganze zu einem dicken Brei. 24 Stunden Zimmertemperatur: dicker Brei. Abgesaugt.

Feste Hydrazide. Farblose Masse. 1,45 g. Schmelzpunkt unscharf zwischen 145—176°. Mit 35 ccm Alkohol ausgekocht. 1,15 g eines farblosen Pulvers. Unter dem Mikroskop war bei 300facher Vergrößerung keine krystalline Struktur zu erkennen. Schmelzp. 179°; sintert etwas vorher. In Mischung mit Äpfelsäuredihydrazid keine Schmelzpunktserniedrigung. Äpfelsäuredihydrazid. Aus dem Filtrat schieden sich nach dem Einengen feine, flache Nadelchen ab. Unter dem Mikroskop bei 70facher Vergrößerung die typischen Nadeln des Bernsteinsäuredihydrazids. Schmelzp. 167—168°. In Mischung mit Bernsteinsäuredihydrazid Schmelzp. 167—168°. Bernsteinsäuredihydrazid.

Filtrat von den festen Hydraziden. 2 Stunden kochen: keine Veränderung. 12 Stunden Zimmertemperatur: keine Veränderung. Eingedampft. 25 ccm Wasser. Benzylidenverbindung: flockig. Abgesaugt, getrocknet, mit Äther behandelt. 0,2 g einer farblosen Masse. Schmelzpunkt unscharf zwischen 180—210°. Aus 30 ccm Alkohol 0,15 g feine Blättchen. Schmelzp. 232°. Benzylidenbernsteinsäuredihydrazid. Fraktion 5 besteht zum größten Teil aus Äpfelsäureester gemischt mit wenig Bernsteinsäureester.

Die aus den verschiedenen Fraktionen erhaltenen Mengen Bernsteinsäuredihydrazid wurden vereinigt und nochmals aus Alkohol umkrystallisiert. Schmelzp. 166—167°.

0,2140 g Substanz gaben	0,2571 g CO ₂ und	0,1333 g H ₂ O.
0,1892 g	„	0,2509 g CO ₂ „ 0,1185 g H ₂ O.
0,1409 g	„	46,4 ccm N (18°, 756 mm).

Ber. f. $C_4H_{10}O_2N_4$		Gef.	
32,85%	C	32,78	33,00% C
6,89	H	6,97	7,01 H
38,35	N	38,42	N

Die aus den verschiedenen Fraktionen erhaltenen Mengen Benzylidenbernsteinsäuredihydrazid wurden ebenfalls vereinigt und aus Alkohol umkrystallisiert. 1,0 g lösten sich in ungefähr 335 ccm siedendem Alkohol. Beim Erkalten feine Blättchen. Schmelzp. 233—234°.

0,1765 g Substanz gaben 26,4 ccm N (17°, 756 mm).

0,1238 g „ „ 18,4 ccm N (17°, 756 mm).

Ber. für $C_{18}H_{18}O_2N_4$		Gef.	
17,39%	N	17,52	17,45% N

Fraktion 6 (115—120°).

2,0 g Ester, 6,0 ccm absol. Alkohol, 1,2 ccm Hydrazinhydrat. Sofort nach dem Mischen keine Veränderung. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde begannen sich die charakteristischen Wärzchen des Äpfelsäuredihydrazids abzuscheiden und nach 1 Stunde war das Ganze zu einem dicken Brei erstarrt. 24 Stunden Zimmertemperatur: keine weitere Veränderung. Abgesaugt.

Feste Hydrazide. Farbloses Pulver. 1,5 g. Schmelzpunkt unscharf zwischen 158—169°. Mit 55 ccm Alkohol ausgekocht. Ungelöst 1,36 g. Farbloses Pulver. Unter dem Mikroskop war bei 300facher Vergrößerung keine krystalline Struktur zu erkennen. Schmelzp. 177°; in Mischung mit Äpfelsäuredihydrazid Schmelzpunkt 177°. Äpfelsäuredihydrazid. Aus dem Filtrat schieden sich nach dem Einengen feine flache Nadelchen aus. 0,05 g. Schmelzp. 167—168°, in Mischung mit Bernsteinsäuredihydrazid Schmelzp. 167—168°. Bernsteinsäuredihydrazid.

Filtrat von den festen Hydraziden. 2 Stunden kochen: keine Veränderung. Zwölf Stunden Zimmertemperatur, keine Veränderung. Eingedampft: etwas schmierige, farblose Kryställchen. 25 ccm Wasser. Benzylidenverbindung: flockig. Abgesaugt, getrocknet, mit Äther behandelt. Farbloses

Pulver. Aus Alkohol 0,09 g farblose Blättchen. Schmelzp. 231°; sintert etwas vorher. In Mischung mit Benzylidenbernsteinsäuredihydrazid Schmelzp. 231°. Benzylidenbernsteinsäuredihydrazid.

Fraktion 6 besteht hauptsächlich aus Äpfelsäureester und wenig Bernsteinsäureester.

Fraktion 7 (120—122°).

2,0 g Ester, 6,0 ccm absol. Alkohol, 1,2 ccm Hydrazinhydrat. Sofort nach dem Mischen keine Veränderung. Nach kurzer Zeit die charakteristischen Wärzchen des Äpfelsäuredihydrazids; nach $\frac{1}{2}$ Stunde dicker Brei von porzellanartigem Aussehen. 24 Stunden Zimmertemperatur: keine weitere Veränderung. Abgesaugt.

Feste Hydrazide. Farbloses Pulver. 1,6 g entsprechend 94 % der auf Äpfelsäuredihydrazid berechneten Menge. Schmelzp. 178°. Äpfelsäuredihydrazid.

Filtrat von den festen Hydraziden. 2 Stunden kochen: keine Veränderung. 12 Stunden Zimmertemperatur: feine flache Nadelchen. 0,12 g. Unter dem Mikroskop bei 70facher Vergrößerung die typischen flachen Nadeln des Bernsteinsäuredihydrazids. Schmelzp. 166°; sintert etwas vorher. Bernsteinsäuredihydrazid. Beim Eindampfen des Filtrates hinterließ nur ein ganz geringer Rückstand.

Fraktion 7 besteht aus Äpfelsäureester und wenig Bernsteinsäureester.

Fraktion 8 (122—124°).

2,0 g Ester, 6,0 ccm absol. Alkohol, 1,5 ccm Hydrazinhydrat. Erscheinungen wie bei der vorhergehenden Fraktion.

Feste Hydrazide. Farbloses Pulver. 1,6 g, entsprechend 94 % der auf Äpfelsäuredihydrazid berechneten Menge. Schmelzp. 176—178°. Äpfelsäuredihydrazid.

Filtrat von den festen Hydraziden. 2 Stunden kochen: keine Veränderung. 12 Stunden Zimmertemperatur: keine Veränderung. Eingedampft: geringer Rückstand. 25 ccm Wasser. Benzylidenverbindung: flockig. Abgesaugt, getrocknet,

mit Äther behandelt. 0,1 g. Schmelzpunkt unscharf zwischen 182—205°. Aus 35 ccm Alkohol 0,08 g. Kleine Blättchen. Schmelzp. 230—231°. In Mischung mit Benzylidenbernsteinsäuredihydrazid Schmelzp. 230—232°. Benzylidenbernsteinsäuredihydrazid.

Fraktion 8 besteht aus Äpfelsäureester und sehr wenig Bernsteinsäureester.

Fraktion 9 (124—126°).

2,0 g Ester, 6,0 ccm absol. Alkohol, 1,5 ccm Hydrazinhydrat. Erscheinungen wie bei der vorhergehenden Fraktion.

Feste Hydrazide. Farbloses Pulver. 1,65 g, entsprechend 97 % der auf Äpfelsäuredihydrazid berechneten Menge. Schmelzp. 176—178°. In Mischung mit Äpfelsäuredihydrazid Schmelzp. 175—177°. Unter dem Mikroskop war bei 300facher Vergrößerung keine kristalline Struktur zu erkennen. Äpfelsäuredihydrazid.

Filtrat von den festen Hydraziden. 2 Stunden kochen: keine Veränderung. 12 Stunden Zimmertemperatur: keine Veränderung. Eingedampft: sehr geringer Rückstand. 25 ccm Wasser. Benzylidenverbindung: flockig. Abgesaugt, getrocknet, mit Äther behandelt. 0,05 g eines bräunlichen Pulvers. Schmelzp. 185—190°. Aus 18 ccm Alkohol 0,04 g farblose, kleine Blättchen. Schmelzp. 228—231°. In Mischung mit Benzylidenbernsteinsäuredihydrazid Schmelzp. 232—234°. Benzylidenbernsteinsäuredihydrazid.

Fraktion 9 besteht aus Äpfelsäureester und einer Spur Bernsteinsäureester.

Fraktion 10 (126—126,5°).

2,0 g Ester, 6,0 ccm absol. Alkohol, 1,5 ccm Hydrazinhydrat. Erscheinungen wie bei der vorhergehenden Fraktion.

Feste Hydrazide. Farbloses Pulver. 1,7 g, entsprechend 100% der auf Äpfelsäuredihydrazid berechneten Menge.

0,1560 g Substanz gaben 46,5 ccm N (20°, 754 mm).

Ber. f. $C_4H_{10}O_3N_4$
34,57% N

Gef.
34,55% N

Filtrat von den festen Hydraziden. Aus diesem konnte nichts mehr isoliert werden.

Fraktion 10 besteht aus reinem Äpfelsäureester.

Fraktion 11 (126,5—127°).

2,0 g Ester, 6,0 ccm absol. Alkohol, 1,5 ccm Hydrazinhydrat. Die Fraktion verhielt sich genau so wie die vorhergehende.

Fraktion 11 besteht aus reinem Äpfelsäureester.

Fraktion 12 (127—146°).

2,0 g Ester, 6,0 ccm absol. Alkohol, 1,2 ccm Hydrazinhydrat. Sofort nach dem Mischen keine Veränderung; nach 5 Minuten trübte sich die Lösung und es setzte sich eine klare schmierige Abscheidung zu Boden; nach 1,5 Stunden begannen sich Äpfelsäuredihydrazidwarzen abzuscheiden. 24 Stunden Zimmertemperatur: reichliche Abscheidung von Äpfelsäuredihydrazidwarzen.

Feste Hydrazide: Die Mutterlauge wurde von dem Abgeschiedenem abgossen und der Rückstand mit 60 ccm Alkohol ausgekocht, wobei der schmierige Bodensatz in Lösung ging. Ungelöst 1,1 g eines farblosen Pulvers. Schmelzp. 178°; sintert etwas vorher. Äpfelsäuredihydrazid.

Mutterlauge der festen Hydrazide. Die von den abgeschiedenen Hydraziden abgossene alkoholische Lösung und die Mutterlauge von dem Äpfelsäuredihydrazid wurden vereinigt. Eingedampft: schmierige, klare Masse. 50 ccm Wasser. Benzylidenverbindung: flockig. Abgesaugt, getrocknet, mit Äther behandelt. 0,6 g eines weißlichen Pulvers. Schmelzpunkt unscharf bei 200°. In 35 ccm siedendem verdünntem Alkohol ($\frac{3}{5}$ Alkohol, $\frac{2}{5}$ Wasser) gelöst; beim Erkalten schwach gelbliche, feine Flocken. 0,4 g. Beginnt bei 175° zu sintern und ist bei 227° geschmolzen. Ein aus Citronensäuretriäthylester auf gleiche Weise hergestelltes Hydrazon zeigte gleiches Verhalten und zeigte mit dem ersten gemischt keine Schmelzpunkterniedrigung. Benzylidencitronensäuretrihydrazid.

2,856 mg Substanz gaben 0,392 ccm N (21°, 753 mm)

3, 764 mg „ „ 0,551 ccm N (20°, 753 mm).

Ber. f. $C_{27}H_{26}O_4N_6$

Gef.

16,87% N

16,97 16,89% N.

Fraktion 12 besteht hauptsächlich aus Äpfelsäureester und wenig Citronensäureester.

Fraktion 13 (146—150°).

1,0 g Ester, 3,0 ccm absol. Alkohol, 0,7 ccm Hydrazinhydrat. Sofort nach dem Mischen keine Veränderung. Nach kurzer Zeit trat Trübung ein und es setzte sich ein klarer, schmieriger Sirup zu Boden. 24 Stunden Zimmertemperatur: keine weitere Veränderung. Wärzchen von Äpfelsäuredihydrazid traten nicht auf. Eingedampft: schmierige, klare Masse. 50 ccm Wasser. Benzylidenverbindung: flockig. Abgesaugt, getrocknet, mit Äther behandelt. Weißliches Pulver. 0,55 g. Schmelzpunkt unscharf bei 200°. Aus 25 ccm verdünntem Alkohol ($\frac{3}{5}$ Alkohol, $\frac{2}{5}$ Wasser) umkrystallisiert gelbliche Flocken. Beginnt bei 175° zu sintern und schmilzt bei 227°. In Mischung mit Benzylidencitronensäuretrihydrazid keine Schmelzpunktserniedrigung. Benzylidencitronensäuretrihydrazid.

Fraktion 13 dürfte wesentlich aus Citronensäureester bestehen.

Fraktion 15 (160—166°).

2,0 g Ester, 6,0 ccm absol. Alkohol, 1,2 ccm Hydrazinhydrat. Erscheinung wie vorher auch. Es wurden 0,6 g umkrystallisierte Benzylidenverbindung von den weiter oben angegebenen Schmelzpunkterscheinungen erhalten. Benzylidencitronensäuretrihydrazid.

Fraktion 15 besteht also aus Citronensäuretriäthylester.

Fraktion 16 (166—170°).

2,0 g Ester, 6,0 ccm absol. Alkohol, 1,2 ccm Hydrazinhydrat. Erscheinungen wie bei der vorhergehenden Fraktion. Es wurden 0,7 g umkrystallisierte Benzylidenverbindung von

den weiter oben beschriebenen Schmelzpunkterscheinungen erhalten. Benzylidencitronensäuretrihydrazid.

Fraktion 16 besteht aus Citronensäuretriäthylester.

Das aus den durch Bleiacetat fällbaren Säuren der Kirschen erhaltene Estergemisch besteht zum allergrößten Teil aus Äpfelsäureester; daneben sind wenig Bernsteinsäureester und Citronensäureester und Spuren von Oxalester vorhanden.

Verarbeitung des Filtrates von dem Bleiniederschlag.

Das Filtrat von dem Bleiniederschlag und die Satura-tionswässer wurden mit Schwefelwasserstoff entbleit und im Vakuum zu einer 10%igen Lösung eingedampft. Eine Probe wurde mit Baryt genau neutralisiert und mit basischer Blei-acetatlösung versetzt; ein Niederschlag entstand nicht. Da kein zweiter Bleiniederschlag zu erhalten war, wurde die 10%ige Lösung weiter im Vakuum auf 8 Liter zu einer unge-fähr 60%igen eingedampft; sie enthielt 4856 g Trocken-substanz. Von dieser 60%igen Lösung wurden 50 ccm ein-gedampft und der Rückstand verascht; 2,55 g Asche. 1,0 g Asche brauchten 133,1 ccm n/10-Schwefelsäure zur Neutralisation entsprechend 0,652 g Schwefelsäure. Für die 8 Liter Flüssig-keit sind also zur Bindung der Basen 266 g Schwefelsäure notwendig. In die 8 Liter Flüssigkeit wurden nun unter Kühlung und kräftigem Rühren 275 g Schwefelsäure als 20%ige Lösung langsam einlaufen gelassen und dann mit Äther extrahiert.

Nach 44,5 Stunden wurde die Extraktion unterbrochen, aus dem Extrakt der Äther verjagt und das Wasser und die Essigsäure im Vakuum abdestilliert. Es blieben 160 g einer dunklen zähflüssigen Masse zurück, aus welcher sich bei mehr-tägigem Stehen reichliche Krystallmengen abschieden. Abgesaugt; 8,5 g einer gelbbraunen Krystallmasse. Sie wurde mit wenig Wasser zu einem dicken Brei angerührt, wiederum abgesaugt und unter Zusatz von Tierkohle aus Wasser umkrystallisiert. 4,5 g farblose Kryställchen, die bei 180—181° schmolzen. In Mischung mit Bernsteinsäure Schmelzpunkt 180—181°. Bern-steinsäure.

0,1949 g Substanz gaben	0,2924 g CO ₂ und	0,0899 g H ₂ O.
0,1745 g " "	0,2617 g " "	0,0811 g "
Ber. f. C ₄ H ₆ O ₄		Gef.
40,68% C		40,93 40,91% C
5,09 H		5,16 5,19 H

Zur Umwandlung der Bernsteinsäure in ihr Hydrazid wurde 1 g in das Kaliumsalz umgewandelt und dieses im Vakuum bei 110° mit vorgelegtem Phosphorpenoxyd scharf getrocknet. Ausbeute 1,65 g. Das Salz wurde in einem kleinen Fraktionierkölbchen mit 1,2 ccm Dimethylsulfat übergossen und die Mischung allmählich auf 235° erhitzt; es destillierten 1,3 g Bernsteinsäuredimethylester über. Dieser wurde in dem dreifachen Volumen absolutem Alkohol gelöst, etwas mehr als die berechnete Menge Hydrazinhydrat hinzugefügt und die Mischung 2 Stunden gekocht. Die nach dem Erkalten abgetrennten Krystalle wurden abgesaugt und getrocknet. Ausbeute 1,3 g. Aus 94 ccm Alkohol 1,1 g kleine flache Nadelchen. Schmelzp. 166°. In Mischung mit Bernsteinsäuredihydrazid Schmelzp. 167—168°.

0,1438 g Substanz gaben	0,1732 g CO ₂ und	0,0845 g H ₂ O.
0,1943 g " "	0,2313 g " "	0,1149 g "
0,1309 g " "	43,6 ccm N (21°, 756 mm).	
0,1058 g " "	35,2 " "	(21°, 756 mm).
Ber. f. C ₄ H ₁₀ O ₂ N ₄		Gef.
32,85% C		32,86 32,48% C.
6,89 H		6,57 6,61 H.
38,35 N		38,47 38,42 N.

Die Lösung wurde nochmals 116,5 Stunden mit Äther extrahiert; nach dem Abdestillieren des Äthers, des Wassers und der Essigsäure hinterblieben 132 g einer dunklen dicken Masse. Es wurden also im ganzen in 161 Stunden 292 g durch Äther extrahiert. Die 292 g wurden in Wasser zu 600 ccm verdünnt und die Lösung erschöpfend mit Benzol extrahiert. Über die durch Benzol extrahierbaren Bestandteile soll später einmal berichtet werden.

Die mit Benzol extrahierte Lösung wurde zur Trockne im Vakuum eingedampft, der Rückstand, um event. noch vorhandenes Wasser zu entfernen, 2mal mit je 200 ccm absol.

Alkohol abgedampft, der Rückstand — 223 g — in dem vierfachen Volumen absol. Alkohol aufgenommen, soviel alkoholische Salzsäure hinzugefügt, daß die Lösung 2% Chlorwasserstoff enthielt und 5 Stunden gekocht. Aus der Esterlösung wurde der Alkohol aus einem Kochsalzbade abdestilliert und die dunkelbraune dickflüssige Masse mit Äther aufgenommen; beim Stehen schied sich eine dicke dunkle Schmiere aus, von der die ätherische Lösung abgegossen wurde; um noch vorhandene Säuren zu entfernen, wurde sie mit konz. Pottaschelösung durchgeschüttelt, über entwässertem Kupfersulfat getrocknet, der Äther verdampft und der Rückstand der Vakuumdestillation unterworfen.

2. Fraktionierung.

Druck 12 mm.

1 ₂ 21—45°	2,0 g	8 ₂ 115—120°	5,2 g
2 ₂ 45—49	6,5	9 ₂ 120—132	20,8
3 ₂ 49—51	35,4	10 ₂ 132—140	2,4
4 ₂ 51—55	3,6	11 ₂ 140—155	1,8
5 ₂ 55—80	2,9	12 ₂ 155—170	2,8
6 ₂ 80—110	7,1	13 ₂ 170—175	23,3
7 ₂ 110—115	1,7		<hr/> 116,9 g

3. Fraktionierung.

Die Fraktionen 6₂—10₂ wurden der nochmaligen fraktionierten Destillation unterworfen.

Druck 12 mm.

1 ₃ 75—95°	1,0 g	6 ₃ 120—126°	1,8 g
2 ₃ 95—105	3,2	7 ₃ 126—129	8,5
3 ₃ 105—110	1,4	8 ₃ 129—132	11,1
4 ₃ 110—115	1,3	9 ₃ 132—140	2,2
5 ₃ 115—120	1,3		

4. Fraktionierung.

Die Fraktionen 7₃—8₃ wurden nochmals fraktioniert.

1 ₄ 120—126°	3,3 g	3 ₄ 128—130°	5,4 g
2 ₄ 126—128	7,2	4 ₄ 130—132	1,9

Die einzelnen Fraktionen wurden nun in der weiter oben

geschilderten Weise in die Hydrazide bzw. deren Benzylidenverbindungen umgewandelt.

Fraktion 1₂ (21—45°).

2,0 g Ester, 6,0 ccm absol. Alkohol, 1,0 ccm Hydrazinhydrat. 24 Stunden Zimmertemperatur: keine Veränderung. 2 Stunden kochen: keine Veränderung. 12 Stunden Zimmertemperatur: keine Veränderung. Eingedampft: klare, farblose, schmierige Masse. 50 ccm Wasser. Benzylidenverbindung: flockig. Abgesaugt, getrocknet, mit Äther behandelt. Farblose, krystalline Masse. 1,6 g. Schmelzp. 156°; sintert etwas vorher. Aus Methylalkohol feine, farblose Nadelchen. Schmelzp. 159—161°; in Mischung mit Benzylidenmilchsäurehydrazid Schmelzp. 160—161°. Benzylidenmilchsäurehydrazid.

Fraktion 1₂ besteht aus einem Gemisch von Alkohol und Milchsäureester.

Fraktion 2₂ (45—49°).

2,0 g Ester, 6,0 ccm absol. Alkohol, 1,0 ccm Hydrazinhydrat. Erscheinungen und Verarbeitung wie bei der vorhergehenden Fraktion. Ausbeute 1,6 g. Aus Methylalkohol feine farblose Nadelchen. Schmelzp. 159—161°. In Mischung mit Benzylidenmilchsäurehydrazid Schmelzp. 160—161°. Benzylidenmilchsäurehydrazid.

Fraktion 2 besteht aus einem Gemisch von Alkohol und Milchsäureester.

Fraktion 3₂ (49—51°).

2,0 g Ester, 6,0 ccm absol. Alkohol, 1,0 ccm Hydrazinhydrat. Erscheinungen und Verarbeitung wie bei den vorhergehenden Fraktionen. Ausbeute 2,4 g. Aus Methylalkohol feine farblose Nadelchen. Schmelzp. 160—161°. In Mischung mit Benzylidenmilchsäurehydrazid. Schmelzp. 160—161°. Benzylidenmilchsäurehydrazid.

Fraktion 3₂ besteht aus Milchsäureester.

Fraktion 4₂ (51—55°).

2,0 g Ester, 6,0 ccm absol. Alkohol, 1,0 ccm Hydrazinhydrat. Erscheinungen und Verarbeitung wie bei den vor-

hergehenden Fraktionen. Ausbeute 2,4 g. Aus Methylalkohol feine farblose Nadelchen. Schmelzpt. 160—161°. In Mischung mit Benzylidenmilchsäurehydrazid Schmelzpt. 160—161°. Benzylidenmilchsäurehydrazid.

0,1520 g Substanz gaben 19,0 ccm-N (16°, 753 mm).

Ber. f. $C_{10}H_{12}O_2N_2$

Gef.

14,58% N

14,63% N.

Fraktion 4₂ besteht aus Milchsäureester.

Fraktion 5₂ (55—80°).

2,0 g Ester, 6,0 ccm absol. Alkohol, 1,0 ccm Hydrazinhydrat. Erscheinungen und Verarbeitung wie bei den vorhergehenden Fraktionen. Ausbeute 1,5 g. Schmelzpunkt unscharf zwischen 141—146°. Mit 25 ccm Methylalkohol ausgekocht. Ungelöst 0,2 g eines farblosen Pulvers. Schmelzpt. 224—230°. Aus 60 ccm Alkohol feine farblose Blättchen. Schmelzpt. 233—234°. In Mischung mit Benzylidenbernsteinsäuredihydrazid Schmelzpt. 233—234°. Benzylidenbernsteinsäuredihydrazid. Das Filtrat vom Ungelösten auf ein kleines Volumen eingedampft; beim Erkalten dicker Brei farbloser Nadelchen. 1,0 g. Aus Methylalkohol Schmelzpt. 160 bis 161°. In Mischung mit Benzylidenmilchsäurehydrazid 160—161°. Benzylidenmilchsäurehydrazid.

Fraktion 5₂ besteht aus viel Milchsäureester und wenig Bernsteinsäureester.

Fraktion 1₃ (75—95°).

1,0 g Ester, 3,0 ccm absol. Alkohol, 0,5 ccm Hydrazinhydrat. 24 Stunden Zimmertemperatur: keine Veränderung. 2 Stunden kochen: Abscheidung kleiner glänzender Kryställchen. 12 Stunden Zimmertemperatur: Vermehrung der Krystallisation. Abgesaugt.

Feste Hydrazide. 0,2 g farblose, flache Nadelchen. Schmelzpt. 162—164°. Aus 12 ccm Alkohol 0,17 g flache Nadelchen. Schmelzpt. 166°. In Mischung mit Bernsteinsäuredihydrazid. Schmelzpt. 166°. Bernsteinsäuredihydrazid.

Filtrat von den festen Hydraziden. Eingedampft:

wenig einer farblosen schmierigen Masse. 25 ccm Wasser. Benzylidenverbindung: flockig. Abgesaugt, getrocknet, mit Äther behandelt. Farbloses Pulver. 0,2 g. Schmelzp. 168 bis 170°. Mit 5 ccm Methylalkohol ausgekocht. Ungelöst 0,15 g eines farblosen Pulvers. Schmelzp. 233—234°. In Mischung mit Benzylidenbernsteinsäuredihydrazid Schmelzp. 232—234°. Benzylidenbernsteinsäuredihydrazid. Filtrat auf ein kleines Volumen eingedampft; beim Erkalten kleine, farblose Nadelchen. Schmelzp. 160—161°. Benzylidenmilchsäuredihydrazid.

Fraktion 1₃ besteht aus Bernsteinsäureester und einer Spur Milchsäureester.

Fraktion 2₃ (95—105°).

2,0 g Ester, 6,0 ccm absol. Alkohol, 1,2 ccm Hydrazinhydrat. 24 Stunden Zimmertemperatur: reichliche Krystallisation farbloser Nadelchen. 2 Stunden kochen, 12 Stunden Zimmertemperatur: dicker Krystallbrei. Abgesaugt: 1,1 g farblose flache Nadelchen. Unter dem Mikroskop bei 70facher Vergrößerung die typischen Nadeln des Bernsteinsäuredihydrazids. Schmelzp. 161—163°. Aus 65 ccm Alkohol umkrystallisiert 0,88 g farblose, flache Nadelchen. Schmelzp. 166°. In Mischung mit Bernsteinsäuredihydrazid Schmelzp. 166°. Bernsteinsäuredihydrazid.

Fraktion 2₃ besteht hauptsächlich aus Bernsteinsäureester.

Fraktion 3₃ (105—110°).

1,0 g Ester, 3,0 ccm absol. Alkohol, 0,6 ccm Hydrazinhydrat. 24 Stunden Zimmertemperatur: reichliche Krystallisation farbl. flacher Nadelchen. Abgesaugt. 0,6 g. Beginnt bei 149° zu sintern und schmilzt bei 156—158°. Mit 50 ccm Alkohol ausgekocht. Ungelöst 0,05 g eines farblosen Pulvers. Schmelzp. 176—179°. In Mischung mit Äpfelsäuredihydrazid. Schmelzp. 177—178°. Äpfelsäuredihydrazid. Das Filtrat wurde eingeengt; beim Erkalten 0,5 g farbloser, flacher Nadelchen. Schmelzp. 166—167°. In Mischung mit Bernsteinsäuredihydrazid Schmelzp. 166—167°. Bernsteinsäuredihydrazid.

Fraktion 3₃ besteht aus einem Gemisch von viel Bernsteinsäureester und wenig Äpfelsäureester.

(Fraktion 4₃ (110—115°).

1,1 g Ester, 3,3 ccm absol. Alkohol, 0,9 ccm Hydrazinhydrat. Sofort nach dem Mischen keine Veränderung; nach kurzem Stehen scheiden sich kleine farblose Warzen von Äpfelsäuredihydrazid an den Wänden und am Boden des Kölbchens ab; später auch die kleinen flachen Nadelchen des Bernsteinsäuredihydrazids. 24 Stunden Zimmertemperatur: keine weitere Veränderung.

Feste Hydrazide. 0,5 g. Schmelzpunkt 150—158°. Mit 40 ccm Alkohol ausgekocht. Ungelöst 0,12 g eines farblosen Pulvers. Schmelzp. 177—178°. In Mischung mit Äpfelsäuredihydrazid 177—178°. Äpfelsäuredihydrazid. Filtrat eingengt; beim Erkalten 0,25 g feiner, flacher Nadelchen. Schmelzp. 165—167°. In Mischung mit Bernsteinsäuredihydrazid 165—167°. Bernsteinsäuredihydrazid.

Filtrat von den festen Hydraziden. 2 Stunden kochen: keine Veränderung. 12 Stunden Zimmertemperatur: keine Veränderung. Eingedampft: geringer Rückstand. 25 ccm Wasser. Benzylidenverbindung: flockig. Abgesaugt, getrocknet, mit Äther behandelt. Farbloses Pulver. 0,5 g. Schmelzpunkt unscharf zwischen 185—207°. Aus Alkohol feine, farblose Blättchen. Schmelzp. 233—234°. In Mischung mit Benzylidenbernteinsäuredihydrazid 232—234°. Benzylidenbernteinsäuredihydrazid.

Fraktion 4₃ besteht aus einem Gemisch von Bernsteinsäureester und Äpfelsäureester.

Fraktion 5₃ (115—120°).

1,2 g Ester, 3,6 ccm absol. Alkohol, 1,0 ccm Hydrazinhydrat. Sofort nach dem Mischen keine Veränderung. Nach kurzer Zeit Warzen von Äpfelsäuredihydrazid am Boden und an den Wänden des Kölbchens; später dünner Krystallbrei. 24 Stunden Zimmertemperatur: keine weitere Veränderung.

Feste Hydrazide. 0,45 g. Schmelzpunkt unscharf zwischen 150—170°. Mit 15 ccm Alkohol ausgekocht. Un-

gelöst 0,2 g eines farblosen Pulvers; Schmelzpt. 178°; sintert etwas vorher. In Mischung mit Äpfelsäuredihydrazid Schmelzpt. 178°; sintert etwas vorher. Äpfelsäuredihydrazid. Aus dem Filtrat beim Erkalten 0,25 g flache Nadelchen. Schmelzpt. 166°. In Mischung mit Bernsteinsäuredihydrazid Schmelzpt. 166 bis 167°. Bernsteinsäuredihydrazid.

Filtrat von den festen Hydraziden. 2 Stunden kochen: keine Veränderung. 12 Stunden Zimmertemperatur: keine Veränderung. Eingedampft. 25 ccm Wasser. Benzylidenverbindung: flockig. Abgesaugt, getrocknet, mit Äther behandelt. 0,1 g. Schmelzpunkt unscharf zwischen 195—210°. Aus 32 ccm siedendem Alkohol farblose kleine Blättchen. Schmelzpt. 232—234°. In Mischung mit Benzylidenbernsteinsäuredihydrazid Schmelzpt. 232—234°. Benzylidenbernsteinsäuredihydrazid.

Fraktion 5₃ besteht aus einem Gemisch von Äpfelsäureester und Bernsteinsäureester.

Fraktion 1₄ (120—126°).

2,0 g Ester, 6,0 ccm absol. Alkohol 1,2 ccm Hydrazinhydrat. Sofort nach dem Mischen keine Veränderung. Nach kurzer Zeit Abscheidung von Wärcchen des Äpfelsäuredihydrazids und bald darauf dicker Brei. 24 Stunden Zimmertemperatur: keine weitere Veränderung.

Feste Hydrazide. 1,15 g eines farblosen Pulvers. Schmelzpunkt unscharf zwischen 160—178°. Mit 20 ccm Alkohol ausgekocht. Ungelöst 0,95 g eines farblosen Pulvers. Unter dem Mikroskop war bei 300 facher Vergrößerung keine krystalline Struktur zu erkennen. Schmelzpt. 178°; sintert etwas vorher. In Mischung mit Äpfelsäuredihydrazid Schmelzpt. 178°; sintert etwas vorher. Äpfelsäuredihydrazid. Aus dem Filtrat schieden sich beim Erkalten 0,11 g farblose, flache Nadelchen aus. Schmelzpt. 166—167°. In Mischung mit Bernsteinsäuredihydrazid Schmelzpt. 166—167°. Bernsteinsäuredihydrazid.

Filtrat von den festen Hydraziden. 2 Stunden kochen: keine Veränderung. 12 Stunden Zimmertemperatur: keine Ver-

änderung. Eingedampft. 25 ccm Wasser. Benzylidenverbindung: flockig. Abgesaugt, getrocknet, mit Äther behandelt. 0,08 g eines farblosen Pulvers. Schmelzpunkt unscharf zwischen 212—224°. Aus 25 ccm Alkohol farblose kleine Blättchen. Schmelzpt. 232—234°. Benzylidenbernsteinsäuredihydrazid.

Fraktion 1₄ besteht aus einem Gemisch von Bernstein-säureester und Äpfelsäureester.

Fraktion 2₄ (126—128°).

2,0 g Ester, 6,0 ccm absol. Alkohol, 1,5 ccm Hydrazinhydrat. Sofort nach dem Mischen keine Veränderung. Nach kurzer Zeit Würzchen von Äpfelsäuredihydrazid und nach 1/2 Stunde dicker Brei von porzellanartigem Aussehen. 24 Stunden Zimmertemperatur: keine weitere Veränderung. Abgesaugt. Ausbeute 1,7 g entsprechend 100% der auf Äpfelsäuredihydrazid berechneten Menge. Farbloses Pulver Schmelzpt. 176—178°. In Mischung mit Äpfelsäuredihydrazid Schmelzpt. 176—178°. Äpfelsäuredihydrazid.

0,1040 g Substanz gaben 0,1130 g CO₂ und 0,0578 g H₂O.

0,1033 g „ „ 30,99 ccm N (20°, 754 mm).

0,1416 g „ „ 34,71 ccm N (20°, 753 mm).

Ber. f. C₄H₁₀O₈N₄

Gef.

29,63% C

29,51% C

6,22 H

6,42 H

34,57 N

34,68—34,71 N

Fraktion 2₄ besteht aus Äpfelsäureester.

Fraktion 3₄ (128—130°).

2,0 g Ester, 6,0 ccm absol. Alkohol, 1,2 ccm Hydrazinhydrat. Sofort nach dem Mischen keine Veränderung. Nach kurzer Zeit Würzchen von Äpfelsäuredihydrazid, später dicker Brei von porzellanartigem Aussehen. 24 Stunden Zimmertemperatur: keine weitere Veränderung. Abgesaugt. Ausbeute 1,5 g entsprechend 93,5% der auf Äpfelsäuredihydrazid berechneten Menge. Farbloses Pulver. Schmelzpt. 176—178°. In Mischung mit Äpfelsäuredihydrazid Schmelzpt. 175—178°. Äpfelsäuredihydrazid.

6*

Fraktion 3₄ besteht zum allergrößten Teil aus Äpfelsäureester.

Fraktion 4₄ (130—132°).

1,7 g Ester, 5,1 ccm absol. Alkohol, 1,1 ccm Hydrazinhydrat. Sofort nach dem Mischen keine Veränderung. Nach kurzer Zeit Warzenbildung und dann dicker Brei. 24 Stunden Zimmertemperatur: keine weitere Veränderung. Abgesaugt. Ausbeute 1,1 g entsprechend 63,5% der auf Äpfelsäuredihydrazid berechneten Menge. Farbloses Pulver. Schmelzp. 178°; sintert etwas vorher. In Mischung mit Äpfelsäuredihydrazid Schmelzp. 178°; sintert etwas vorher.

Filtrat vom Äpfelsäuredihydrazid. 2 Stunden kochen: keine Veränderung. 12 Stunden Zimmertemperatur: keine Veränderung. Eingedampft: 25 ccm Wasser. Benzylidenverbindung: schmierig.

Fraktion 4₄ besteht zum größten Teil aus Äpfelsäureester; nebenbei sind auch noch beträchtliche Mengen Ester vorhanden, deren Hydrazide schmierige Benzylidenverbindungen liefern.

Fraktion 9₃ (132—140°).

2,0 g Ester, 6,0 ccm absol. Alkohol, 1,2 ccm Hydrazinhydrat. Sofort nach dem Mischen keine Veränderung. Nach kurzer Zeit Warzenbildung und dann dicker Brei. 24 Stunden Zimmertemperatur: keine weitere Veränderung. Abgesaugt. Ausbeute 1,2 g entsprechend 70,5% der auf Äpfelsäuredihydrazid berechneten Menge. Schmelzp. 176—178°. Äpfelsäuredihydrazid. Filtrat vom Äpfelsäuredihydrazid lieferte schmierige Benzylidenverbindungen.

Fraktion 9₃ besteht zum größten Teil aus Äpfelsäureester; nebenbei sind auch noch Ester unbekannter Natur vorhanden.

Fraktion 11₂ (140—135°).

1,8 Ester, 6,0 ccm absoluter Alkohol, 1,2 ccm Hydrazinhydrat. Sofort nach dem Mischen keine Veränderung. Nach kurzer Zeit Würzchen am Boden des Kolbens. Abgesaugt.

0,6 g. Schmelzp. 177—178°; in Mischung mit Äpfelsäuredihydrazid Schmelzp. 176—178°. Äpfelsäuredihydrazid. Aus dem Filtrat konnten nur schmierige Benzylidenverbindungen gewonnen werden.

Fraktion 11₂ besteht zu einem kleinen Teil aus Äpfelsäureester, zum größten Teil aus Estern unbekannter Natur.

Fraktion 12₂ (140—155°).

Die Fraktion verhielt sich ebenso wie die vorhergehenden; sie besteht also zum kleinsten Teil aus Äpfelsäureester, zum größten aus Estern unbekannter Natur.

Zusammenfassung.

Die Säuren der Kirschen bestehen überwiegend aus Äpfelsäure; nebenbei sind Spuren Oxalsäure, geringe Mengen Bernsteinsäure, Citronensäure, Milchsäure und ungesättigte Säuren vorhanden.

Es zeigt sich auch in diesem Falle wieder, ebenso wie bei den Johannisbeeren, daß die bisher zur Untersuchung der Früchte angewandten Methoden unzureichend sind, daß es mit ihrer Hilfe nicht gelingt, in geringer Menge vorhandene Säuren nachzuweisen.

Die Arbeit wurde mit Hilfe von Mitteln durchgeführt, die uns von der Notgemeinschaft der deutschen Wissenschaft zur Verfügung gestellt wurden. Wir sagen auch an dieser Stelle der Notgemeinschaft unseren herzlichsten Dank.