

1 Stde. am Rückflußkühler erhitzt und dann genügend lange bei Zimmer-temperatur stehen gelassen wurde, stimmten colorimetrischer und titrimetrischer Wert in mehreren Versuchen bei 38—40% α -Ester überein.

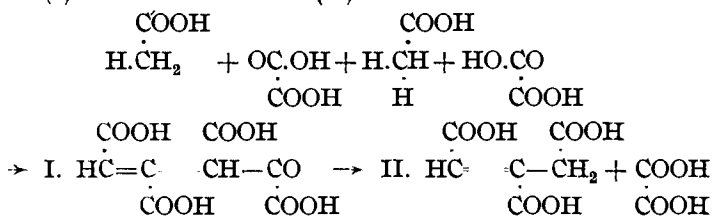
Da noch häufig Brom-Titration und Eisenchlorid-Reaktion allgemein als charakteristisch für Enole angesehen werden¹⁸⁾, fassen wir unsere Erfahrungen nochmals wie folgt zusammen: Nicht alle Enole addieren in alkohol. Lösung Brom. Die Gegenwart von negativen Gruppen oder stereochemische Hinderung können so die bromtitrimetrische Analyse vereiteln. Nicht alle Enole geben mit Eisenchlorid charakteristische Färbungen. Beim Fehlen innerkomplexer Eisen- oder Eisenchlorid-Verbindungen fällt die qualitative und quantitative colorimetrische Erkennung fort. Verlaufen beide Reaktionen positiv — wie es bei strukturell einfachen keto-enol-tautomeren Stoffen der Fall ist —, so bieten bromometrische und colorimetrische Bestimmung oft eine willkommene gegenseitige Kontrolle. Zeigen verschiedene Enole des gleichen Stoffes Unterschiede in den genannten Reaktionen, so kann die Kombination der colorimetrischen und bromtitrimetrischen Methode häufig wertvolle Aufschlüsse übermitteln.

41. Hartwig Franzen † und Friedrich Schmitt: Die Bildung der Citronensäure aus Ketipinsäure.

[Aus d. Chem. Inst. d. Techn. Hochschule Karlsruhe.]

(Eingegangen am 8. Dezember 1924)¹⁾.

Für die Bildung der Citronensäure in den Pflanzen liegen verschiedene Erklärungsversuche vor. P. Mazé und A. Perrier²⁾, sowie neuerdings S. Kostyschew³⁾ halten eine Herkunft von den Aminosäuren für möglich; älter sind Versuche, die Entstehung der Säure unmittelbar aus den Abbauprodukten der Glucose zu erklären. L. Claisen und E. Hori⁴⁾ vermuten, daß die Pflanze entsprechend der von diesen Autoren entdeckten Synthese arbeitet, die von der Essigsäure und Oxalsäure über die Aconitoxalsäure (I) zur Aconitsäure (II) führt:



„Die Synthese erfolgt sehr leicht; sämtliche Phasen vollziehen sich bei gewöhnlicher oder nur wenig erhöhter Temperatur, sodaß man fast glauben möchte, daß auch in der Natur die Bildung der Aconitsäure sowohl wie der ein Molekül Wasser mehr enthaltenden Citronensäure auf ähnliche Weise zustande kommt.“

¹⁸⁾ siehe z. B. H. Meyer, Analyse und Konstitutionsermittlung, Springer 1922, S. 648.

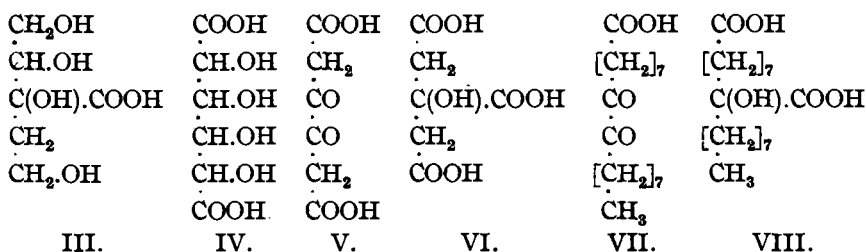
¹⁾ Der experimentelle Teil war bei H. Franzens Tode abgeschlossen.

K. Freudenberg.

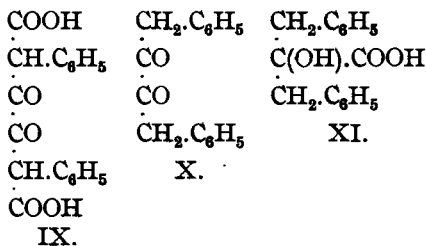
²⁾ Ann. de l'Inst. Pasteur 18, 557 [1904].

³⁾ Pflanzenatmung, Berlin 1924, S. 139. ⁴⁾ B. 24, 120 [1891].

Eine weitere Erklärung sucht Anlehnung an die Bildung der Saccharine aus Zuckern. So, wie die Parasaccharinsäure (III) aus Galaktose entsteht, könnte ein entsprechendes Produkt sich aus Glucose bilden und alsdann durch Oxydation in Citronensäure übergehen. Dieser Gedanke, den Fr. Knoop und A. Windaus⁵⁾ zuerst ausgesprochen haben, läßt sich auch dahin variieren, daß aus dem Zucker zunächst ein Oxydationsprodukt entsteht und dieses durch einen der Saccharin-Bildung ähnlichen Vorgang in Citronensäure übergeht. Nachdem man gelernt hat, die Saccharin-Bildung als eine Analogie zur Benzilsäure-Umlagerung aufzufassen⁶⁾, läßt sich die folgende Bildung der Citronensäure denken. Glucose wird zuerst auf die Stufe der Zuckersäure (IV) oxydiert und diese zur Ketipinsäure (V) disproportioniert, die sich analog der Benzilsäure-Umlagerung zu Citronensäure (VI) umformen könnte.



Daß diese Umlagerung bei ähnlichen Substanzen möglich ist, haben neuerdings B. H. Nicolet und A. E. Jurist⁷⁾ gezeigt; sie konnten die 9.10-Diketo-stearinsäure (VII) in eine Oxysäure mit verzweigter Kette VIII umlagern. Auch der Übergang der Pulvinsäure (IX, Keto-Form des Pulvinsäure-hydrates) über das hypothetische Dibenzyl-diketon (X) in die Dibenzyl-glykolsäure (XI)⁸⁾ ist ebenso zu deuten.



Somit fehlt es nicht an Vorgängen für die vermutete Umwandlung der Ketipinsäure in Citronensäure. Tatsächlich läßt sich dieser Übergang, wie weiter unten gezeigt wird, experimentell durchführen. Aber auch für das natürliche Vorkommen der Zwischenstufe zwischen Glucose und Citronensäure, der Ketipinsäure, liegen Anzeichen vor. Diese Säure ist unbeständig. Durch die trockene Destillation erhielten R. Fittig, C. Daimler und H. Keller⁹⁾ unter Kohlensäure-Abspaltung Diacetyl. Die Ketipinsäure wurde bis jetzt aus Pflanzen noch nicht isoliert, dagegen findet sich das Diacetyl

⁵⁾ Beitr. z. chem. Phys. u. Path. 6, 394 Anm. [1905].

⁶⁾ J. U. Nef, A. 376, 1 [1910]. ⁷⁾ Am. Soc. 44, 1136 [1922].

⁸⁾ A. Spiegel, B. 13, 1629 [1880], 14, 1686 [1881], 15, 1546 [1882]; A. 219, 1 [1883].

⁹⁾ B. 20, 3188 [1887]; A. 249, 182 [1888].

in den Destillaten sehr vieler ätherischer Öle¹⁰⁾. So konnten Schimmel & Co. das Diacetyl durch die Bildung von Glyoxalinsilber im Angelicaöl nachweisen. In verschiedenen Angelica-Destillationswässern wurde es als Diacetyl-osazon identifiziert. Es ist sehr fraglich, ob das Diacetyl ursprünglich in diesen Ölen vorhanden ist; es kann vielmehr angenommen werden, daß es durch Kohlensäure-Abspaltung aus Ketipinsäure entsteht.

Durch eine Abänderung der von W. Wislicenus¹¹⁾ gegebenen Vorschrift gelang die Darstellung der nötigen Menge von Ketipinsäure-ester. Bei der Kondensation des Oxalesters mit Essigester wurde weniger Natrium verwendet und bei tieferer Temperatur gearbeitet. Die Ausbeute an reinem Ketipinsäure-ester ließ sich dadurch auf 24% steigern. Zur Umlagerung wurde wäßrige Kalilauge verwendet, alkohol. Kalilauge gab schlechtere Resultate, das entstehende Säuregemisch wurde verestert und durch Destillation in verschiedene Fraktionen zerlegt, in denen die Säuren als Hydrazide und deren Benzylidenverbindungen identifiziert wurden. Neben wenig Oxalsäure wurde Citronensäure festgestellt. Angesichts der Verluste bei der Veresterung dürfte die gefundene Menge, 12%, ein Mindestwert sein, während die wirklich entstandene Menge auf 20–30% geschätzt werden kann.

Somit ist die Umlagerung der Ketipinsäure in Citronensäure verwirklicht.

Beschreibung der Versuche.

Ketipinsäure-ester.

Die Darstellung nach R. Fittig, C. Daimler und H. Keller¹²⁾ ergab eine Ausbeute von nur 4%, während nach der Vorschrift von W. Wislicenus¹³⁾ 15% erhalten wurden.

16 g Natrium (2 Mole) werden in Drahtform in einen Rundkolben gepreßt, der, um Oxydation zu vermeiden und die Ester in besseren Kontakt zu bringen, 200 g trockenen Äther enthält. Hierauf läßt man 50 g Oxalester (1 Mol) unter guter Kühlung zufließen und versieht den Kolben mit einem Rückflußkühler. Um die Bildung von Acetessigester einzuschränken, läßt man langsam 60 g Essigester (2 Mole) zutropfen. Zu langsames Zutropfen vermindert die Ausbeute. Die Kühlung wird bis zur Beendigung der stürmischen Reaktion beibehalten und jede spätere Erwärmung vermieden. Der Kolbeninhalt bleibt 24 Stdn. bei Zimmertemperatur stehen und wird dann folgendermaßen aufgearbeitet:

In einen mit Rührwerk versehenen Filtrierstutzen wird die auf das zur Reaktion angewendete Natrium berechnete Menge 2-n. Schwefelsäure, im geringen Überschuß, gebracht. Der Filtrierstutzen befindet sich in einer Eis-Kochsalz-Kältemischung. Zu der Schwefelsäure wird unter stetem Rühren der schwarzbraune Kolbeninhalt, welcher ebenfalls gut gekühlt ist, langsam zugegeben. Dadurch wird die sofortige Bildung zweier gut trennbarer Schichten erreicht. Die ätherische Schicht wird von der wäßrigen leicht im Scheidetrichter getrennt, getrocknet und der Äther bis zur beginnenden Ausscheidung des Ketipinsäure-esters im Vakuum abgedampft. Die gesättigte Lösung wird in flachen Schalen der langsamen Krystallisation überlassen.

¹⁰⁾ O. Aschan, Z. Ang. 20, 1814 [1907] (Kienöl); Schimmel & Co., C. 1900, I 907 (Vetiveröl), 1900, II 970 (Sadebaumöl), 1901, I 1007 (Bayöl), 1903, I 1086 (westind. Sandelholzöl), 1909, I 22 (Irisöl), 1913, I 1972 (Angelicaöl).

¹¹⁾ B. 20, 589 [1887]. ¹²⁾ A. 249, 182 [1888]. ¹³⁾ B. 20, 589 [1887].

Die Krystalle werden vom anhaftenden Öle durch Absaugen befreit und zweimal aus absol. Alkohol umkrystallisiert. Die Ausbeute beträgt im Durchschnitt 19 g = 24 % d. Th. Die alkohol. Lösung des Ketipinsäure-esters gibt mit Eisenchlorid eine tiefrote Färbung.

Umlagerung des Ketipinsäure-esters.

34.5 g Ketipinsäure-ester wurden in fein gepulverter Form portionsweise unter stetem Schütteln in eine Lösung von 33.6 g Kalilauge in 150 ccm Wasser eingetragen. Dabei färbte sich die Lauge braun; der größte Teil des Esters blieb unverändert. Als aller Ketipinsäure-ester zugesetzt war, wurde unter Rückfluß 1 Stde. auf dem Wasserbade erhitzt, wobei nach etwa 15 Min., unter schwarzbrauner Färbung, die gesamte Estermenge in Lösung ging. Nach 24 Stdn. wurde die auf die angewendete Menge Kalilauge berechnete 2-n. Schwefelsäure langsam unter Schütteln und guter Kühlung zugegeben. Dabei trat schwache Gasentwicklung und gleichzeitig der Geruch von freier Essigsäure auf. Das gebildete Kaliumsulfat wurde nach 2 Stdn. abfiltriert und der bei der Reaktion entstandene Alkohol mit Wasserdampf abgeblasen. Der schwarzbraune, wäßrige Destillationsrückstand wurde auf dem Wasserbade etwas eingeengt und im Vakuum-Exsiccator zur Trockne eingedunstet. Es hinterblieben 57 g einer dunkelbraunen, zähen, mit Krystallen durchsetzten Masse.

Veresterung des bei der Umlagerung entstandenen Produktes.

Dieser Rückstand wurde mit der 5-fachen Menge absol. Alkohols aufgenommen, der 2 % Chlorwasserstoff enthielt. Dabei schied sich erneut Kaliumsulfat ab. Durch 4-stdg. Erhitzen auf dem Wasserbade wurde die Substanz verestert. Die vom Kaliumsulfat befreite alkohol. Esterlösung wurde, nachdem der überschüssige Alkohol und das bei der Reaktion entstandene Wasser aus einem Kochsalzbade abdestilliert waren, zum zweiten Male auf die gleiche Weise verestert. Der nach der zweiten Veresterung verbleibende Rückstand wurde in Äther aufgenommen. Die dunkelbraune, ätherische Lösung der Ester wurde mit gesättigter Kaliumbicarbonat-Lösung im Scheidetrichter gut durchgeschüttelt, um die unveresterten Säuren und die sauren Ester als deren Kaliumsalze auszufällen. Die Kaliumbicarbonat-Lösung wurde vom Äther getrennt und nochmals mit Äther ausgewaschen. Die vereinigten Äther-Auszüge wurden über entwässertem Kupfersulfat getrocknet. Nach dem Abdestillieren des Äthers hinterblieben 14.5 g einer öligen Flüssigkeit, die der Destillation im Vakuum unterworfen wurde.

Druck 11.5 mm.

1.	70°	Badtemperatur	—130°	0.09 g farblos
2.	70—78°	„	—175°	0.7 g hellgelb
3.	78—150°	„	—180°	1 Tropfen hellgelb
4.	150—171°	„	—197°	6.4 g gelb
5.	über 171° Zersetzung			

Im Kolben 4.9 g eines schwarzen, harzigen Rückstandes.

Umwandlung der Ester in die Hydrazide bzw. deren Benzylidenverbindungen.

Eine abgewogene Menge Ester wird in dem 3-fachen Volumen absol. Alkohols gelöst und die auf den vermuteten Ester berechnete Menge Hydrazinhydrat in kleinem Überschuß zugegeben. Nach 24 Stdn. wird der abgeschiedene Niederschlag abgesaugt, das Filtrat 2 Stdn. auf dem Wasser-

bade erhitzt, eine eventuelle Abscheidung abermals abgesaugt und das Filtrat zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wird in möglichst wenig Wasser aufgenommen, mit verd. Salzsäure angesäuert und so lange unter stetem Schütteln mit Benzaldehyd versetzt, bis dessen Geruch nicht mehr verschwindet. Die Benzylidenverbindung wird abgesaugt, mit Äther zur Entfernung von Benzaldazin ausgewaschen und umkrystallisiert.

Fraktion 2 (70—78°).

0.63 g Ester, 1.9 ccm absol. Alkohol, 0.5 ccm Hydrazinhydrat. Beim Zugeben der ersten Tropfen Hydrazinhydrats bildete sich sofort ein krystalliner Niederschlag; bei weiterem Zugeben trat Vermehrung des Niederschlags und schwache Erwärmung ein. Nachdem alles zugefügt war, erstarrte das Gemisch zu einer festen krystallinischen Masse. Nach 24 Stdn. wurde abgesaugt; 0.31 g entspr. 61% der auf Oxalsäure-dihydrazid berechneten Menge. Schmp. 199—200°. Nach 2-maligem Umkrystallisieren aus verd. Alkohol ($\frac{3}{5}$ Alkohol, $\frac{2}{5}$ Wasser) war der Schmp. 241—242° unter Braunfärbung und Gasentwicklung. $\frac{3}{4}$ Mischung mit Oxalsäure-dihydrazid gab keine Schmelzpunktsänderung.

0.1091 g Sbst.: 44.10 ccm N (14°, 749 mm). — 0.0969 g Sbst.: 39.35 ccm N (15°, 749 mm).

$C_8H_8O_2N_4$. Ber. N 47.45. Gef. N 47.38, 47.44.

Das Filtrat vom Hydrazid zeigte nach 2-stdg. Kochen und 12-stdg. Stehen keine Veränderung. Die Flüssigkeit wurde eingedampft und hinterließ 0.14 g einer schmierig-gelben Masse, die in 20 ccm Wasser aufgenommen wurde. Die Benzylidenverbindung war flockig, sie wurde mit Äther ausgewaschen und 2-mal umkrystallisiert. 0.19 g. Schmp. und Misch-Schmp. noch nicht bei 270°, also Benzyliden-oxalsäure-dihydrazid. Fraktion 2 bestand aus Oxalester.

Fraktion 4 (150—171°).

Die Mischung von 2.0 g Ester, 6 ccm absol. Alkohol und 1.5 ccm Hydrazinhydrat zeigte nach 4—5 Min. eine trübe Abscheidung, die sich als klare Schmiere zu Boden setzte. Nach 4-tägigem Stehen hatte sich der schmierige Bodensatz in eine feste, krystalline Masse verwandelt. 1.54 g entspr. 91% der auf Citronensäure-trihydrazid berechneten Menge. Schmp. 103°. Nach 3-maligem Umkrystallisieren blieb er konstant bei 107—108°. Mit Citronensäure-trihydrazid zeigte sich keine Schmelzpunktserniedrigung. Unter dem Mikroskop schöne, zu Büscheln vereinigte, kleine Nadeln.

0.0874 g Sbst.: 26.61 ccm N (13.5°, 753 mm). — 0.0841 g Sbst.: 25.60 ccm N (14.5°, 754 mm).

$C_8H_{14}O_4N_6$. Ber. N 35.89. Gef. N 35.94, 35.86.

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

1 g des Hydrazids wurde in 25 ccm Wasser gelöst. Benzylidenverbindung: gelbe Flocken. 1.27 g (60% d. Th.). Schmp. 160°, dann 187°. Sechsmaliges Umkrystallisieren bewirkte keine Veränderung. Vierwöchiges Stehenlassen im Vakuum-Exsiccator erhöhte den Schmp. auf 227° (Sinterung bei 215°). Bei weiterem Umkrystallisieren ergab sich keine Änderung. Der Misch-Schmp. mit Benzyliden-citronensäure-trihydrazid war der gleiche.

Fraktion 4 bestand aus Citronensäure-ester.