

mit stark verdünnter Ammoniak-Lösung ausgelaugt. Der Rückstand (1.5 g) schmolz bei 240° und war Diamid. Der aus dem angesäuerten Filtrat ausgefallene Niederschlag wurde in viel Alkohol gelöst und wieder mit trockenem Ammoniakgas ausgefällt: das dabei ausgefällte Salz enthielt nahezu reine *neo*-Truxinsäure (1.8 g), Schmp. 206°, Mischprobe. Das alkohol. Filtrat, stark eingengt und nochmals mit Ammoniak gesättigt, gab ein in feinen Nadeln ausfallendes Ammoniumsalz, das beim Ansäuern die gesuchte *neo*-Truxin-*b*-amidsäure lieferte (3.2 g). Das Filtrat hiervon, fast bis zur Trockne eingedampft, mit Wasser aufgenommen und angesäuert, ließ nun die *a*-Amidsäure (1.3 g) ausfallen, die nur durch Spuren von *b*-Amidsäure verunreinigt war.

Die in der Hauptmenge entstandene *b*-Amidsäure, aus heißem, wenig verdünntem Alkohol umkrystallisiert, zeigte den Schmp. 213° und gab mit der fast gleich schmelzenden *a*-Amidsäure eine Schmp.-Erniedrigung bis auf 195°. Sie liefert ein in 10-proz. Sodalösung mäßig schwer lösliches Natriumsalz, während das der *a*-Form leicht löslich ist. Mit salpetriger Säure und Eisessig verseift, gibt sie reine *neo*-Säure vom Schmp. 209° (Mischprobe), und mit Diazo-methan verestert den gleich zu erwähnenden *neo*-Truxin-*b*-amid-*a*-ester vom Schmp. 153–154°.

0.0713 g Sbst.: 2.9 ccm N (15°, 758 mm).

$C_{18}H_{17}O_3N$ (295.14). Ber. N 4.74. Gef. N 4.81.

Dieser *neo*-Truxin-*b*-amid-*a*-methylester kann aus der leicht zugänglichen *a*-Methylestersäure gewonnen werden, wenn man sie mit Thionylchlorid in Benzol-Lösung in das *a*-Ister-*b*-chlorid verwandelt und letzteres direkt mit Ammoniakgas umsetzt. Das Produkt, aus heißem verd. Aceton umkrystallisiert, bildet kleine, farblose Nadeln vom Schmp. 153–154°; leicht löslich in heißem Aceton, Alkohol, Eisessig, etwas schwerer in der Kälte.

In derselben Weise wird der *neo*-Truxin-*b*-amidsäure-*a*-äthylester vom Schmp. 142–143° aus der *a*-Äthylestersäure gewonnen. Behandelt man ihn mit salpetriger Säure und Eisessig, so entsteht die *a*-Äthylestersäure zurück.

Rostock, Oktober 1931.

456. Heinz Ohle und Francisco Garcia y Gonzalez: Modellversuche zur Theorie der alkoholischen Gärung, V. Mitteil.: Die Oxydation der 2-Keto-gluconsäure und der β -Diaceton-fructose.

[Aus d. Chem. Institut d. Universität Berlin.]

(Eingegangen am 3. Oktober 1931.)

In den vorhergehenden Mitteilungen dieser Reihe¹⁾ war gezeigt worden, daß alle diejenigen Aceton-Derivate der Fructose, welche in Nachbarstellung zur maskierten Carbonylgruppe einen Mineralsäure-Rest enthalten, bei der Oxydation mit Kaliumpermanganat in anfangs neutraler Lösung Abkömmlinge der Furfondisäure liefern. Wir konnten nunmehr feststellen, daß auch das Kaliumsalz der Diaceton-2-keto-gluconsäure (I) über ein analog gebautes Zwischenprodukt, das Tri-

¹⁾ I.: B. 62, 1651 [1929], III.: B. 63, 2912 [1930], IV.: B. 64, 1759 [1931].

kaliumsalz der Monoaceton-1-furtontrisäure (II) oxydiert wird. Die maximale Anreicherung dieses Reaktionsproduktes erfolgt jedoch erst bei Anwendung von 7 Atomen aktivem Sauerstoff pro Mol Diaceton-2-ketogluconsäure. Bezogen auf Diaceton-fructose, liegt also das Maximum der Oxydationskurve (vergl. Figur 1, Kurve b) bei 9 Atomen Sauerstoff, während bei den Mineralsäure-estern der β -Diaceton-fructose dieser Punkt schon bei 6 Sauerstoffatomen erreicht wird. Die direkt an das C-Atom der maskierten Carbonylgruppe gekettete Carboxylgruppe bzw. ihr Ion wirkt daher gleichfalls schützend auf die Halbacetal-Hydroxylgruppe von II.

Die bei der Hydrolyse von II mit verd. Mineralsäuren zunächst zu erwartende Furtontrisäure (III) ist ebensowenig existenzfähig wie die Mineralsäure-ester der Furtondisäure. Die Säure III zerfällt quantitativ in 2 Mol. Kohlensäure, 1 Mol. Glykolsäure und 1 Mol. Glykolaldehyd bzw. dessen Umwandlungsprodukte.

Grundsätzlich anders verhält sich die β -Diaceton-fructose selbst. Während sie in alkalischer Lösung von Kaliumpermanganat bei Anwendung von 2 Atomen Sauerstoff fast quantitativ zu Diaceton-2-ketogluconsäure oxydiert wird²⁾, verläuft die Hauptreaktion in anfangs neutraler Lösung nicht über I, was bereits die Oxydationskurve (vergl. Figur 1, Kurve a) deutlich erkennen läßt.

Für die präparative Bearbeitung der Reaktion wählten wir diejenigen Bedingungen, welche durch die beiden ausgezeichneten Punkte der Kurve nahe gelegt wurden, d. h. wir oxydierten 1. mit einer 6 Atomen Sauerstoff entsprechenden Menge Permanganat (entsprechend dem Maximum der Kurve) und 2. mit 9 Sauerstoffatomen, entsprechend dem Punkt, an dem sich die beiden Kurven a und b treffen. In keinem Falle konnte das Trikaliumsalz der

Monoaceton-furtontrisäure isoliert werden. An seiner Statt erhielten wir das Kaliumsalz einer 2-basischen Säure, dem auf Grund der Analysenzahlen die Formeln

IV, V oder VI zukommen können. Eine Auswahl zwischen diesen drei Möglichkeiten gestattet das Ergebnis der Hydrolyse mit verd. Mineralsäuren. Dabei wird erheblich mehr als 1 Mol. Kohlensäure in Freiheit gesetzt. Gleichzeitig entsteht Glycerinaldehyd, bzw. Methyl-glyoxal, neben anderen Produkten, die noch nicht identifiziert wurden. Die Entstehung von Methyl-glyoxal beweist, daß die Substanz als Monoaceton-2-keto-

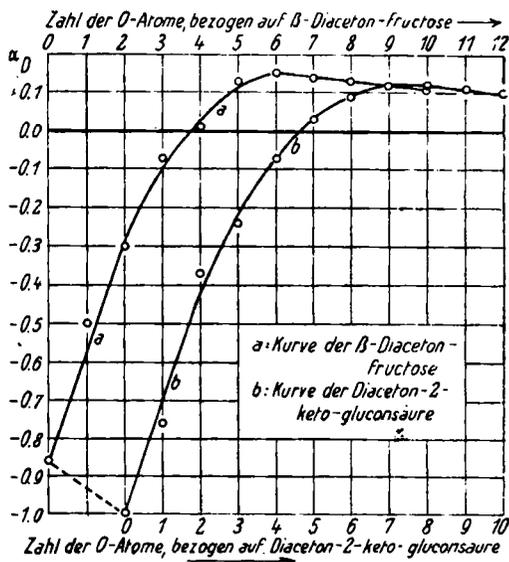


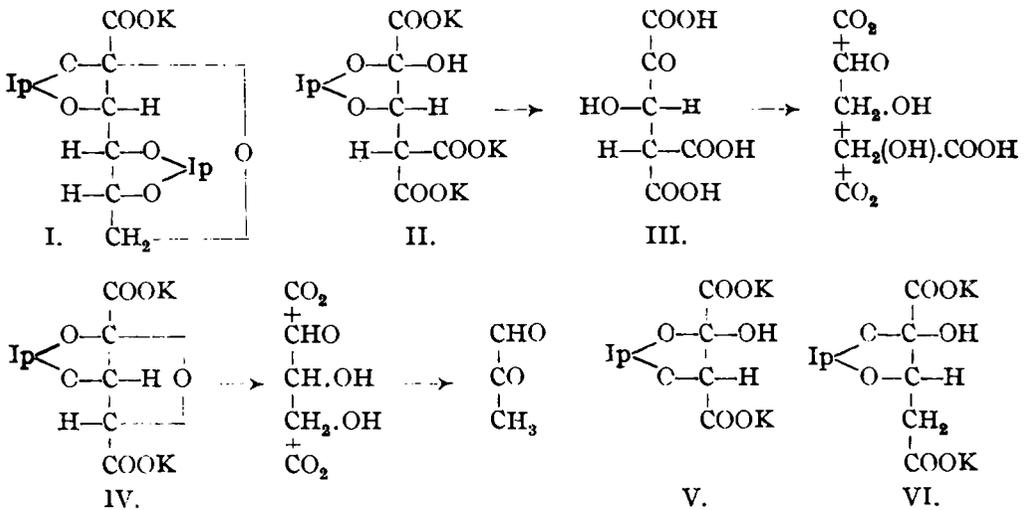
Fig. 1.

²⁾ vergl. H. Ohle, B. 58, 2577 [1925]; Ohle u. Wolter, B. 63, 843 [1930].

3,4-dioxy-glutarsäure (IV) zu betrachten ist. Im Hinblick auf die unangenehmen Eigenschaften unseres Salzes bleibt jedoch die Möglichkeit offen, daß außer IV auch V als Verunreinigung darin enthalten ist.

Aus diesen Beobachtungen folgt, daß die Oxydation der β -Diacetonfructose an einer anderen Stelle im Molekül einsetzt, als bei ihren Mineralsäureestern und der Diaceton-2-keto-gluconsäure. Die Ursache dafür ist in einer dirigierenden Wirkung der sauren Substituenten zu erblicken, von der speziell die CH-Bindung am C-Atom 5 der Fructose betroffen wird.

Auf Grund dieser Befunde läßt sich eine lücken- und widerspruchslöse Theorie der bisher noch rätselhaften ersten Phasen der Glykolyse entwickeln. Auf ihre Wiedergabe an dieser Stelle muß aus Raummangel leider verzichtet werden³⁾.



Beschreibung der Versuche.

Oxydation der Diaceton-2-keto-gluconsäure: Monoaceton-*l*-furfurtontrisäure.

Die Aufnahme der Oxydationskurve erfolgte in der früher beschriebenen Weise durch Oxydation von $\frac{1}{200}$ Mol. diaceton-2-keton-gluconsäurem Kalium = 1,561 g mit steigenden Mengen *n*-KMnO₄-Lösung bei 100°. Nach beendeter Oxydation wurde filtriert, der Manganschlamm mit heißem Wasser gut ausgewaschen, Filtrat und Waschwasser auf 50 ccm eingengt (Wasserbad) und im 1-dm-Rohr polarimetriert.

Bei der präparativen Ausführung der Reaktion arbeiteten wir in folgender Weise: 95 g Kaliumsalz wurden in 150 ccm heißem Wasser gelöst und mit einer aus 224,7 g Kaliumpermanganat bereiteten ca. 2-n. Lösung bei 100° oxydiert. Die Reaktion ist in ca. 2 Stdn. beendet. Die gesammelten Filtrate und Waschwasser wurden mit Unterbrechungen (zur Neutralisation mit

³⁾ vergl. dazu H. Ohle, Die Chemie der Monosaccharide und der Glykolyse, Ergebn. d. Physiol. **33**, 558 [1931]. Erscheint auch als Sonderausgabe im Verlag Bergmann, München.

Schwefelsäure) auf dem Wasserbade auf ca. 200 ccm eingedampft und zwischen- durch von ausgeschiedenem Kaliumsulfat filtriert. Die letzten 200 ccm wurden im Vakuum bei 40° zum dicken, teilweise krystallisierten Sirup eingedampft, den wir zur Abscheidung von Kaliumsulfat und Kaliumoxalat mit Methanol aufnahmen. Diese Lösung hinterließ beim Eindampfen eine schaumige Masse, die abermals in 200 ccm Methanol gelöst wurde. Die von einem geringen krystallisierten Rückstand filtrierte Lösung enthielt nur noch Ausgangsmaterial und das Oxydationsprodukt. Die Trennung gelingt auf Grund ihrer Löslichkeits-Verhältnisse in Äthylalkohol. Das Ausgangsmaterial ist in Gemischen von Methyl- und Äthylalkohol löslich, während das Trikaliumsalz beim Eintropfen der 200 ccm Methanol-Lösung in 1200 ccm Äthanol als mikro-krystallines, sehr hygroskopisches Pulver ausfällt. Der Niederschlag bleibt noch 2 Tage unter der Mutterlauge im Eisschrank stehen und wird unter Ausschluß von Luft-Feuchtigkeit abgesaugt. Das 2 Tage im Vakuum-Exsiccator getrocknete Produkt wog 43 g = 32% d. Th., war sulfat- und oxalat-frei und erwies sich als praktisch rein. Dies ergibt sich aus dem Wasser-Gehalt und der spezif. Drehung, die auch nach dem Umfällen unverändert blieb:

0.2782 g Sbst. verloren bei 100° im Vakuum über P_2O_5 0.0280 g H_2O = 10.06%.
 $[\alpha]_D^{20} = +10.39^\circ$ (Wasser; c = 2.502).

40 g dieses Produktes wurden in 100 ccm warmem Methanol gelöst und in 600 ccm absol. Äthanol eingetropft.

Das 3 Tage im Exsiccator getrocknete Salz zeigte $[\alpha]_D^{20} = +10.18^\circ$ (Wasser; c = 2.062; nach Trocknen bei 100° über P_2O_5 im Vakuum).

Die Analyse ergab, daß das Trikaliumsalz der Monoaceton-fur-tontrisäure mit 3.5 Mol. Krystallwasser vorlag, von denen 2.5 Mol. bei 100° im Vakuum über P_2O_5 abgegeben werden, während das restliche Wasser-Molekül noch bei 135° festgehalten wird.

0.2314 g Sbst.: 0.0252 g H_2O (100°, Vakuum, P_2O_5) = 10.89%; ber. für $C_6H_9O_6K_3$ + 3.5 H_2O (441.4) — 2.5 H_2O : 10.20%.

0.6026 g Sbst. (bei 100° getr.): 0.4008 g K_2SO_4 . — 0.3190 g Sbst. (bei 130° getr.): 0.2114 g K_2SO_4 .

Ber. für $C_6H_9O_6K_3 + H_2O$ (396.4): 29.60% K; gef. 29.84, 29.73% K.

Da das Kaliumsalz noch recht unangenehme Eigenschaften besitzt, wurde zur weiteren Identifizierung das basische Bleisalz dargestellt und analysiert, welches in Wasser sehr schwer löslich ist und den Vorzug hat, deutlich krystallisiert zu sein. Es bildet feine Nadelchen, welche sehr viel Krystallwasser enthalten.

0.2448 g Sbst. (luft-trocken) verlieren 0.0822 g H_2O = 23.84% bei 100° im Vakuum über P_2O_5 . Das bei 100° getrocknete Produkt hat die Zusammensetzung $C_6H_9O_6(PbOH)_3 + H_2O$ (951.7).

0.1171 g Sbst.: 0.0507 g CO_2 , 0.0178 g H_2O . — 0.2854 g Sbst.: 0.2726 g $PbSO_4$.
 Ber. C 11.35, H 1.48, Pb 65.30. Gef. C 11.81, H 1.70, Pb 65.25.

Spaltung des Trikaliumsalzes:

CO_2 -Bestimmung: 0.5247 g Sbst. (getrocknet bei 100°) wurden mit 50 ccm *n*-HCl unter Durchleiten eines langsamen Luft-Stromes gekocht und das entweichende CO_2 im Kaliapparat aufgefangen. Gef. 0.1210 g CO_2 = 23.06%; für Abgabe von 2 CO_2 ber. 22.20%.

Glykolsäure-Bestimmung: 1.3862 g Sbst. wurden mit 50 ccm *n*-H₂SO₄ 1 Stde. gekocht. Der Ansatz wird in der früher beschriebenen Weise aufgearbeitet. Ausbeute 1.0024 g basisches Bleiglykolat = 93% d. Th.

Nachweis des Glykolaldehyds: Um möglichst günstige Bedingungen für den Nachweis dieses Aldehyds zu schaffen, haben wir zunächst das Verhalten des Trikaliumsalzes gegen verd. Mineralsäuren genauer untersucht. In *n*-H₂SO₄ in ca. 4-proz. Lösung wird die Säure praktisch nicht angegriffen. Die Drehung war nach 3 Tagen unverändert. Erst 2-*n*. H₂SO₄ bewirkt bei einer Salz-Konzentration von ca. 8% einen langsamen Zerfall. Nach 48 Stdn. ist die Lösung optisch inaktiv geworden. Die Abspaltung von CO₂ wurde mit Kalkwasser nachgewiesen. Schließlich wurde die Spaltung mit *n*-HCl beim Siedepunkt der Lösung ausgeführt und der Verlauf der Spaltung durch ständiges Abdestillieren des Acetons und Prüfung des Destillates nach der Legalschen Probe verfolgt. Bedingungen: 3 g Kaliumsalz; 50 ccm *n*-HCl. Nach 3 Min. langer Destillation sehr starke Reaktion, nach 11 Min. starke Reaktion, nach 20 Min. Spuren, nach 35 Min. negativ. Die Abspaltung des Acetons ist also nach 10 Min. fast vollständig beendet. Die saure Lösung wurde mit Kaliumacetat versetzt, dann mit einer Lösung von Dinitrophenylhydrazin in 25-proz. Essigsäure: Schmieriger roter Niederschlag, aus dem nur Spuren eines krystallisierten Osazons zu gewinnen sind. Wird die Reaktion dagegen schon nach 10 Min. langem Kochen (gleichzeitiges Abdestillieren des Acetons), unterbrochen, so fällt das Dinitrophenyl-osazon des Glyoxals schon relativ rein aus und wird durch 1-maliges Umkrystallisieren aus Pyridin in schönen, bräunlichen Nadeln vom Schmp. 312° (unt. Zers.) erhalten:

3.004 mg Sbst.: 0.694 ccm N (22°, 759 mm).

C₁₄H₁₀O₈N₈ (418.2). Ber. N 26.80. Gef. N 26.59.

Die Ausbeute an Glyoxal-Dinitrophenyl-osazon ist allerdings auch unter diesen Bedingungen sehr schlecht. Der Glykolaldehyd wird offenbar unter dem Einfluß der Säure Selbstkondensation erleiden.

Oxydation der β -Diaceton-fructose.

Die Aufnahme der Oxydations-Kurve erfolgte mit Lösungen von $\frac{1}{400}$ Mol. Substanz in 20 ccm Wasser mit steigenden Mengen *n*-KMnO₄-Lösung bei 100° und Polarisation der auf 25 ccm eingeengten Filtrate im 1-dm-Rohr.

Wir beschränken uns auf die Beschreibung eines Ansatzes, den wir mit 9 Sauerstoffatomen ausgeführt haben. 100 g β -Diaceton-fructose wurden in 1 l Wasser gelöst und mit einer heißen Lösung von 364.7 g Kaliumpermanganat in 7 l Wasser bei 100° oxydiert. Die neutralisierten Filtrate und Waschwässer wurden auf dem Wasserbade vollständig eingedampft und der Rückstand mit 100 ccm Wasser zum homogenen Brei verrieben und abgesaugt. Das Filtrat war fast sulfat-frei, wurde nochmals mit Schwefelsäure neutralisiert und bei 40° im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde mit Methanol extrahiert und die Lösung abermals im Vakuum eingetrocknet, wobei eine schaumige Masse hinterblieb. Sie löste sich fast völlig in 80 ccm absol. Methanol, aber beim Eintropfen in 1 l absol. Alkohol fiel kein Niederschlag aus. Erst bei langem Stehen an der Luft, oder schneller auf Zusatz einiger Tropfen Wasser, trübt sich die Lösung, es scheidet sich

allmählich ein schmieriger, undeutlich krystallinischer Niederschlag ab, der auf Zusatz von mehr Wasser wieder in Lösung geht. Läßt man die Fällung über Nacht im Eisschrank stehen, so verschwindet allmählich die milchige Trübung, und der Bodenkörper wird fest, pulvrig und filtrierbar. Er ist aber außerordentlich hygroskopisch. Das 3 Tage im Vakuum-Exsiccator getrocknete Produkt wog 8 g. Die Drehung des bei 100° über P_2O_5 im Vakuum getrockneten Präparates war $[\alpha]_D^{20} = +32.80^\circ$ (Wasser; $c = 1.021$). Es war sulfat-frei, aber angesichts der schlechten Beschaffenheit des Materials wohl noch nicht rein. Die Kalium-Bestimmung fiel infolgedessen etwas zu hoch aus:

0.1534 g Subst. (bei 100° über P_2O_5 im Vakuum getrocknet): 0.0926 g $K_2SO_4 = 27.09\%$ K; ber. für das Dikaliumsalz IV = $C_8H_8O_7K_2$ (294.3) K 26.57%.

Es ist möglich, daß dieser erhöhte Kaliumgehalt durch die Beimischung eines weiteren Oxydationsproduktes, nämlich des Kaliumsalzes der Monoaceton- α -keto- α' -oxy-bernsteinsäure (V) hervorgerufen wird, dessen K-Gehalt 27.7% beträgt.

Auch die Analyse des Bleisalztes ist mit dieser Annahme vereinbar. Das basische Bleisalz ist hier nicht krystallisiert wie das der Monoaceton-furtontrisäure.

0.2499 g Subst. (bei 100° über P_2O_5 im Vakuum getrocknet): 0.2248 g $PbSO_4 = 63.76\%$ Pb; für das basische Bleisalz der Säure IV: $C_8H_8O_7(Pb_2O)$ (646.3) ber. 64.09% Pb. für das basische Bleisalz der Monoaceton- α -keto- α' -oxy-bernsteinsäure, $C_7H_8O_7(PbOH)_2$ (652.3), ber. Pb 63.50%.

Das basische Bleisalz, welches wir aus einem Oxydations-Ansatz mit 6 Atomen Sauerstoff isolieren konnten, hatte dieselbe Zusammensetzung: 0.3352 g Subst. (bei 100° über P_2O_5 im Vakuum getrocknet): 0.314 g $PbSO_4 = 63.88\%$ Pb.

Das Kaliumsalz entwickelt bei der Hydrolyse mit n -HCl eine zwischen 1 und 2 Mol. liegende Menge CO_2 :

0.2334 g Subst. (bei 100° getrocknet): 0.0514 g $CO_2 = 20.65\%$. Bei Annahme der Formel $C_8H_8O_7K_2$ ber. für $1CO_2$, 14.954%, für $2CO_2$ 29.90%.

Die Zersetzung des Salzes IV erfolgt also nicht in einheitlicher Reaktion, was auch bei Annahme der Formel IV verständlich ist, selbst wenn das Präparat einheitlich wäre.

Beweisend für die Formel IV ist aber das Auftreten von Methylglyoxal unter den Hydrolysen-Produkten. Es wurde einerseits direkt in der Hydrolysen-Flüssigkeit mit Semicarbazid, andererseits im Destillat mit m -Nitro-benzhydrazid einwandfrei nachgewiesen. Die Menge des entstandenen Methylglyoxals ist allerdings gering. Die Reaktions-Flüssigkeit reduziert nach der Aceton-Abspaltung stark Fehlingsche Lösung, aber das Destillat besitzt praktisch kein Reduktionsvermögen.

Bei der in üblicher Weise ausgeführte Glykolsäure-Bestimmung nach der Hydrolyse des K-Salzes mit n - H_2SO_4 bei 100° wurde ein amorphes basisches Bleisalz erhalten, welches nach Trocknen bei 120° einen erheblich zu hohen Bleigehalt, nämlich 72.22%, besaß, während für wasser-freies basisches Bleiglykolat nur 71.30% berechnet sind.

Es wird vielleicht möglich sein, bei fortgesetztem Studium der Oxydation der β -Diaceton-fructose zu besser definierten Substanzen zu gelangen, doch haben wir wegen der Langwierigkeit dieser Untersuchungen die Erreichung dieses Zieles vorläufig zurückgestellt.