

Perkin³⁾ als 1.3.4'-Trioxy-flavon anzusprechen ist. Die beiden letzteren Forscher haben auch einen Dimethyläther des Apigenins synthetisch hergestellt und geben für ihn den Schmp. 171--172° an. Mit diesem Dimethyläther konnte nun der von uns in den Birkenknospen aufgefundenene Farbstoff identisch sein, zumal auch das von uns hergestellte Acetylderivat in seinem Schmelzpunkte mit dem von Perkin angegebenen nahezu übereinstimmt. Wir fanden nach mehrmaligem Umkrystallisieren 199°, gegen 195--196° nach Perkin.

3.287 mg Sbst.: 8.120 mg CO₂, 1.585 mg H₂O.

C₁₉H₁₆O₆. Ber. C 67.03, H 4.74. Gef. C 67.37, H 5.39.

Durch Entmethylierung mit Jodwasserstoff konnten wir auch tatsächlich das Apigenin selbst erhalten; es bildet, wie in der Literatur beschrieben, kleine, gelbliche Blättchen vom Schmp. 347°. Über die Verteilung der Methylgruppen auf die im Apigenin vorhandenen drei OH-Gruppen gab uns die Spaltung mit alkohol. Kalilauge Aufschluß. Wir haben hierbei Anissäure feststellen können, so daß also eine der beiden OCH₃-Gruppen im Phenylrest enthalten ist. Unter Berücksichtigung der Untersuchungen von Perkin ist nach unseren Feststellungen der Farbstoff der Birkenknospen als 1-Oxy-3.4'-dimethoxy-flavon anzusprechen. Dieser Dimethyläther des Apigenins ist damit zum ersten Male in der Natur festgestellt worden, während das Apigenin selbst in zahlreichen Pflanzen und der 4-Methyläther in den Blättern von *Robinia pseudoacacia*⁴⁾ gefunden wurde.

224. Kurt Maurer und Bruno Schiedt:

Die Darstellung einer Säure C₆H₈O₆ aus Glucose, die in ihrer Reduktionskraft der Ascorbinsäure gleicht (Vorläuf. Mitteil.).

[Aus d. Chem. Laboratorium d. Universität Jena.]

(Eingegangen am 24. Juni 1933.)

Die auffälligsten Reaktionen der von Szent-Györgyi aufgefundenen Hexuronsäure¹⁾, deren Vitamin-Charakter wohl unbestritten ist, sind die Entfärbung saurer Jodlösung, die Reduktion des von Tillmans eingeführten Indicators Dichlorphenol-indophenol²⁾, die sofortige Reduktion Fehlingscher oder reiner Kupfersulfat-Lösung und die spontane Silber-Abscheidung aus Silbernitrat-Lösung. Hierzu kommt die intensive Gelbfärbung mit Tetranitro-methan³⁾, eine Reaktion, die C:C-Doppelbindung anzeigt, und die violette Färbung mit Eisen(III)-chlorid zum Nachweis enolischen Hydroxyls, die in neutraler Lösung auftritt.

In der Zucker-Chemie waren Substanzen dieses Reduktionsvermögens bisher unbekannt; die daraufhin untersuchten Ketosäuren der Hexosen, wie auch andere Oxydationsprodukte der Zucker, so die Osone oder die

³⁾ Perkin, Journ. chem. Soc., London, **71**, 805; C. **1897**, I 653, II 312.

⁴⁾ Vongerichten, B. **33**, 2904 [1900].

¹⁾ Szent-Györgyi, Nature **130**, 576 [1932]; Biochem. Journ. **22**, 1387 [1928].

²⁾ Tillmans, Biochem. Ztschr. **250**, 312 [1932].

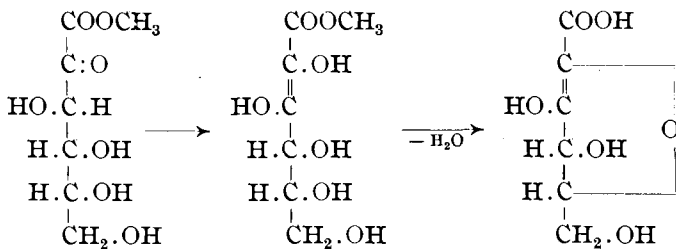
³⁾ Karrer, Helv. chim. Acta **16**, 183 [1933].

daraus hervorgehende Kojisäure, zeigten nicht annähernd die Reduktionskraft der Ascorbinsäure.

H. v. Euler⁴⁾ hat nun in mehreren Arbeiten dargelegt, daß aus den verschiedensten Kohlenhydraten Verbindungen mit hervorragendem Reduktionsvermögen entstehen können durch Behandlung mit wäßrigen Alkalien. Isoliert wurde bisher das „Redukton“, eine Verbindung der Zusammensetzung $C_3H_4O_3$, deren genaue Beschreibung noch aussteht, die in ihren physiologischen Eigenschaften aber nicht dem C-Vitamin gleicht.

Die Synthese eines Isomeren der Ascorbinsäure ist von Reichstein⁵⁾ angegeben worden, sie lieferte vermutlich in sehr geringer Menge das Spiegelbild-Isomere des Vitamins.

Da die Ascorbinsäure als Hexuronsäure aufgefaßt worden ist, haben wir als Ausgangsmaterial die 2-Keto-gluconsäure gewählt, die einerseits von Ohle aus Rohrzucker⁶⁾, andererseits aus Glucose über das Glucoson von Neuberg und Kitasato⁷⁾ dargestellt worden ist. Konfigurativ ist sie nicht in Beziehung zu setzen zu dem Vitamin, es sollte aber zunächst grundsätzlich versucht werden, ob aus einer Hexuronsäure ($C_6H_{10}O_7$) durch Enolisierung und H_2O -Abspaltung eine hochreduzierende Verbindung gleicher Zusammensetzung wie Ascorbinsäure ($C_6H_8O_6$) erhalten werden konnte. Dies ist tatsächlich der Fall. Durch Behandlung des Keto-gluconsäureesters mit Natriummethylat in Pyridin oder Methanol oder auch in einem Gemisch beider entsteht ein zunächst amorpher Niederschlag, aus dem sich eine ausgezeichnet krystallisierende Säure der Zusammensetzung $C_6H_8O_6$ in guter Ausbeute herausarbeiten läßt. Sie dürfte entstanden sein gemäß der Formulierung:



wobei die von Micheel⁸⁾ gegebene Formel für Ascorbinsäure zugrunde gelegt ist.

Diese synthetische Verbindung ist beständig und spricht auf alle oben angeführten Vitamin-Reaktionen mit der gleichen Schärfe an, wie das Vitamin selbst. Sie läßt sich mit Jod titrieren, wobei zwei Atome Jod in saurer Lösung verbraucht werden, sie entfärbt Dichlorphenol-indophenol sofort, reduziert Metallsalz-Lösungen augenblicklich bei Zimmer-Temperatur, färbt sich mit Tetranitro-methan gelb, mit Eisen(III)-chlorid in neutralisierter Lösung

⁴⁾ Euler, C. **1933**, I 3329; Ztschr. physiol. Chem. **217**, 167 [1933].

⁵⁾ Reichstein, Helv. chim. Acta **16**, 561 [1933]. ⁶⁾ Ohle, B. **63**, 843 [1930].

⁷⁾ Neuberg u. Kitasato, Biochem. Ztschr. **183**, 485 [1927].

⁸⁾ Ztschr. physiol. Chem. **215**, 215 [1933].

tief rotviolett. Mit Diazo-methan werden zwei Methylgruppen eingeführt, wie an dem Verbrauch des Reagenses zu sehen war. Die Dimethylverbindung wurde bisher noch nicht krystallisiert erhalten. Dagegen krystallisiert das Kaliumsalz der Säure ausgezeichnet und konnte zur Analyse mit herangezogen werden.

Nachdem unsere Untersuchung soweit durchgeführt war, wurde durch persönliche Aussprache mit H. Ohle-Berlin festgestellt, daß unsere Verbindung identisch ist mit einer von Ohle ebenfalls aus Keto-gluconsäure-ester auf einem etwas anderem Wege dargestellten Substanz (s. Referat von der Würzburger Tagung 7.—10. Juni 1933 des Vereins Deutscher Chemiker). Nach Vereinbarung mit H. Ohle nehmen wir von einer weiteren Untersuchung vorerst Abstand, bis die Ergebnisse H. Ohles publiziert sind, die für die Konstitutions-Erforschung des Vitamins C von größter Bedeutung sein werden. Nach Tier-Versuchen von H. v. Euler soll das synthetische Produkt anti-skorbutische Wirkung besitzen.

Beschreibung der Versuche.

5 g fein gepulverter Keto-gluconsäure-methylester⁹⁾ werden in 15—20 ccm Pyridin auf dem Wasserbade in Lösung gebracht, mit der 3-fachen Menge Methylalkohol vermischt und mit 15 ccm 2-n. Natrium-methylat-Lösung versetzt. Die Lösung trübt sich sofort, färbt sich gelb, und innerhalb weniger Minuten ist der Kolben-Inhalt durch Ausscheidung eines gelben Niederschlags dickflüssig geworden. Nach dem Erkalten wird abgesaugt, mehrere Male mit Alkohol gewaschen, das gelbe Pulver in Aceton verrieben, rasch abgesaugt und im Vakuum-Exsiccator getrocknet.

Die Substanz ist Na-haltig, zerläuft an der Luft und löst sich leicht mit gelber Farbe in Wasser. Diese wäßrige Lösung zeigt die bekannten Reaktionen des C-Vitamins. Fehling'sche Lösung wird sofort reduziert; mit FeCl₃-Lösung tritt eine Violettfärbung auf. Wird die gelbe wäßrige Lösung mit Essigsäure angesäuert, etwas Na-Acetat zugegeben und mit Dichlorphenol-indophenol versetzt, so tritt augenblicklich Entfärbung ein. Desgleichen wird Jod in essigsaurer Lösung sofort entfärbt und Silbernitrat reduziert.

Es wurde zunächst versucht, eine Aceton-Verbindung der reduzierenden Substanz zu gewinnen und dazu folgender Ansatz gemacht: 20 g des gelben Pulvers wurden in 300 ccm Aceton suspendiert, mit soviel Schwefelsäure versetzt, als dem Natriumgehalt entsprach und mit 20 g wasserfreiem Kupfersulfat 24 Stdn. geschüttelt. Dann wurde abfiltriert und die Aceton-Lösung im Vakuum auf ein kleines Volumen eingedampft. Beim Reiben und Abkühlen krystallisierten 5 g einer Substanz aus. Ihr Schmelzpunkt lag unscharf bei 150—160°. Sie ist löslich in Wasser, Alkohol und Pyridin, mäßig löslich in Aceton. Die wäßrige Lösung zeigt alle Reduktionswirkungen des Vitamins; die alkohol. Lösung gibt mit Tetranitro-methan eine Gelbfärbung.

0.0743 mg Sbst. zu 5 ccm in H₂O gelöst: $\alpha_D = -0.49^{\circ}$ [$\alpha_D = (-0.49^{\circ} \times 100) : (0.0743 \times 2 \times 20) = -16.8^{\circ}$].

3.465 mg Sbst.: 5.278 mg CO₂, 1.702 mg H₂O. — 3.330 mg Sbst.: 4.929 mg CO₂, 1.500 mg H₂O.

Gef. C 41.55, 40.37, H 5.5, 5.04.

Ber. für die Monoaceton-Verbindung C₉H₁₂O₆ (216). C 49.98, H 5.6.

⁹⁾ H. Ohle, B. **63**, 843 [1930].

Demnach kann kein Monoaceton-Derivat vorliegen. Diese Verbindung wurde mit Diazo-methan methyliert: 1 g wurde in 10 ccm Alkohol gelöst und dazu langsam eine ätherische Diazo-methan-Lösung gegeben, die etwa 0.6—0.7 g Diazo-methan enthielt. Unter heftiger Stickstoff-Entwicklung wurde nahezu alles Diazo-methan aufgebraucht, was einer Aufnahme von 2 Methylgruppen entspricht. Die gelbe Lösung wurde über Nacht aufbewahrt und dann im Vakuum eingedampft. Der zurückbleibende Sirup konnte noch nicht zur Krystallisation gebracht werden. Eine qualitative Prüfung ergab, daß die typischen Reduktionswirkungen des Ausgangsmaterials nicht mehr vorhanden waren. Fehlingsche Lösung wurde nach längerem Kochen ganz schwach reduziert. Der hellgelbe Sirup war in allen Lösungsmitteln, mit Ausnahme von Petroläther, gut löslich.

Zum Umkrystallisieren des vermeintlichen Aceton-Produktes war folgendes Verfahren zweckmäßig: Die Substanz wurde in der 10-fachen Menge Wasser gelöst und im Vakuum weitgehend konzentriert; nach kurzer Zeit krystallisierte die Verbindung in schönen, derben Krystallen. Schmp. 168°.

3.226 mg Subst.: 4.855 mg CO₂, 1.466 mg H₂O. — 3.052 mg Subst.: 4.558 mg CO₂, 1.311 mg H₂O.

C₈H₈O₆ (176). Ber. C 40.91, H 4.58.

Gef. „ 41.04, 40.75, „ 5.08, 4.80.

0.1226 g Subst., zu 5 ccm in H₂O gelöst: $[\alpha]_D = (-0.80^\circ \times 100) : (0.1226 \times 2 \times 20) = -16.3^\circ$.

Ein Kaliumsalz ist auf folgende Weise zu erhalten: 1 g der Säure wird in Alkohol gelöst und mit der äquivalenten Menge alkohol. Kalilauge versetzt. Es fällt sofort ein Niederschlag aus, der nach Zugabe einiger Tropfen Wasser zum großen Teil beim Erhitzen in Lösung geht. Aus der von schmierigen Anteilen abgegossenen Lösung krystallisiert beim Abkühlen das Kaliumsalz der Säure in glänzenden, derben Nadeln. Schmp. 181° unt. Zers.

9.319, 5.527 mg Subst. 3.693, 2.246 mg K₂SO₄.

C₈H₇O₆K (214). Ber. K 18.22. Gef. K 17.78, 18.24.

0.0928 g Subst., zu 5 ccm in H₂O gelöst: $[\alpha]_D = (+3.40^\circ \times 100) : (0.0928 \times 2 \times 20) = +91.8^\circ$.

Das Kaliumsalz gibt ebenso wie die freie Säure alle oben angegebenen Reaktionen.

Die Arbeit wurde gefördert durch die Gewährung eines I.-G.-Stipendiums an B. Schiedt, wofür wir unseren ergebensten Dank aussprechen.