

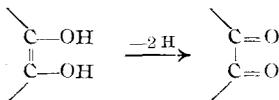
### 339. Rudolf Weidenhagen und Hans Wegner: Über die Einwirkung von Diazoniumsalzen auf Ascorbinsäure; eine allgemeine Reaktion von Dienolen.

Mitbearbeitet von K. H. Lung und L. Nordström.

[Aus d. Biochem. Abteil. d. Instituts für Zucker-Industrie, Landwirtschaftl. Fak. d. Universität Berlin.]

(Vorgetragen in der Sitzung der Deutschen Chemischen Gesellschaft vom 13. März 1939, eingegangen am 23. Oktober 1939.)

Die Ascorbinsäure ist chemisch durch ein außergewöhnlich starkes Reduktionsvermögen gekennzeichnet; diese Eigenschaft beruht auf der vorhandenen Dienol-Gruppe, welche die Tendenz hat, unter Abgabe von 2 Wasserstoff-Atomen in die der Dehydroascorbinsäure zukommende Diketo-Form überzugehen:



Die Bestimmungsmethoden des Vitamins C, z. B. die Titration mit Dichlorphenol-indophenol oder Jodlösung, beruhen auf dieser Überführung in die Dehydro-Form. Auch präparativ hat man von der Reduktionswirkung der Ascorbinsäure Gebrauch gemacht. So konnten Kuhn und Weygand<sup>1)</sup> Dinitro-benzole partiell zu Nitro-phenylhydroxylaminen reduzieren. Weiterhin ist in diesem Zusammenhang an das reduktive Verhalten der Ascorbinsäure gegenüber Nitraten und Nitriten<sup>2)</sup> sowie an ihre Brauchbarkeit als photographischer Entwickler<sup>3)</sup> zu erinnern.

Bei den geschilderten Reaktionen ist die Reduktions-Wirkung mit dem Übergang von Ascorbinsäure in Dehydro-ascorbinsäure, bzw. der Dienol-Gruppe in die Diketo-Gruppe beendet.

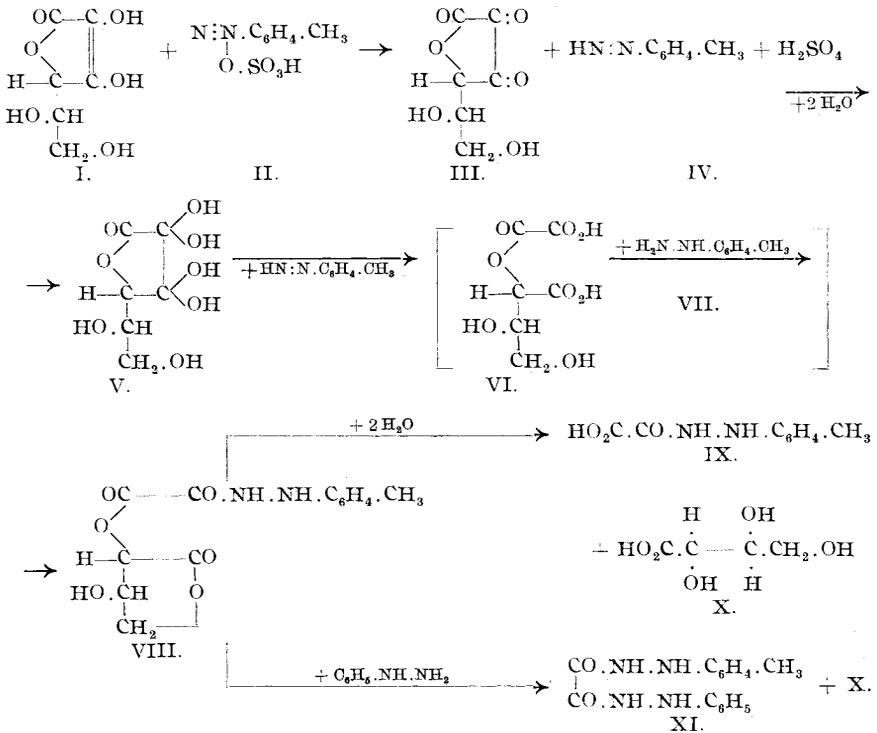
Wir haben uns aus bestimmten Gründen mit der Einwirkung von Diazoniumsalzen auf Ascorbinsäure befaßt und sind dabei auf einen andersartigen Reaktionsverlauf gestoßen. Beim Zusammengeben einer etwa 10-proz. wäßrigen Lösung von beispielsweise Toluol-diazoniumsulfat mit einer ebenfalls wäßrigen Ascorbinsäure-Lösung von ungefähr gleicher Konzentration im molaren Verhältnis 1:1, tritt nach wenigen Minuten eine krystalline Abscheidung auf, die schließlich die ganze Reaktionslösung erfüllt (Vers. 1). Das abgeschiedene Produkt ist der *p*-Tolyl-hydrazido-oxalsäureester des *l*-Threonsäurelactons (VIII). Seine Entstehung ist folgendermaßen zu erklären:

Zunächst entsteht, genau wie bei den eingangs besprochenen Reduktionen, aus der Ascorbinsäure (I) die Dehydroascorbinsäure (III); das Diazoniumsalz (II) wird dabei zum *p*-Tolyl-diimin (IV) reduziert. Die freien Carbonyl der Dehydroascorbinsäure hydratisieren sich nunmehr, und das Aryl-diimin ist reaktionsfähig genug, diesem Hydrat (V) weiter Wasserstoff zu entziehen. Diese Stufe der Dehydrierung führt unter Sprengung der Bindung zwischen dem 2. und 3. Kohlenstoff-Atom, bei Erhaltung der aus dem Vitamin C

<sup>1)</sup> B. 69, 1969 [1936].

<sup>2)</sup> Karrer u. Bendas, Helv. chim. Acta 17, 743 [1934]; Lemoigne, Monguillon u. Desveaux, C. 1937 II, 3018.

<sup>3)</sup> Rzymkowski, C. 1936 I, 4105.



stammenden Lacton-Sauerstoff-Brücke, zum Oxalester der *l*-Threonsäure (VI), während das Aryl-diimin zu dem entsprechenden Hydrazin (VII) reduziert wird. Die in statu nascendi zusammentreffenden Substanzen reagieren nun so miteinander, daß die freie Carboxyl-Gruppe der Oxalsäure mit dem in unserem Falle entstandenen *p*-Tolyl-hydrazin das Hydrazid bildet, wobei die *l*-Threonsäure gleichzeitig in das Lacton übergeht (VIII). Besonders auf den letzten Umstand ist wohl die gute Krystallisationsfähigkeit des Reaktionsproduktes zurückzuführen. Die Ausbeute ist nahezu quantitativ. Die neue Verbindung läßt sich unverändert aus Essigester-Petroläther, Eisessig sowie absol. Alkohol umkrystallisieren. Schon beim kurzen Aufkochen mit Wasser erleidet sie hingegen eine Hydrolyse zu *l*-Threonsäure (X) und Oxalsäure-*p*-tolyl-hydrazid (IX), das beim Abkühlen der Lösung auskrystallisiert (Vers. 2). Beim längeren Kochen mit Wasser scheidet sich an dieser Stelle das durch weitere Hydrolyse gebildete oxalsäure Salz des *p*-Tolyl-hydrazins aus. In beiden Fällen bleibt in Lösung die *l*-Threonsäure, die als krystallisiertes Dibenzoyl-lacton (Vers. 2c) bzw. als Phenylhydrazid (Vers. 2b) charakterisiert werden konnte.

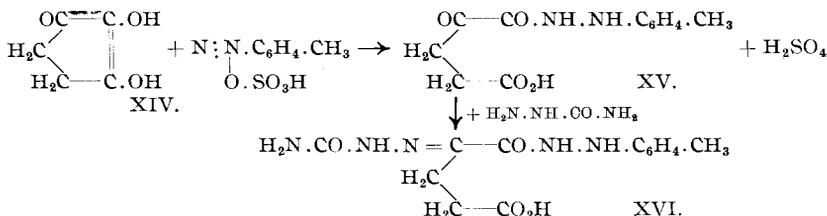
Die Spaltung des *p*-Tolylhydrazido-oxalyl-*l*-threonsäure-lactons läßt sich auch in alkoholischer Lösung durch Phenylhydrazin bewirken, wobei sich neben *l*-Threonsäure das Phenyl-tolyl-bis-hydrazid der Oxalsäure (XI) bildet (Vers. 3).

Die entsprechenden Reaktionsprodukte sind bereits von H. Erlbach<sup>4)</sup> bei der Einwirkung von Benzol-Diazoniumchlorid auf Iso-ascorbinsäure

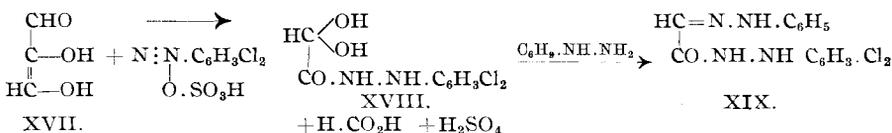
<sup>4)</sup> B. 68, 534 [1935].



Semicarbazon (XVI) (Vers. 10a), ebenso ist die gebildete freie Carboxylgruppe durch Titration nachweisbar (Vers. 10). Die freie Carboxylgruppe wurde als der Hydrazidgruppe benachbart formuliert, in der Annahme, daß der Hydrazido-Rest an die aktivere Carboxylgruppe gegangen ist.



Die bisher besprochenen Dienole hatten sämtlich Ringstruktur. Jedoch auch die Anordnung der Dienolgruppe in einer Kette, wie sie sich beim Redukton (XVII) von v. Euler und Martius<sup>9)</sup> (Enol-Tartronaldehyd) findet, ermöglicht den gleichen Reaktionsverlauf. Im vorliegenden Fall tritt unter Sprengung der Kette Bildung von Glyoxylsäure-2,5-dichlorphenylhydrazid (XVIII) und freier Ameisensäure auf (Vers. 11).



Die durch Chlor substituierte Diazo-Komponente wurde gewählt, um genügend schwer lösliche und gut kristallisierte Reaktionsprodukte zu erhalten. Die freie hydratisierte Aldehydgruppe des Glyoxylsäure-2,5-dichlorphenylhydrazids wurde durch Überführung in das Phenylhydrazon (XIX) nachgewiesen (Vers. 11a), während die gebildete Ameisensäure abdestilliert und durch Titration bestimmt wurde (Vers. 11).

Als weiteres Dienol mit offener Kette untersuchten wir auch die Dioxymaleinsäure, auf deren wichtige Rolle als Oxydo-Reduktions-System bei der Zellatmung Szent-Györgyi<sup>10)</sup> hingewiesen hat. Bei der Einwirkung von 2,5-Dichlor-diazoniumsulfat auf Dioxymaleinsäure in 50-proz. Alkohol entsteht unter Dehydrierung und Abspaltung von 1 Mol. Kohlensäure ein Körper der C<sub>3</sub>-Reihe, der dann weiterhin mit dem gebildeten Aryl-Hydrazin reagiert. Da jedoch wegen der Zersetzlichkeit der intermediär gebildeten Diketoweinsäure die Umsetzung nicht ganz einheitlich verläuft, und die weiteren Untersuchungen aus äußeren Gründen abgebrochen werden mußten, möchten wir die genaue Aufklärung des Reaktionsverlaufs einer späteren Zeit vorbehalten.

Aus den gleichen Gründen mußte auch die Bearbeitung des Brenzcatechins vorläufig zurückgestellt werden, obwohl es bei diesem Körper von besonderem Interesse wäre festzustellen, ob hier nur Dehydrierung bis zum *o*-Chinon oder darüber hinaus Sprengung des Benzolringes und Bildung von Muconsäure eintritt. Es sei in diesem Zusammenhang auf

<sup>9)</sup> A. 505, 83 [1933].

<sup>10)</sup> B. 72 (A), 53 [1939].

die Rolle hingewiesen, die auch das Brenzcatechin im biologischen Geschehen nach Szent-Györgyi<sup>10)</sup> spielt.

Schließlich wären noch die Krokonsäure und das durch Acyloinkondensation aus Phenylglyoxal gebildete Produkt zu nennen, die nach Karrer<sup>11)</sup> beide Dienol-Struktur besitzen, jedoch wegen ihrer relativen Schwerzugänglichkeit ebenfalls bisher noch nicht auf ihre Reaktionsfähigkeit hin untersucht werden konnten.

Ganz anders als bei der besprochenen Reaktion liegen die Verhältnisse bei der Einwirkung von Diazonium-Salzen auf 2-Desoxyascorbinsäure. Hier tritt, entsprechend dem Mono-enol-Charakter der Verbindung, nur Kupplung ein<sup>12)</sup>. Allerdings wurde auch die Ascorbinsäure selbst mit diazotierter Sulfanilsäure in alkalischer Lösung von Barac<sup>13)</sup> zwecks Kupplung zusammengebracht, jedoch konnte naturgemäß die Bildung einer Azoverbindung nicht beobachtet werden. Die von Barac spektroskopisch gemessene Farbe ist u. E. lediglich auf Verunreinigungen zurückzuführen. Der im übrigen von diesem Forscher diskutierte Reaktionsverlauf unter Oxydation der primären Alkohol-Gruppe der Ascorbinsäure dürfte kaum den Tatsachen entsprechen. Scudi und Ratish<sup>14)</sup>, welche diazotiertes Sulfanilsäureamid auf sehr geringe Mengen Ascorbinsäure (0.25–4 mg) einwirken ließen, um aus dem nicht verbrauchten Diazoniumsalz auf die vorhandene Ascorbinsäuremenge zu schließen, konnten zwar eine Reduktion des Diazonium-Salzes beobachten, aber eine Erklärung für den Reaktionsverlauf nicht bebringen, da bei den sehr kleinen Konzentrationen naturgemäß keine Reaktionsprodukte zu isolieren waren. Der von uns aufgefundenen Reaktionsverlauf läßt die von Scudi und Ratish beobachteten Unstimmigkeiten bei ihrer Methode überhaupt erst verstehen.

Die Reaktion, die als eine reine Dehydrierung im Sinne Wielands anzusehen ist, legt die Vermutung nahe, daß die über die Stufe der Dehydroascorbinsäure hinausgehenden Oxydationen (alkalische Jodlösung, Kupferkatalysator<sup>15)</sup>) des Vitamin C ebenfalls als Dehydrierungen des Dehydroascorbinsäure-Dihydrates aufzufassen sind. Bereits Ghosh und Rakshit<sup>16)</sup> haben auf die Existenz einer solchen Dihydrat-Verbindung auf Grund physikalisch-chemischer Messungen hingewiesen.

Auch biochemisch wird der Abbau des Vitamins C in den Fällen, wo er nachweislich über die Stufe der Dehydroascorbinsäure hinausgeht, sicher in der gleichen Weise erfolgen. Es ist in diesem Zusammenhang interessant, daß Tauber<sup>17)</sup> für die Oxydation des Vitamins C durch Ascorbinsäure-Oxydase schon primär die Bildung des Dehydroascorbinsäure-Dihydrates unter Anlagerung von Hydroxyl-Gruppen annimmt.

Wir sind mit dem weiteren Ausbau des Gebietes in chemischer und biochemischer Richtung beschäftigt.

Wir danken für die Unterstützung dieser Arbeit durch Gewährung eines I.-G.-Not-Stipendiums an den einen von uns (H. Wegner).

<sup>11)</sup> Karrer u. Hershberg, *Helv. chim. Acta* **17**, 1015 [1934].

<sup>12)</sup> Micheel u. Mittag, *Ztschr. physiol. Chem.* **247**, 34 [1937].

<sup>13)</sup> *Compt. Rend. Séances Soc. Biol. Filiales Associées* **126**, 61 [1937] (C. **1938** II, 3946).

<sup>14)</sup> *Ind. engin. Chem., Analyt. Edit.* **10**, 420 [1938].

<sup>15)</sup> Carteni u. Morelli, *Arch. Scienze biol.* **23**, 335 [1937] (C. **1938** I, 2577).

<sup>16)</sup> *Biochem. Ztschr.* **299**, 394 [1938]; Ghosh, *Journ. Indian. chem. Soc.* **15**, 1 [1938] (C. **1938** II, 3695).

<sup>17)</sup> H. Tauber, *Enzyme Chemistry* (New York u. London 1937), S. 189; vergl. a. *Erg. d. Enzymforschung*, Bd. VII (Leipzig 1938), S. 304.

### Beschreibung der Versuche.

#### 1) *p*-Tolyl-hydrazido-oxalyl-*l*-threonsäure-lacton.

Die Lösungen von 7 g Ascorbinsäure<sup>18)</sup> in 70 ccm Wasser und von 10 g *p*-Toluol-diazoniumsulfat<sup>19)</sup> in 100 ccm Wasser werden bei Raumtemperatur zusammengegeben. Nach kurzer Zeit beginnt die Abscheidung des gut kristallisierten *p*-Tolyl-hydrazido-oxalyl-*l*-threonsäure-lactons, welche schließlich die Reaktionslösung breiartig erstarren läßt. Nach Kühlen in Eis saugt man ab und wäscht mit Eiswasser. Ausb. 9 g = 77% d. Theorie. (Die Gesamtausbeute wird noch höher, wenn man den in Lösung verbleibenden Anteil mit Essigester ausschüttelt.)

Zur Reinigung wird aus Essigester-Petroläther umgefällt oder aus absol. Alkohol umkristallisiert. Feine, fast farblose Prismen vom Schmp. 175—176° (unter Aufschäumen)<sup>20)</sup>.

4.502 mg Sbst.: 8.800 mg CO<sub>2</sub>, 1.980 mg H<sub>2</sub>O. — 2.811 mg Sbst.: 0.231 ccm N (18.5°, 753 mm).

C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>N<sub>2</sub> (294.13). Ber. C 53.04, H 4.79, N 9.53. Gef. C 53.31, H 4.92, N 9.53.

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +59.1° ( $\alpha$ : +0.63,  $c$  = 0.533, Alkohol, 2 dm).

#### 2) Hydrolytische Spaltung des *p*-Tolyl-hydrazido-oxalyl-*l*-threonsäure-lactons in Oxalsäure-*p*-tolyl-hydrazid und *l*-Threonsäure.

##### a) Oxalsäure-*p*-tolyl-hydrazid.

5 g *p*-Tolylhydrazido-oxalyl-*l*-threonsäure-lacton wurden mit 65 ccm Wasser<sup>21)</sup> erhitzt und nach eingetretener Lösung noch etwa eine Min. weiter im gelinden Sieden erhalten. Aus der mit etwas Tierkohle geklärten Lösung kristallisierten beim Abkühlen 2.5 g Oxalsäure-*p*-tolyl-hydrazid in feinen, zu Drusen vereinigten Prismen. Zur Analyse wurde nochmals aus Wasser unter Zusatz von Tierkohle umkristallisiert. Schmp. 153° (unter Aufschäumen)<sup>20)</sup>.

4.690 mg Sbst.: 9.545 mg CO<sub>2</sub>, 2.150 mg H<sub>2</sub>O. — 2.102 mg Sbst.: 0.266 ccm N (20°, 752 mm).

C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub> (194.09). Ber. C 55.64, H 5.19, N 14.44. Gef. C 55.51, H 5.13, N 14.59.

Beim 1-stdg. Kochen der wäßr. Reaktionslösung bildet sich unter Aufnahme von 1 Mol. Wasser das oxalsäure Salz des *p*-Tolyl-hydrazins<sup>22)</sup>.

Das wäßrige Filtrat des abgeschiedenen Oxalsäure-*p*-tolyl-hydrazids wurde zunächst erschöpfend mit Essigester ausgeschüttelt, um noch gelöste Anteile von Oxalsäure-*p*-tolyl-hydrazid zu entfernen. Dann destillierte man das Wasser im Vak. ab und extrahierte den Rückstand — unbeschadet eines geringen Verlustes an *l*-Threonsäure — nochmals gründlich mit Essigester. Die hinterbliebene *l*-Threonsäure (im Gemisch mit Lacton) bildete einen bräunlichen Syrup und wurde ohne weitere Reinigung zur Darstellung der folgenden Derivate der *l*-Threonsäure verwendet.

<sup>18)</sup> Vitamin C des Haudels.

<sup>19)</sup> E. Knoevenagel, B. **28**, 2050 [1895].

<sup>20)</sup> Wegen der Zersetzlichkeit der Verbindung in der Hitze wird der Schmelzpunkt nur dann richtig gefunden, wenn man die Substanz erst etwa 10° unterhalb desselben in den Apparat bringt.

<sup>21)</sup> H. Erlbach, l. c. nahm die Spaltung seines Phenylhydrazido-oxalyl-*d*-erythronsäure-lactons mit 1.67-*n*. NaOH vor; wir fanden, daß bereits Wasser in gleicher Weise wirkt.

<sup>22)</sup> vergl. dazu C. Bülow, B. **35**, 3684 [1902].

b) *l*-Threonsäure-phenylhydrazid.

Die Darstellung erfolgte nach der Vorschrift von Micheel und Kraft<sup>23)</sup>. Das erhaltene Produkt krystallisierte aus Essigester in farblosen Blättchen und zeigte den angegebenen Schmelzpunkt von 158<sup>o</sup>.

2.448 mg Sbst.: 0.267 ccm N (22<sup>o</sup>, 758 mm).

$C_{10}H_{14}O_4N_2$  (226.13). Ber. N 12.39. Gef. N 12.59.

$[\alpha]_D^{20}$ : +57.2<sup>o</sup> ( $\alpha$ : +0.61<sup>o</sup>,  $c$  = 0.533, Alkohol, 2 dm).<sup>24)</sup>.

c) Dibenzoyl-*l*-threonsäure-lacton.

0.6 g *l*-Threonsäure-lacton, gelöst in 10 ccm Pyridin, wurden unter Eiskühlung tropfenweise mit 1 g Benzoylchlorid versetzt und mehrere Stunden bei Raumtemperatur stehen gelassen. Nach Eingießen in Eiswasser wurde das ölige Reaktionsprodukt im Schütteltrichter mit Wasser gewaschen und in Essigester aufgenommen. Beim Abdampfen des mit Natriumsulfat getrockneten Lösungsmittels im Vak. hinterblieb ein brauner Sirup (1 g). Durch längeres Extrahieren mit viel (500 ccm) siedendem Petroläther wurde ein Teil der Dibenzoyl-Verbindung vom Lösungsmittel aufgenommen, wobei der Rückstand fest und pulverisierbar wurde, so daß er weiterhin im Schmalfuß-Extractor<sup>25)</sup> mit Petroläther extrahiert werden konnte. Aus den vereinigten Petroläther-Auszügen krystallisierten 0.5 g Dibenzoyl-*l*-threonsäure-lacton in sehr feinen, farblosen, zu Büscheln vereinigten Nadeln vom Schmp. 114<sup>o</sup>.

4.898 mg Sbst.: 11.895 mg CO<sub>2</sub>, 1.880 mg H<sub>2</sub>O.

$C_{18}H_{14}O_6$  (326.11). Ber. C 66.24, H 4.33. Gef. C 66.22, H 4.29.

$[\alpha]_D^{20}$ : +174.4<sup>o</sup> ( $\alpha$ : +1.86<sup>o</sup>,  $c$  = 0.533, Alkohol, 2 dm).

3) Aufspaltung des *p*-Tolyl-hydrazido-oxalyl-*l*-threonsäure-lactons mit Phenylhydrazin<sup>26)</sup>.

0.2 g *p*-Tolylhydrazido-oxalyl-*l*-threonsäure-lacton wurden in 20 ccm absol. Alkohol unter Erwärmen gelöst und mit der Lösung von 15 Tropfen Phenylhydrazin in 10 ccm absol. Alkohol versetzt. Nach einigem Stehen schieden sich feine, fast farblose Nadelchen des gemischten Tolyl-phenyl-bis-hydrazids der Oxalsäure aus, die nach nochmaligem Umkrystallisieren aus Alkohol den Schmp. 252—253<sup>o</sup> (unter Aufschäumen)<sup>20)</sup> zeigten. Die Threonsäure bleibt wieder in Lösung.

5.125 mg Sbst.: 11.865 mg CO<sub>2</sub>, 2.590 mg H<sub>2</sub>O. — 2.658 mg Sbst.: 0.449 ccm N (23<sup>o</sup>, 766 mm).

$C_{15}H_{16}O_2N_4$  (284.13). Ber. C 63.35, H 5.67, N 19.72. Gef. C 63.14, H 5.65, N 19.64.

4) Phenylhydrazido-oxalyl-*l*-threonsäure-lacton.

8 g frisch destilliertes Anilin wurden in salzsaurer Lösung diazotiert und hierzu 5.1 g Ascorbinsäure, gelöst in 50 ccm Wasser, gegeben. Das gelb gefärbte Reaktionsgemisch blieb 1/2 Stde. stehen und wurde dann 4-mal mit je 50 ccm Essigester ausgeschüttelt. Die Abscheidung des Phenyl-hydr-

<sup>23)</sup> Ztschr. physiol. Chem. **216**, 237 [1933].

<sup>24)</sup> Micheel u. Kraft, ebenda, geben die spezif. Drehung mit +30<sup>o</sup> an, jedoch auf Grund einer Mikro-Bestimmung, (2.616 mg Sbst. in 0.250 ccm Wasser), woraus sich die Abweichung wohl erklären läßt.

<sup>25)</sup> Chem. Fabrik **9**, 161 [1936].

<sup>26)</sup> Vergl. dazu H. Erlbach l. c.

azido-oxalyl-*l*-threonsäure-lactons erfolgte durch Zugabe von Petroläther. Die Reinigung geschah durch nochmaliges Umfällen auf die gleiche Weise. Ausb. 7.7 g = 91.7% d. Theorie. Feine, schwach gelblich gefärbte Nadeln vom Schmp. 155—157° (unter Aufschäumen).

2.552 mg Sbst.: 4.835 mg CO<sub>2</sub>, 1.000 mg H<sub>2</sub>O. — 2.859 mg Sbst.: 0.252 ccm N (21.5°, 751 mm).

C<sub>12</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>N<sub>2</sub> (280.11). Ber. C 51.41, H 4.32, N 10.00. Gef. C 51.67, H 4.38, N 10.09.  $[\alpha]_D^{20}$ : +63.8° ( $\alpha$ : 0.68°, c = 0.533, Alkohol, 2 dm).

### 5) 2,5-Dichlor-phenyl-hydrazido-oxalyl-*l*-threonsäure-lacton.

Zu der aus 4.6 g 2,5-Dichlor-anilin bereiteten Lösung von 2,5-Dichlor-benzol-diazoniumsulfat<sup>27)</sup> wurden 5.1 g Ascorbinsäure, gelöst in 50 ccm Wasser, gegeben. Die Abscheidung des gelben, krystallinen 2,5-Dichlor-phenyl-hydrazido-oxalyl-*l*-threonsäure-lactons begann sofort und war nach 10 Min. beendet. Ausb. 9 g = 86% d. Theorie. Aus Essigester-Petroläther umgefällt bildete die Verbindung gelbliche Nadeln vom Schmp. 110° (unter Aufschäumen)<sup>20)</sup>.

4.940 mg Sbst.: 7.435 mg CO<sub>2</sub>, 1.400 mg H<sub>2</sub>O. — 2.072 mg Sbst.: 0.143 ccm N (23°, 750 mm).

C<sub>12</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub>N<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (349.01). Ber. C 41.26, H 2.89, N 8.03. Gef. C 41.05, H 3.17, N 7.85.  $[\alpha]_D^{20}$ : +84.4° ( $\alpha$ : +0.90°, c = 0.533, Alkohol, 2 dm).

### 6) *p*-Tolyl-hydrazido-oxalyl-*d*-erythronsäure-lacton.

Als Ausgangsmaterial für die Darstellung der benötigten Iso-ascorbinsäure diene 2-Keto-glucosonsäures-Natrium<sup>28)</sup>, das zunächst mit methylalkoholischer Salzsäure in den Glucosonsäure-methylester<sup>29)</sup> umgewandelt wurde. Die aus diesem Ester durch Erwärmen mit Natriumbicarbonat erhaltenen wäßrigen Lösungen der Iso-ascorbinsäure wurden ohne Isolierung derselben direkt verwendet, nachdem ihr Gehalt an wirksamer Substanz zuvor jodometrisch bestimmt worden war.

Gehaltsbestimmung: 0.208 g Glucosonsäure-methylester (=  $\frac{1}{1000}$  Mol) wurden in 25 ccm Wasser gelöst und nach Zugabe von 1.5 g Natriumbicarbonat  $\frac{1}{2}$  Stde. auf dem Wasserbad verseift. Die mit Schwefelsäure angesäuerte Lösung verbrauchte 8.30 ccm  $n_{10}$ -Jodlösung. Der Iso-ascorbinsäure-Gehalt der Lösung betrug demnach 0.073 g = 41.5% d. Theorie.

Zu der aus 2.08 g Glucosonsäure-methylester auf die wie vor beschriebene Weise dargestellten Lösung von Iso-ascorbinsäure wurde 1 g *p*-Toluoldiazoniumsulfat, gelöst in 10 ccm Wasser, gegeben und das Gemisch bei Raumtemperatur stehen gelassen. Die Abscheidung des kryst. Reaktionsproduktes begann nach etwa 10 Min. und war nach 1 Stde. beendet. Die Ausbeute an bräunlich gefärbtem, rohem *p*-Tolyl-hydrazido-oxalyl-*d*-erythronsäure-lacton betrug 1.12 g = 38.1%, ber. auf angewandten Ester oder 91.8%, ber. auf vorhandene, durch Titration ermittelte Iso-ascorbinsäure.

Zur Reinigung wurde das Rohprodukt zunächst mit siedendem Petroläther behandelt, um färbende Beimengungen zu entfernen, dann in siedendem Essigester gelöst, mit Tierkohle geklärt und mit Petroläther gefällt. Auf diese

<sup>27)</sup> Noeltig u. Kopp, B. **38**, 3507 [1905].

<sup>28)</sup> Wir danken Hrn. Prof. Ohle, Berlin, auch an dieser Stelle für die Überlassung eines Rohproduktes.

<sup>29)</sup> Ohle, B. **70**, 2153 [1937]; s. a. Ohle u. Wolter, B. **63**, 852 [1930].

Weise erhält man die Verbindung in fast farblosen, zu Drusen vereinigten, elliptischen Blättchen. Schmp. 175° (unter Aufschäumen)<sup>20</sup>. Aus absol. Alkohol scheidet sich das Produkt ebenfalls in Blättchen vom Schmp. 177° (unter Aufschäumen)<sup>20</sup> aus.

5.005 mg Sbst.: 9.745 mg CO<sub>2</sub>, 2.280 mg H<sub>2</sub>O. — 2.630 mg Sbst.: 0.213 ccm N (22.5°, 766 mm).

C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>N<sub>2</sub> (294.13). Ber. C 53.04, H 4.79, N 9.53. Gef. C 53.10, H 5.09, N 9.43.  
[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: —62.8° (α: —0.67°, c = 0.533, Alkohol, 2 dm).

### 7) Hydrolytische Spaltung des *p*-Tolyl-hydrazido-oxalyl-*d*-erythronsäure-lactons<sup>26</sup>).

4.6 g *p*-Tolyl-hydrazido-oxalyl-*d*-erythronsäure-lacton wurden in 50 ccm Wasser durch Kochen gelöst, nach eingetretener Lösung noch etwa 1 Min. im gelinden Sieden erhalten und nach Zugabe von etwas Tierkohle filtriert. Aus dem Filtrat krystallisierten 2.4 g Oxalsäure-*p*-tolyl-hydrazid, die nach nochmaligem Umkrystallisieren aus Wasser den Schmp. 152—153° (unter Aufschäumen) zeigten (vergl. Vers. 2a).

#### *d*-Erythronsäure-lacton<sup>26</sup>).

Das Filtrat des Oxalsäure-*p*-tolyl-hydrazids wurde zur Entfernung noch gelösten Hydrazids bis zur Farblosigkeit mit Essigester ausgeschüttelt und die wäßrige Lösung sodann im Vak. vollständig eingedampft. Der hinterbliebene, klarbraune, sirupöse Rückstand (1.3 g) wurde zunächst in der Kälte mehrmals mit wenig Essigester ausgezogen und alsdann in siedendem Essigester gelöst. Beim Erkalten krystallisierte das *d*-Erythronsäure-lacton in rhombischen Blättchen. Beim nochmaligen Umkrystallisieren aus wenig Essigester unter Zusatz von Tierkohle wurde das Lacton in farblosen Prismen vom Schmp. 104—105° erhalten<sup>30</sup>).

4.454 mg Sbst.: 6.695 mg CO<sub>2</sub>, 2.040 mg H<sub>2</sub>O.

C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>4</sub> (118.05). Ber. C 40.66, H 5.12. Gef. C 40.99, H 5.12.  
[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: —73.2°<sup>23</sup>) (α: —0.78°, c = 0.533, Wasser, 2 dm).

### 8) *p*-Tolyl-hydrazido-oxalyl-glykolsäure.

Die als Ausgangsmaterial verwendete Oxy-tetronsäure wurde dargestellt nach Micheel und Jung<sup>6</sup>) durch Kondensation von 2 Mol. Benzoyl-glykolsäure-äthylester mit metallischem Kalium.

1.16 g Oxy-tetronsäure ( $\frac{1}{100}$  Mol), gelöst in 15 ccm Wasser, wurden zu der Lösung von 2.5 g *p*-Toluol-diazoniumsulfat in 25 ccm Wasser gegeben. Nach weniger als einer Min. begann bereits die Abscheidung des krystallinen Reaktionsproduktes, wobei sich die Lösung schwach erwärmte. Es wurde  $\frac{1}{2}$  Stde. bei Raumtemperatur stehen gelassen, dann in Eis gekühlt, abgesaugt und mit Eiswasser nachgewaschen. Ausb. 2.5 g = 100% d. Th. Die Reinigung des gelblichen Rohproduktes erfolgte durch mehrfaches Umfällen aus Essigester-Petroläther. Die reine *p*-Tolyl-hydrazido-oxalyl-glykolsäure krystallisierte in feinen, unregelmäßigen, etwas verbackenen Blättchen. Schmp. 184—185° (unter Aufschäumen)<sup>20</sup>).

5.299 mg Sbst.: 10.210 mg CO<sub>2</sub>, 2.280 mg H<sub>2</sub>O. — 2.682 mg Sbst.: 0.261 ccm N (21.5°, 757 mm).

C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub> (252.11). Ber. C 52.36, H 4.79, N 11.11.  
Gef. „ 52.55, „ 4.81, „ 11.23.

<sup>30</sup>) Nach O. Ruff, B. **32**, 3679 [1899], Schmp. 103°, [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = —73.3°.

9) Hydrolytische Spaltung der *p*-Tolyl-hydrazido-oxalyl-glykolsäure.

1 g *p*-Tolyl-hydrazido-oxalyl-glykolsäure wurde in 50 ccm Wasser in der Hitze gelöst, darauf noch etwa eine Min. in gelindem Sieden erhalten, dann mit etwas Tierkohle geklärt und filtriert. Aus dem Filtrat krystallisierte das gebildete Oxalsäure-*p*-tolyl-hydrazid in Prismen vom Schmp. 153° (unter Aufschäumen) (vergl. Vers. 2a).

Zur Isolierung der Glykolsäure wurde das wäßrige Filtrat im Vak. eingedampft und der hinterbliebene krystalline Rückstand (0.5 g) mehrfach mit Äther ausgezogen. Beim Einengen der mit Natriumsulfat getrockneten ätherischen Lösung schied sich die kryst. Glykolsäure, vermischt mit etwas Oxalsäure-*p*-tolyl-hydrazid, ab. Die Abtrennung des letzteren erfolgte durch Lösen in einigen ccm heißem Wasser, Klären mit Tierkohle, Filtrieren und Kühlen in Eis. Von dem auskrystallisierten Tolyl-hydrazid wurde abgesaugt und das Filtrat wiederum im Vak. eingedampft. Der hinterbliebene, gelblich gefärbte krystalline Rückstand gab die charakteristischen Reaktionen der Glykolsäure:

Beim Erwärmen mit 2.7-Dioxy-naphthalin in konz. Schwefelsäure violettrote Färbung<sup>31)</sup>.

Beim Erhitzen mit starker Schwefelsäure Bildung von Formaldehyd<sup>32)</sup>.

10) 2-Keto-glutarsäure-*p*-tolylhydrazid.

0.6 g Reduktinsäure<sup>33)</sup> (95-proz.)<sup>34)</sup>, gelöst in 10 ccm Wasser, wurden unter Eiskühlung mit der Lösung von 1.1 g *p*-Toluol-diazoniumsulfat in 10 ccm Wasser zusammengegeben. Nach vorübergehender Gelbfärbung trübte sich das Reaktionsgemisch, ohne daß sich ein festes Produkt abschied. Nach 1-stdg. Stehenlassen wurde mehrfach mit insgesamt 30 ccm Essigester ausgeschüttelt und hieraus nach dem Trocknen mit Natriumsulfat durch langsame Zugabe von Petroläther das 2-Keto-glutarsäure-*p*-tolylhydrazid gefällt. Ausb. 0.5 g = 40% d. Theorie. Zur Reinigung wurde wiederholt aus Essigester/Petroläther umgefällt. Schwach gelbliche rhombische Blättchen vom Schmp. 157° (unter Gasentw. und Schwarzfärbung).

3.337 mg Sbst.: 7.035 mg CO<sub>2</sub>, 1.690 mg H<sub>2</sub>O. — 2.689 mg Sbst.: 0.270 ccm N (24°, 750 mm).

C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>N<sub>2</sub> (250.13). Ber. C 57.57, H 5.64, N 11.20. Gef. C 57.50, H 5.66, N 11.39.

Titration: 0.0960 g Sbst.: verbr. 4.0 ccm *n*<sub>10</sub>-Natronlauge (Phenolphthalein), ber. für einbas. Säure 3.85 ccm.

10a) Semicarbazon des 2-Keto-glutarsäure-*p*-tolylhydrazids.

0.1 g 2-Keto-glutarsäure-*p*-tolylhydrazid wurden in 12 ccm Wasser gelöst und mit 0.1 g salzsaurem Semicarbazid unter Zusatz von Kaliumacetat 2 Stdn. auf dem Wasserbad erhitzt. Aus der Reaktionslösung schied sich beim Stehenlassen über Nacht in Eis das Semicarbazon des 2-Keto-glutarsäure-*p*-tolylhydrazids ab und

<sup>31)</sup> Eegriwe, Ztschr. analyt. Chem. **89**, 123 [1932].

<sup>32)</sup> Heintz, Ann. Physique **115**, 461 [1862].

<sup>33)</sup> Dargestellt nach Reichstein u. Oppenauer, l. c., durch Säure-Druckhydrolyse von Tetragalacturonsäure. Wir danken Hrn. Prof. Reichstein, Zürich, auch an dieser Stelle für die Überlassung von Ausgangsmaterial.

<sup>34)</sup> Die Gehaltsbestimmung erfolgte jodometrisch.

wurde aus verd. Alkohol umkrystallisiert. Schwach gelbliche mikrokristalline Prismen Schmp. 207° (unter Zers.).

2.722 mg Sbst.: 0.540 ccm N (25.5°, 750 mm).

$C_{13}H_{17}O_5N_8$  (307.17). Ber. N 22.8. Gef. N 22.4.

### 11) Glyoxylsäure-2.5-dichlor-phenylhydrazid (Hydrat).

0.5 g Redukton<sup>35)</sup> (85-proz.)<sup>34)</sup> wurden in 15 ccm Wasser gelöst und unter Eiskühlung mit der aus 0.8 g 2.5-Dichlor-anilin bereiteten Lösung von 2.5-Dichlor-benzol-diazoniumsulfat zusammengegeben, wobei sofort Gelbfärbung eintrat. Nach wenigen Sek. begann die Abscheidung des fast farblosen kristallinen Reaktionsproduktes, das nach  $\frac{1}{2}$ -stdg. Stehenlassen in Eis abgesaugt wurde. Ausb. 0.75 g = 62% d. Theorie. Aus Essigester wurde das reine Glyoxylsäure-2.5-dichlor-phenylhydrazid (Hydrat) in sternförmig angeordneten, farblosen Nadeln erhalten. Schmp. 125—126°. Die Verbindung lieferte die charakteristischen Reaktionen eines Glyoxylsäure-Derivates: Beim Erwärmen mit verd. Ammoniak Rotfärbung<sup>36)</sup>, beim Erwärmen mit 1-proz. Pyrogallol-Schwefelsäure tiefblaue Farbe, die nach dem Verdünnen mit Wasser in Rot überging<sup>37)</sup>.

4.734 mg Sbst.: 6.710 mg CO<sub>2</sub>, 1.440 mg H<sub>2</sub>O. — 2.901 mg Sbst.: 0.285 ccm N (26°, 745 mm). — 22.099 mg Sbst.: 24.680 mg AgCl.

$C_8H_5O_3N_2Cl_2$  (250.99). Ber. C 38.25, H 3.21, N 11.16, Cl 28.2.

Gef. „ 38.66, „ 3.40, „ 10.99, „ 27.6.

#### Bestimmung der gebildeten Ameisensäure.

0.5 g Redukton (85-proz. = 0.425 g wirksames Dienol) wurden, wie zuvor beschrieben, mit 0.8 g diazotiertem 2.5-Dichlor-anilin umgesetzt und das die Ameisensäure enthaltende Filtrat des Reaktionsproduktes im Maßkolben zu 100 ccm aufgefüllt. Hiervon wurden 25 ccm nach dem Abstumpfen mit Natriumacetat mit überschüssiger *p*-Toluolsulfosäure versetzt und die Ameisensäure im Vak. bei 50° unter Stickstoff vollständig abdestilliert.

Vorgelegt 30 ccm  $n_{10}$ -Natronlauge, zurücktitriert mit 20.3 ccm  $n_{10}$ -Schwefelsäure. Verbraucht 9.7 ccm  $n_{10}$ -Natronlauge = 0.0446 g Ameisensäure. (1 ccm  $n_{10}$ -Natronlauge = 0.0046 g Ameisensäure.) 0.106 g Redukton gaben 0.0446 g Ameisensäure = 80.6% d. Theorie.

### 11a) Phenylhydrazon des Glyoxylsäure-2.5-dichlor-phenylhydrazids.

Die Lösung von 0.8 g Glyoxylsäure-2.5-dichlor-phenylhydrazid in 50-proz. Alkohol wurde mit 0.5 g Phenylhydrazin, gelöst in Essigsäure, versetzt und bei Raumtemperatur stehen gelassen. Nach 1-stdg. Reaktionsdauer wurde der ausgeschiedene Krystallbrei des gebildeten Phenylhydrazons abgesaugt und einige Male aus verd. Alkohol umkrystallisiert. Schwach gelbliche glänzende Prismen vom Schmp. 223° (unter Gasentw.).

4.058 mg Sbst.: 7.690 mg CO<sub>2</sub>, 1.390 mg H<sub>2</sub>O. — 2.810 mg Sbst.: 0.430 ccm N (27.5°, 741 mm).

$C_{14}H_{12}ON_4Cl_2$  (323.04). Ber. C 52.0, H 3.7, N 17.3. Gef. C 51.7, H 3.8, N 17.0.

<sup>35)</sup> Dargestellt nach v. Euler u. Martius, l. c., durch Einwirkung von verd. Alkali auf Glucose.

<sup>36)</sup> Weygand, Organisch-chemische Experimentierkunst, Leipzig 1938, S. 54-2.

<sup>37)</sup> Fearon, Biochem. Journ. **14**, 548 [1921].