

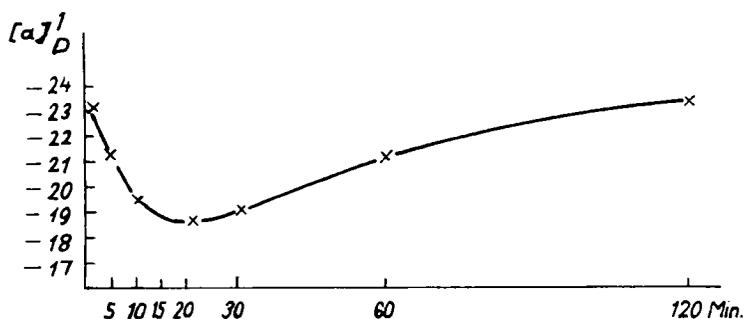
### 153. Hellmut Bredereck, Martin Köthnig und Eva Berger: Über die *d*-Ribose (Darstellung einer kristallisierten Anhydroribose).

[Aus d. Chem. Laborat. d. Universität Leipzig.]

(Eingegangen am 7. August 1940.)

Die Untersuchungen über eine Reihe von Cofermenten, Vitamin B<sub>2</sub> und Nucleinsäuren haben gezeigt, daß in ihnen als Kohlenhydratkomponente die *d*-Ribose vorliegt. Die früher nur wenig bekannte *d*-Ribose darf heute nächst der Glucose als der biologisch wichtigste Zucker angesprochen werden. Dadurch, daß es uns gelungen ist, die Nucleoside in einfacher Weise und sehr guter Ausbeute darzustellen<sup>1)</sup>, ist gleichfalls eine bequeme Darstellungsmethode für die *d*-Ribose gegeben. Die saure Hydrolyse von Guanodin bzw. Adenosin liefert neben dem entsprechenden Purin die freie *d*-Ribose. Demgegenüber sind die Darstellungsmethoden, die von der *d*-Arabinose bzw. primär von der Glucose ausgehen, äußerst umständlich und langwierig.

*d*-Ribose zeigt auffallenderweise bei gewöhnlicher Temperatur in wäßriger Lösung keine Mutarotation. Phelps, Isbell und Pigman<sup>2)</sup> haben dann festgestellt, daß man bei +1° eine schnell verlaufende Drehungsänderung beobachtet, die einen eigenartigen Verlauf nimmt und von der üblichen Mutarotation eines Zuckers abweicht (Abbild. 1). Diese Mutarotation setzt



Abbild. 1. Mutarotation der *d*-Ribose in wäßriger Lösung (10°).

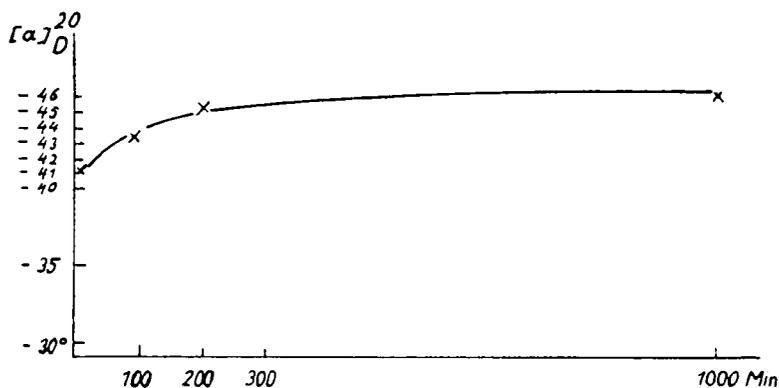
sich aus mindestens 2 Teilvorgängen zusammen, deren einer der normalen  $\alpha,\beta$ -Umlagerung entspricht. Für den anderen Teilvorgang nehmen Isbell und Pigman<sup>3)</sup> eine Furanose-Pyranose-Umlagerung an, wobei sich dann bei beiden Formen das  $\alpha,\beta$ -Gleichgewicht einstellt. Zu Vergleichszwecken haben wir noch den Verlauf der Mutarotation in Pyridin bestimmt. Da bei tiefer Temperatur sich das Gleichgewicht zu langsam einstellte, mußten wir die Bestimmung bei Raumtemperatur vornehmen. Entgegen dem Verlauf in wäßriger Lösung tritt hier kein Maximum bzw. Minimum auf (Abbild. 2): Von  $[\alpha]_D^{20}$ : -38.4° (nach 4 Min.) sinkt der Wert auf -43.1° nach 2 Tagen. Die Berechnung der Geschwindigkeitskonstanten  $K_1 + K_2 \times 10^5$  (s. Versuchsteil) ergibt jedoch völlig inkonstante Werte, woraus hervorgeht, daß auch in Pyridin eine komplex verlaufende Mutarotation vorliegt.

<sup>1)</sup> H. Bredereck, B. **71**, 408 [1938].

<sup>2)</sup> Journ. Amer. chem. Soc. **56**, 747 [1934].

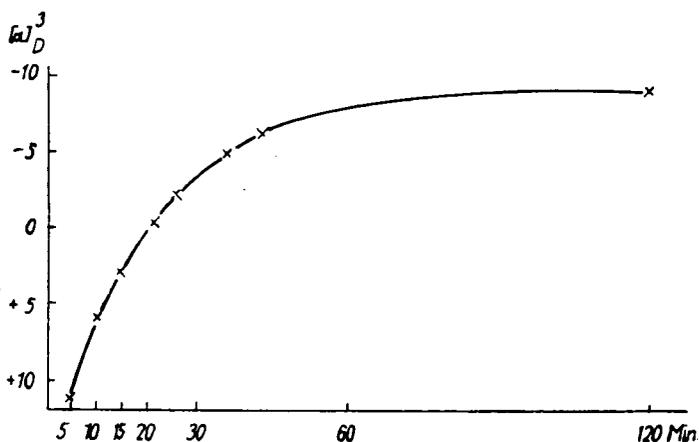
<sup>3)</sup> Bur. Standards Journ. Res. **20**, 774 [1938].

Der Verlauf der Mutarotation der *d*-Ribose und ihre Deutung ließen erhoffen, aus dem Pyranose-Furanose-Gemisch die Furanose-Form als Tritylverbindung herauszufangen zu können. Die Umsetzung von Ribose in Pyridin



Abbild. 2. Mutarotation der *d*-Ribose in Pyridin (20°).

mit Tritylchlorid lieferte in der für diese Reaktion zu erwartenden Ausbeute eine kristallisierte Tritylverbindung. Bei der bekannten Reaktionsfähigkeit der primären Hydroxylgruppe durfte man das Vorliegen einer 5-Trityl-ribose erwarten. In diesem Fall mußte die Mutarotation einen normalen Verlauf nehmen und lediglich durch die Einstellung des  $\alpha$ . $\beta$ -Gleichgewichts bedingt

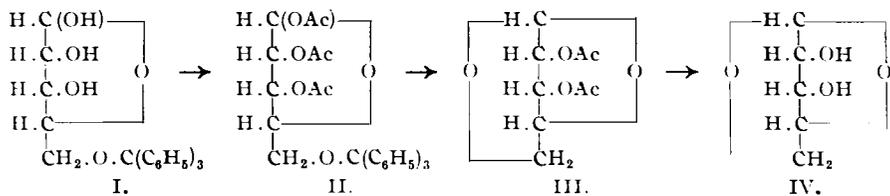


Abbild. 3. Mutarotation der Tritylribose in Pyridin (3°).

sein. Die bei  $+3^\circ$  beobachtete Drehung in Pyridin (Abbild. 3) zeigte eine Änderung von  $[\alpha]_D^{30}$ :  $+12.1^\circ \rightarrow -9.9^\circ$  und ergab bei Berechnung der Geschwindigkeitskonstanten  $K_1 + K_2 \times 10^4$  konstante Werte. Die neue Verbindung ist mithin als 5-Trityl- $\alpha$ -*d*-ribose (I) zu bezeichnen. Entsprechend ihrer Konstitution reduziert die Verbindung Fehlingsche Lösung und gibt mit

Kupfersulfat in alkalischer Lösung eine Tiefblaufärbung<sup>4)</sup>, wodurch das Vorliegen zweier freier, benachbarter und gleichgerichteter Hydroxylgruppen (an den C-Atomen 2 und 3) gezeigt ist. Die danach einzig noch mögliche Konstitution einer 4-Trityl-ribose darfst bei der bekannten größeren Reaktionsfähigkeit der primären gegenüber einer sekundären Hydroxylgruppe als ausgeschlossen gelten. Somit ist bewiesen, daß die *d*-Ribose in Lösung eine Furanose-Pyranose-Umwandlung erleidet bzw. daß sich ein Gleichgewicht beider Formen einstellt, wobei es vorerst noch nicht entschieden ist, welche Form in der kristallisierten Ribose vorliegt.

Nachdem es uns so gelungen war, ein Furanosederivat der Ribose zu erhalten, war es ursprünglich unsere Absicht, diese Verbindung über verschiedene Zwischenstufen in Acetobromribofuranose umzuwandeln, die dann für synthetische Versuche zur Herstellung von Nucleosiden, in denen bekanntlich die Furanoseform vorliegt, Verwendung finden sollte. Die Acetylierung der Tritylribose führte zur 1.2.3-Triacetyl-trityl-ribose (II), die zwar nicht kristallin, jedoch analytisch rein erhalten wurde. Durch Abspaltung des Tritylrestes hofften wir zur 1.2.3-Triacetyl-ribofuranose zu kommen. Die mit Bromwasserstoff in Eisessig ebenso durch Kochen in verd. Essigsäure vorgenommene Abspaltung führte unter gleichzeitiger Abspaltung des Tritylrestes und einer Acetylgruppe zu einer kristallisierten Diacetyl-anhydroribose, die als 2.3-Diacetyl-anhydroribose-⟨1.5⟩⟨1.4⟩ (III) anzusprechen ist. Für diese Konstitution spricht, daß die Verbindung Fehlingsche Lösung nicht reduziert. Die Abspaltung der beiden Acetylguppen führte zur kristallisierten Anhydroribose ⟨1.5⟩⟨1.4⟩ (= Lävoriobosan) (IV), unseres Wissens dem ersten kristallisierten monomeren Pentosan<sup>5)</sup> mit definierter Konstitution. Die Konstitution ergibt sich aus folgenden Tatsachen: 1) Fehlingsche Lösung wird nicht reduziert. 2) Nach saurer Hydrolyse tritt Reduktion ein. 3) Die Probe auf zwei freie benachbarte und gleichgerichtete OH-Gruppen mit Kupfersulfat und Alkali verläuft positiv<sup>4)</sup>.



Ein Vorschlag zur Nomenklatur sei angefügt: Einem Vorschlag von M. Bergmann folgend sollen die Anhydride, bei denen der Wasseraustritt zwischen der reduzierenden Gruppe und einer beliebigen anderen Hydroxylgruppe erfolgt, durch Anhängen der Silbe *osan* bezeichnet werden, also z. B. *d*-Glucosan ⟨1.6⟩⟨1.5⟩ oder *d*-Galaktosan ⟨1.6⟩⟨1.5⟩. Bleibt jedoch beim Wasseraustritt die reduzierende Gruppe unbeteiligt, so sollen die Verbindungen als Anhydrozucker, z. B. 3.6-Anhydro-glucose, bezeichnet werden. In dem Handbuch der Kohlenhydrate von Tollens-Elsner<sup>6)</sup> ist gleichfalls diese

<sup>4)</sup> Klimek u. Parnas, Ztschr. physiol. Chem. **217**, 75 [1933].

<sup>5)</sup> F. u. H. Micheel (B. **63**, 2862 [1930]) beschreiben eine kryst. 2.3-Diacetyl-anhydrorhamnose ⟨1.5⟩⟨1.4⟩.

<sup>6)</sup> 4. Aufl., S. 512 usw. [1935].

Bezeichnung angewandt, wobei zur Veranschaulichung die Konstitutionsformeln eines „Hexosans <1.4> <1.5>“ und einer „2,4-Anhydro-hexose“ wiedergegeben sind. In der Reihe der Hexosen bestehen gegen einen solchen Nomenklaturvorschlag keinerlei Bedenken. Geht man aber zu den Pentosen über und spricht hier von Ribosan, Xylosan, Arabinosan usw., d. h. allgemein von „Pentosanen“, so ergibt sich hier eine Zweideutigkeit, da die Bezeichnung Pentosan seit langem den polymeren Pentosen vorbehalten ist. Wir schlagen daher vor, in der strengen Systematik sämtliche Anhydride der Kohlenhydrate als Anhydrozucker zu bezeichnen, also z. B. *d*-Anhydroglucose <1.6> <1.5> (bisher *d*-Glucosan <1.6> <1.5>), *d*-Anhydrogalaktose <1.6> <1.5> (bisher *d*-Galaktosan <1.6> <1.5>), *d*-Anhydroglucose <3.6> <1.5> (bisher 3.6-Anhydro-glucose), *d*-Anhydroribose <1.5> <1.4>, wobei man am besten bisher gebräuchliche Bezeichnungen wie Glucosan, Lävoglucosan usw. in Klammern mit hinzufügt. Wenn damit auch sprachlich auf eine Unterscheidung zwischen reduzierenden und nichtreduzierenden Anhydrozuckern verzichtet wird, so wird durch die Angabe der Ringkohlenstoffatome diese Verschiedenheit deutlich erkennbar.

Für die Unterstützung der Arbeit danken wir der Deutschen Forschungsgemeinschaft. Der Firma Dr. Georg Henning, Berlin-Tempelhof, sind wir für die Überlassung der benötigten Mengen Guanosin zur Herstellung von *d*-Ribose zu Dank verpflichtet.

### Beschreibung der Versuche.

#### Darstellung der *d*-Ribose.

In Abänderung der früher<sup>1)</sup> angewandten Methode wurde die Darstellung der *d*-Ribose wie folgt durchgeführt:

60 g Guanosin werden 2½ Stdn. in 700 ccm *n*-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> am Rückflußkühler erhitzt. Nach dem Erkalten wird das ausgefallene Guaninsulfat abgesaugt (etwa 40 g), das Filtrat mit heiß gesättigter Barytlaug neutralisiert, das Bariumsulfat abzentrifugiert und nochmals mit heißem Wasser ausgewaschen. Zentrifugat und Waschwasser werden im Vak. bei 40° zunächst auf etwa 500 ccm eingengt, dann filtriert und schließlich bis zum Sirup eingedickt. Der schwach gelbliche Rückstand wird in etwa 150 ccm Alkohol gelöst und wiederum eingengt. Der Rückstand wird wiederum in etwa 100 ccm Alkohol gelöst und Äther zugefügt (etwa 1 l), solange sich noch ein Niederschlag bildet. Vom Niederschlag wird abgessen, die klare Lösung im Vak. bei 40—50° eingengt und der Rückstand in wenig absol. Alkohol aufgenommen (1 g in 2 ccm). Nach Animpfen und Aufbewahren im Eisschrank kristallisiert die *d*-Ribose aus. Ausb. 18 g, Schmp. 78—79°. Für die weiteren Umsetzungen ist dieses Produkt rein genug. Eine u. U. erforderliche weitere Reinigung erfolgt durch Umkristallisieren aus absol. Alkohol.

#### Mutarotation der *d*-Ribose in Pyridin.

1.432 g Ribose (Schmp. 84°) wurden in 19.649 g Pyridin gelöst und die Drehungsänderung bei Zimmertemperatur verfolgt. Die Geschwindigkeitskonstanten wurden nach der Formel

$$K_1 + K_2 = \frac{1}{t_1 - t_2} \times \log \frac{\alpha t_1 - \alpha_\infty}{\alpha t_2 - \alpha_\infty}$$

berechnet. In der folgenden Tafel sind die abgelesenen Drehungen sowie die berechneten Geschwindigkeitskonstanten aufgeführt:

t Min.	$\alpha$	$K_1 + K_2 \times 10^5$	t Min.	$\alpha$	$K_1 + K_2 \times 10^5$
4.4	---5.49		70.5	- 5.82	442
7.2	---5.52	682	135	---5.93	358
8.7	---5.54	778	201	- 5.97	278
21.2	---5.60	463	333	- 6.01	197
36.7	---5.69	477	993	-6.08	100
			2 Tage	---6.16	

$$\text{Anfangsdrehung: } [\alpha]_{\text{D}}^{20} = \frac{-5.49^{\circ} \times 19.64^{\circ}}{1.432 \times 2.0.98} = -38.4^{\circ} \text{ (nach 4 Min.)}$$

$$\text{Enddrehung: } [\alpha]_{\text{D}}^{20} = \frac{-6.16^{\circ} \times 19.64^{\circ}}{1.432 \times 2.0.98} = -43.1^{\circ} \text{ (nach 2 Tagen)}$$

### Tritylribose.

10 g Ribose und 18.6 g Triphenylchlormethan werden in 100 ccm trockenem Pyridin gelöst und 4 Tage bei 37° (Brutschrank) unter Feuchtigkeitsausschluß aufbewahrt. Danach erwärmt man noch  $\frac{1}{2}$  Stde. auf dem Wasserbad und rührt nach dem Erkalten in 2 l Eiswasser ein. Von dem abgeschiedenen Sirup wird die überstehende Flüssigkeit abgegossen, der Sirup nochmals mit Wasser durchgeknetet und in etwa 150 ccm Chloroform gelöst. Die Chloroformlösung wird mit Kaliumbisulfatlösung, dann mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und im Vak. zur Trockne eingeeengt. Der zurückbleibende Sirup wird in etwa 20 ccm Alkohol gelöst. Beim Erkalten krystallisiert die Tritylribose aus, die nach Stehenlassen im Eisschrank abgesaugt wird. Sie wird noch 2-mal aus Alkohol umkrystallisiert, u. U. unter Zugabe von etwas Tierkohle. Ausb. 7.8 g. Schmp. 125°.

Zur Analyse wurde die Substanz 12 Stdn. bei 60°/2 mm über Phosphorpentoxid getrocknet.

4.440 mg Sbst.: 11.760 mg CO<sub>2</sub>, 2.730 mg H<sub>2</sub>O.

C<sub>24</sub>H<sub>24</sub>O<sub>5</sub> +  $\frac{1}{2}$  C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>.OH (+15.2). Ber. C 72.25, H 6.56. Gef. C 72.24, H 6.88.

Tritylribose reduziert Fehlingsche Lösung und gibt eine positive Reaktion mit Kupfersulfat/Alkali (Klimek-Parnas<sup>4</sup>).

Mutarotation: Die Messungen wurden in einem 2-dm-Rohr, das mit einem Metallmantel umgeben war, ausgeführt. Durch den Metallmantel strömte während der Dauer der Beobachtung Eiswasser.

0.7629 g Tritylribose wurden unter Schütteln in 19.724 g Pyridin von 3° gelöst und die Lösung in das schon vorher gekühlte Polarisationsrohr eingefüllt. Der erste Wert wurde 4 Min. nach dem Eintragen der Substanz in Pyridin abgelesen. Die Geschwindigkeitskonstanten wurden wie oben (s. unter Mutarotation der *d*-Ribose) berechnet. In der folgenden Tafel sind die abgelesenen Drehungen sowie die berechneten Geschwindigkeitskonstanten aufgeführt:

t Min.	$\alpha$	$K_1 + K_2 \times 10^4$	t Min.	$\alpha$	$K_1 + K_2 \times 10^4$
4	+0.92		15.6	+0.21	202
4.9	+0.86		21.2	—0.03	210
6.1	+0.80	141	26.4	—0.15	202
7.1	+0.73	168	30.2	—0.27	205
9.3	+0.54	213	35.6	—0.39	208
11.7	+0.42	196	42.1	—0.49	211
			120.0	—0.75	

$$\text{Anfangsdrehung nach 4 Min.: } [\alpha]_D^{20} = \frac{+0.92 \times 19.7238}{0.7629 \times 2.098} = +12.1^\circ.$$

$$\text{Enddrehung nach 12 Stdn.: } [\alpha]_D^{20} = -9.9^\circ.$$

### 1.2.3-Triacetyl-5-trityl-ribose.

5.5 g getrocknete Tritylribose werden in einer Mischung von 10 ccm Essigsäureanhydrid und 20 ccm Pyridin 24 Stdn. bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Sodann wird die Lösung in  $\frac{1}{2}$  l Eiswasser eingerührt und der Niederschlag nach etwa  $\frac{1}{2}$  Stde. abgesaugt. Die Substanz wird in Chloroform gelöst und die Lösung nacheinander mit Kaliumbisulfatlösung, Natriumbicarbonatlösung und schließlich Wasser bis zur neutralen Reaktion gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und im Vak. zum Sirup eingedampft. Der Rückstand wird in etwa 50 ccm Alkohol aufgenommen und in die 10-fache Menge Eiswasser eingerührt. Die Fällung wird abgesaugt und über Phosphor-pentoxyd im Vakuumexsiccator getrocknet. Ausb. 6 g.

Zur Analyse wurde die, wie vorstehend angegeben, getrocknete Substanz verwendet.

4.436 mg Sbst.: 11.240 mg CO<sub>2</sub>, 2.270 mg H<sub>2</sub>O.

C<sub>30</sub>H<sub>30</sub>O<sub>8</sub> (518.2). Ber. C 69.47, H 5.84. Gef. C 69.12, H 5.73.

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{+0.08^\circ \times 1.8408}{0.0376 \times 1.080} = +4.9^\circ \text{ (I), } \frac{+0.085^\circ \times 3.3878}{0.0685 \times 1.080} = +5.2^\circ \text{ (II) (in absol. Alkohol).}$$

### 2.3-Diacetyl-anhydroribose <1.5><1.4>.

5 g trockne Triacetyltritylribose werden in 10 ccm Eisessig gelöst, sodann die Lösung unter Kühlen mit Eiswasser mit 2.5 ccm einer bei 0° mit Bromwasserstoff gesättigten Eisessiglösung versetzt. Vom ausgefallenen Tritylbromid (3.1 g) wird abgesaugt, mit wenig Eisessig nachgewaschen und das Filtrat in etwa 30 ccm Eiswasser eingegossen. Vom Niederschlag wird abgesaugt und das Filtrat 3-mal mit Chloroform extrahiert. Die Chloroformlösung wird mit Bicarbonatlösung, sodann mit Wasser bis zur neutralen Reaktion gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und im Vak. zur Trockne verdampft. Der Rückstand wird in möglichst wenig Alkohol (etwa 3 ccm) aufgenommen. Beim Abkühlen und Reiben mit dem Glasstab scheidet sich die Substanz krystallin ab. Ausb. 1.6 g. Zur Reinigung wird nochmals aus Alkohol umkrystallisiert. Schmp. 169°.

Die Substanz wurde bei 100°/2 mm über Phosphor-pentoxyd getrocknet.

4.313 mg Sbst.: 7.860 mg CO<sub>2</sub>, 2.180 mg H<sub>2</sub>O. — 0.0414 g Sbst.: 7.65 ccm  $n_{20}$ -NaOH. C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub> (216.1). Ber. C 50.00, H 5.59, COCH<sub>3</sub> 39.82. Gef. C. 49.69, H 5.66, COCH<sub>3</sub> 39.75.

Fehlingsche Lösung wird nicht reduziert.

## Anhydroribose &lt;1.5&gt; &lt;1.4&gt;.

0.5 g Diacetylanhydroribose werden auf dem Wasserbad unter Feuchtigkeitsausschluß in 1.25 ccm Methanol gelöst und 0.13 ccm  $n/_{10}$ -Natriummethylat zugegeben. Man kocht 10 Min. am Rückflußkühler. Bereits nach 3 Min. beginnt die krystalline Abscheidung der Anhydroribose. Nach dem Erkalten wird abgesaugt, mit Methanol ausgewaschen und aus absol. Alkohol umkrystallisiert. Ausb. 0.15 g. Schmp. 22°—230° nach Sintern ab 225°.

Zur Analyse wurde die Substanz bei 100°/2 mm über Phosphorpentoxyd getrocknet.

4.165 mg Sbst.: 6.958 mg CO<sub>2</sub>, 2.259 mg H<sub>2</sub>O.

C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub> (132). Ber. C 45.46, H 6.06. Gef. C 45.56, H 6.07.

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{+0.25^\circ \times 1.576}{0.0500 \times 1 \times 1} = +78.8^\circ \text{ (I)}, \quad \frac{-0.15^\circ \times 2.336}{0.0450 \times 1 \times 1} = -77.8^\circ \text{ (II) (in Wasser)}.$$

Die Anhydroribose löst sich leicht in Wasser. Fehlingsche Lösung wird erst nach vorangegangener Hydrolyse mit 2-n. HCl auf dem Wasserbad (10 Min.) reduziert. Die Reaktion mit Kupfersulfat/Alkali nach Klimek-Parnas verläuft positiv.

#### 154. Richard Kuhn und Theodor Wieland: Über Dioxyacyl-Derivate des $\beta$ -Alanins und *l*-Leucins aus der Leber des Thunfisches.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizin. Forschung, Heidelberg, Institut für Chemie.]  
(Eingegangen am 7. August 1940.)

Neben einer ganzen Reihe von Mineralsalzen, Aminosäuren, Vitaminen und Wuchsstoffen, die chemisch bekannt sind, benötigen die Milchsäure-Bakterien<sup>1)</sup> für ihr Wachstum auch einen durch Säure und verd. Alkali in der Hitze zerstörbaren Faktor, der durch saure Silicate wie Fullererde, Clarit u. a. nur schwer adsorbierbar ist. In seinen Eigenschaften erinnerte dieser Wirkstoff an die von R. J. Williams und seinen Mitarbeitern<sup>2)</sup> seit vielen Jahren untersuchte Pantothensäure. Die amerikanischen Forscher haben als Ausgangsmaterial Säugetierleber und als Test bei den Isolierungsversuchen die Wachstumsgeschwindigkeit einer besonderen Hefe benutzt. Es gelang ihnen noch nicht, die Pantothensäure selbst bzw. Salze oder Ester derselben in krystallisierter Form zu gewinnen. Als Hydrolysenprodukte hochgereinigter, amorpher Präparate konnten jedoch  $\beta$ -Alanin und das Lacton der  $\alpha,\gamma$ -Dioxy- $\beta,\beta$ -dimethyl-buttersäure<sup>3)</sup> identifiziert werden. Es gelang durch Wiedervereinigung dieser beiden Bruchstücke, biologisch wirksame Lösungen von synthetischer Pantothensäure zu erhalten, der demgemäß von R. J. Williams und R. T. Major<sup>3)</sup> die Formel I zugeschrieben wurde. Es kommt aber auch die cyclische Formel II in Betracht.

<sup>1)</sup> E. F. Möller, Angew. Chem. **53**, 204 [1940].

<sup>2)</sup> R. J. Williams, H. H. Weinstock, E. Rohrmann, J. H. Truesdail, H. K. Mitchell u. C. E. Meyer, Journ. Amer. chem. Soc. **61**, 454 [1939].

<sup>3)</sup> R. J. Williams u. R. T. Major, Science [New York] **91**, 246 [1940].