

Dihydroferulasäure-äthylester: Durch Hydrierung von Ferulasäure-äthylester<sup>1)</sup>. Öl; Sdp.<sub>0.01</sub> 137°.

C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub> (224.3) Ber. C 64.27 H 7.19 Alkoxy-O 14.27

Gef. C 64.27 H 7.37 Alkoxy-O 14.19

ω-[2-Methoxy-4-(β-carbäthoxy-äthyl)-phenoxy]-acetovanillon-benzyläther (Dihydroderivat von XIV): Eine Lösung von 10 g ω-Brom-acetovanillon-benzyläther und 13 g Dihydroferulasäure-äthylester in 120 ccm trockenem Aceton wird unter starkem Rühren mit 8 g wasserfreiem Kaliumcarbonat versetzt und 40 Min. lang gekocht. Das Filtrat wird mit Wasser verdünnt und mit Chloroform ausgeschüttelt, die Chloroformlösung mit Natronlauge und Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Beim Verdunsten i. Vak. wird der Rückstand aus Alkohol umkristallisiert, zuletzt mit Tierkohle. Farblose Prismen, Schmp. 64°. Ausb. 10.7 g (75% d. Th., bez. auf Bromacetovanillon-benzyläther).

C<sub>28</sub>H<sub>30</sub>O<sub>7</sub> (478.5) Ber. C 70.28 H 6.32 Alkoxy-O 10.03

Gef. C 70.06 H 6.41 Alkoxy-O 10.12

## 96. Theodor Wieland, Gerhard Ohnacker und R. Karl Rothhaupt: Die Konstitution des Böttingerschen Brenztraubensäure-anils

[Aus dem Institut für organische Chemie der Universität Frankfurt a. M.]

(Eingegangen am 11. Februar 1955)

Bei der Oxydation von Brenztraubensäure mit Wasserstoffperoxyd in Gegenwart von Anilin entsteht Acetanilid, während das „Anil“ der Ketosäure andere Produkte liefert. Die in diesem Zusammenhang ausgeführten Versuche zur Ermittlung seiner Konstitution haben ergeben, daß es die Struktur einer dimeren Lacton-carbonsäure (IV) hat. Die Umsetzungsprodukte von IV mit Diazomethan in Äther und Methanol sowie mit Thioessigsäure lassen sich zwanglos von dieser Struktur ableiten.

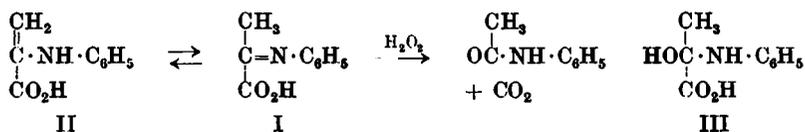
Versetzt man Brenztraubensäure oder eines ihrer Salze in wäßriger Lösung mit Hydroperoxyd, so tritt unter deutlicher Erwärmung starke Kohlendioxyd-Entwicklung unter Oxydation zu Essigsäure ein (Hollemanische Reaktion). Wie wir vor 5 Jahren beobachteten, fällt dann, wenn dieselbe Reaktion in Gegenwart von Anilinsalzen ausgeführt wird, ein krist. Niederschlag aus, der als Acetanilid identifiziert wurde. Dieselbe Acetylierung gelang auch am *p*-Aminosulfonyl-acetamid (Albucid), die analoge Benzoylierung mit Phenylglyoxylsäure + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> am Anilin. Diese Befunde erregten damals, vor der Aufklärung der Natur der „aktivierten“ Essigsäure durch F. Lynen, unser Interesse, da man hiermit in vitro die Acetylierung eines aromatischen Amins mit Brenztraubensäure + Oxydationsmittel durchführen konnte, die in vivo über die Stufe der aktivierten Essigsäure (*S*-Acetyl-Coenzym A) verläuft. Unter anderem stellten wir uns den Mechanismus der Reaktion so vor, daß Anilin mit Brenztraubensäure zuerst zur Schiffischen Base I zusammentrat und diese durch das Oxydationsmittel zu Acetanilid + CO<sub>2</sub> oxydiert würde.

Dann sollte aber vorgebildetes I leicht zu denselben Produkten oxydierbar sein. An dem von C. Böttinger<sup>1)</sup> beschriebenen, durch einfache Reaktion

<sup>1)</sup> K. Freudenberg u. H. H. Hübner, Chem. Ber. 85, 1181 [1952].

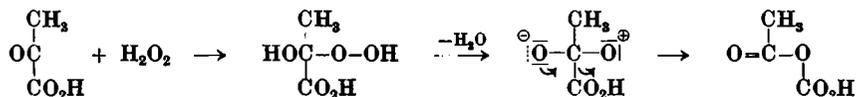
<sup>2)</sup> Liebigs Ann. Chem. 188, 366 [1877].

von Brenztraubensäure mit Anilin in Äther erhältlichen Anil blieb die Acetanilidbildung unter den genannten Bedingungen jedoch aus. Dieser Befund veranlaßte uns dann, die Konstitution des Brenztraubensäure-anils zu überprüfen, zunächst unter der Annahme, daß ihm vielleicht die tautomere Formel der



$\alpha$ -Phenylamino-acrylsäure (II) zukommen könne oder nur die Hydratform (III) im Moment ihres Entstehens aus den Komponenten vom Oxydationsmittel leicht angegriffen würde.

Wie im Verlauf dieser Untersuchungen gefunden wurde und im nachfolgenden auseinandergesetzt wird, kommt dem Anil weder Formel I noch II zu, und deshalb konnte die Kenntnis seiner Struktur auch nicht zum Verständnis des Mechanismus der acetylierenden Wirkung von Brenztraubensäure führen, die sich im Zustand der Oxydation befindet. Die Erklärung hierfür ist von P. Karrer und Mitarbb.<sup>2)</sup> gegeben worden, die zeigten, daß sich im inerten Lösungsmittel aus Brenztraubensäureester und Persäuren ein gemischtes Anhydrid aus Essigsäure und Kohlensäurehalbester bildet, dem die acetylierende Wirkung zuzuschreiben ist. Auch bei unseren, in wäßriger Lösung ausgeführten Oxydationsversuchen muß man die Entstehung eines Anhydrids aus Essigsäure und Kohlensäure annehmen, das außerordentlich labil ist, sich aber durch die acetylierende Wirkung auf Anilin verrät und seine Entstehung einer Umlagerungsreaktion verdankt, die am besten so formuliert wird:



Diacetyl wirkt unter denselben Bedingungen ebenfalls acetylierend nach Umwandlung in Acetanhydrid.

Die Zweifel an der Richtigkeit von Formel I für das Brenztraubensäure-anil rückten, wie erwähnt, eine tautomere Acrylsäureformulierung in den Bereich der Möglichkeiten, da von einer solchen keine übersichtliche Reaktion mit Wasserstoffperoxyd zu Acetanilid zu erwarten war. Beim Vorliegen einer solchen Struktur sollte aber die Einwirkung von Diazomethan oder Thioessigsäure unter der wohlbekannten Anlagerung an die C=C-Doppelbindung zu einem Pyrazolin- bzw. Cysteinderivat führen. Beide Umsetzungen lieferten jedoch kristallisierte Produkte abweichender Zusammensetzung. Vor der Aufklärung ihrer Konstitution wurden deshalb zunächst einfachere analytische Bestimmungen am Kondensationsprodukt von Brenztraubensäure mit Anilin ausgeführt.

<sup>2)</sup> P. Karrer, Ch. Cochand u. N. Neuss, *Helv. chim. Acta* **29**, 1836 [1946]; P. Karrer u. F. Haab, ebenda **32**, 950 [1949]; P. Karrer u. Th. Hohl, ebenda **32**, 1932 [1949].

Das „Anil“ bildet sich beim Zusammengeben der beiden frisch destillierten Komponenten in Äther, wobei es bald in feinen Nadeln ausfällt, die mit heißem Chloroform farblos erhalten werden. Sie schmelzen bei  $122^{\circ}$ , haben die erwartete analytische Zusammensetzung  $C_9H_9O_2N$  und sind in Wasser wenig mit nur schwach saurer Reaktion löslich. Die Äquivalentgewichtsbestimmung durch Titration mit Lauge lieferte das berechnete Mol.-Gewicht von 163, wenn man in überschüssiger Lauge auflöste und mit Salzsäure gegen Bromthymolblau zurücktitrierte. Führt man die Titration jedoch an der in Dioxan gelösten Substanz mit Lauge gegen Phenolphthalein aus, so wurde nur etwa die Hälfte verbraucht, und es resultierte ein Mol.-Gewicht von 306. Auch bei einer kryoskopischen Mol.-Gewichtsbestimmung in Dioxan erhielt man einen Wert von 298, so daß dem „Anil“ die verdoppelte Formel  $C_{18}H_{18}O_4N_2$  zukommen muß. Durch überschüssiges Alkali wird in ihm eine zweite saure Gruppe gebildet und so das Äquivalentgewicht von 163 erhalten.

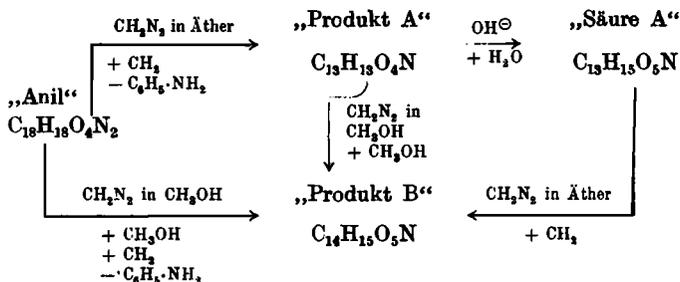
### I. Reaktion mit Diazomethan

Für eine doppelte Formel spricht nun auch das analytische und chemische Verhalten des Reaktionsprodukts aus dem Anil und Diazomethan. Hierbei ist es nicht gleichgültig, ob man diese Umsetzung in Äther, Benzol oder Essigester einerseits oder aber in verschiedenen Alkoholen vornimmt.

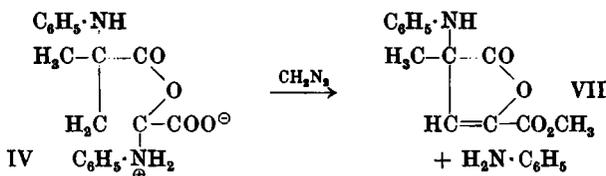
A. Methylierung in Äther: Das „Anil“ geht beim Versetzen seiner Aufschlammung in Äther mit ätherischer Diazomethanlösung unter Stickstoff-Entwicklung völlig in Lösung, dann scheiden sich derbe Kristalle vom Schmp.  $128^{\circ}$  aus (Produkt A). Die Ätherlösung enthält nun freies Anilin, und demgemäß zeigt die Verbindung einen Mindergehalt von  $C_6H_5 \cdot NH_2$  und Mehrgehalt von  $CH_2$  gegenüber der  $C_{18}$ -Formel, also  $C_{13}H_{13}O_4N$ . Es enthält eine Methoxylgruppe (Ester) und liefert mit  $HNO_2$  ein gelbes kristallisiertes Nitrosamin, ist also ein sek. Amin. Im UV-Spektrum ist gegenüber dem „Anil“ kein wesentlicher Unterschied zu bemerken: Beide zeigen die für ein *N*-substituiertes Anilin typischen 2 Maxima bei 250–260  $\mu$  und um 300  $\mu$ . Dasselbe Produkt A erhält man auch bei der Methylierung in Benzol oder Essigester. Durch milde alkalische Verseifung läßt sich daraus über das in Methanol schwerlösliche Bariumsalz eine Säure  $C_{13}H_{15}O_5N$  (Säure A) gewinnen, die offensichtlich 1 Mol. Wasser mehr als das neutrale A enthält.

B. Methylierung in Methanol: Wird das „Anil“ in Methanolaufschlammung mit ätherischer Diazomethanlösung versetzt, so tritt ebenfalls rasch Entfärbung unter Stickstoff-Entwicklung ein, und es scheiden sich danach farblose Prismen vom Schmp.  $173^{\circ}$  ab (Produkt B). Diese haben die Zusammensetzung  $C_{14}H_{17}O_5N$ , enthalten also 1  $CH_3OH$  mehr als Produkt A. Auch die Methoxylbestimmung bestätigt das Vorliegen einer Dimethoxyverbindung (Diester). Man erhält sie auch aus der Säure A mit Diazomethan in Äther, und, was zunächst schwer zu erklären war, auch aus A selbst, wenn man es in Methanol mit Diazomethan zusammenbringt, nicht aber, wenn man es im selben Lösungsmittel allein längere Zeit aufbewahrt oder zum Sieden erhitzt.

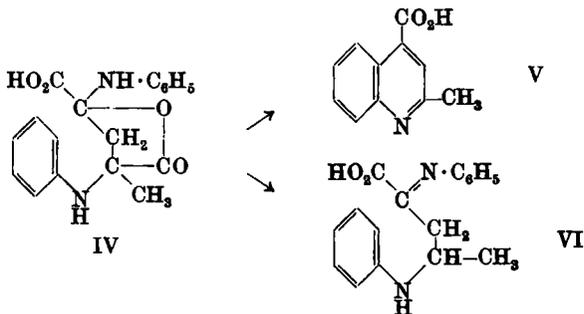
Es ergaben sich also folgende Beziehungen:



Daraus muß gefolgert werden, daß das „Anil“ aus je 2 Molekeln BTS und Anilin gebildet wird. Es resultiert eine dimere Verbindung, welche neben einer offenen, mittels Diazomethans in Äther leicht zu veresternden Carboxygruppe eine zweite Carboxylfunktion derart gebunden enthält, daß letztere erst nach Hydro- bzw. Alkoholyse zutage tritt. Bei diesen Spaltungsreaktionen wird – wie aus den Summenformeln für „Produkt A“, „Säure A“ und „Produkt B“ ersichtlich – die Dimerisierung nicht aufgehoben. Wir geben deshalb der Struktur IV eines  $\gamma$ -Lactons für das „Anil“ unter mehreren Möglichkeiten die größte Wahrscheinlichkeit.



Hierin ist von dem neben der O-Brücke befindlichen Aniliniumrest leichte Eliminierbarkeit zum Enol-Lacton A zu erwarten. Tatsächlich verhält sich das „Anil“ (IV) in wäßriger Lösung fast wie das Anilinsalz der ungesättigten Enol-Lactonsäure, da freies Anilin im Papier-Elektropherogramm mit Furfurol-Essigsäure auf der Kathodenseite eindeutig nachzuweisen ist.



Nach L. Simon<sup>3)</sup> bildet sich aus dem Böttingerschen Brenztraubensäure-anil mit konz. Schwefelsäure u. a. 2-Methyl-chinolin-carbonsäure-(4) (V) und  $\alpha$ -

<sup>3)</sup> J. Chim. physique [7] 9, 443 [1896].

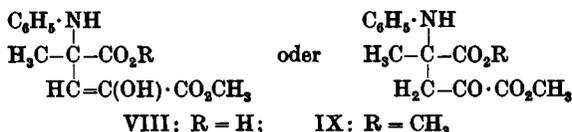
Phenylimino- $\gamma$ -phenylamino-valeriansäure (VI). Die Entstehung beider Produkte läßt sich aus Formel IV gut erklären.

Unter Abspaltung von Anilin, Wasser und Kohlenoxyd bildet sich das Chino-linsystem, bei Austritt von Kohlendioxyd das der aliphatischen  $C_5$ -Kette.

In Äther scheint das Anil mit Diazomethan ganz wie ein Gemisch aus Anilin und der ungesättigten Lactonsäure zu reagieren, denn als Umsetzungsprodukt isoliert man den anilinärmeren Monoester A, dem wir die Struktur VII geben.

Für das Vorliegen einer CO-Gruppe im gespannten (ungesättigten) 5-Ring spricht eine auffallende Doppelbande bei  $5,6 \mu$  im IR-Spektrogramm von Produkt A (VII). Beim „Anil“ (IV) ist diese nicht vorhanden. Dort beobachtet man bei  $3,90 \mu$  eine verwaschene breite Bande, die auf das Vorliegen einer  $COO^{\ominus}$ -Gruppe hinweist. Diese Bande fehlt im Spektrum von VII.

Bei milder alkalischer Verseifung wird als schwächste Stelle in VII die der O-Acyl-Enolverknüpfung aufgespalten, so daß die Estersäure A die Konstitution VIII



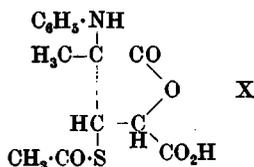
haben dürfte.

Interessant scheint uns die Reaktion des Monoesters A (VII) mit Diazomethan in methanolischer Lösung. Man erhält dabei ohne starke Stickstoff-Entwicklung einen Dimethylester, der sich auch aus VIII mit Diazomethan bildet und die Struktur IX haben muß. Das bedeutet, daß sich die Enol-Lacton-Gruppierung mit Diazomethan, aber nur in Gegenwart von Methanol, unter Alkoholyse aufspalten läßt. Die Reaktion läuft mit Methanol allein, auch beim längeren Erhitzen, nicht ab. Sie ist auch für die direkte Bildung von Produkt B (IX) aus dem „Anil“ und Diazomethan in Methanol verantwortlich. Die neu eingetretene Methylgruppe stammt aber sehr wahrscheinlich nicht aus dem Diazomethan; es hat sich nämlich gezeigt, daß mit Diazomethan in Äthylalkohol eine Äthylgruppe, mit Propylalkohol eine Propylgruppe esterartig gebunden wird, so daß man hier ein handfestes Beispiel für die Aktivierung von Alkoholen mit Diazomethan vor sich hat. Über diese Beobachtung, die zur Zeit an weiteren Beispielen näher verfolgt wird, soll später ausführlich berichtet werden.

## II. Reaktion des Anils mit Thioessigsäure

Läßt man eine Mischung aus berechneten Mengen des „Anils“ mit Thioessigsäure einige Stunden bei Zimmertemperatur stehen, so entsteht unter Schwefelwasserstoff-Entwicklung ein gelbes Öl, aus dem 3 krist. Produkte isoliert werden konnten: Eine Säure  $C_{13}H_{15}O_4NS$ , eine solche  $C_{14}H_{15}O_5NS$  und Acetanilid. Die beiden Säuren enthalten S-gebundene Acetylreste (verzögerte Nitroprussidreaktion in Ammoniak), die durch verdünntes Alkali bei  $37^{\circ}$  rasch abgespalten werden. Aus der  $C_{14}$ -Verbindung wurde so eine um  $CO \cdot CH_3$  ärmere SH-haltige Säure  $C_{12}H_{13}O_4NS$  erhalten, die in der Hitze ein

weiteres Mol. Lauge verbraucht, was wieder auf die Lactongruppierung schließen läßt. Aus der Konstitution IV für das „Anil“ ergibt sich für die C<sub>14</sub>-Säure ohne weiteres die Struktur X eines Addukts von Thioessigsäure an die C=C-Doppelbindung, die bei der leicht erfolgenden Anilinabspaltung gebildet wird.



Anilin wird durch Thioessigsäure unter Schwefelwasserstoff-Entwicklung bekanntlich leicht zu Acetanilid acetyliert<sup>4)</sup>. Die C<sub>13</sub>-Säure lieferte bisher kein definiertes Abbauprodukt, so daß über ihre Struktur noch nichts Sicheres ausgesagt werden kann.

Hrn. Dr. U. Schiedt, Tübingen, und Hrn. Dr. P. Hartmann, Hoechst, danken wir sehr für die Aufnahme mehrerer IR-Spektren sowie für ihre Diskussion, dem Fonds der Chemie für bereitgestellte Mittel.

## Beschreibung der Versuche

### I. Oxydationsversuche

1. Acetanilid aus Brenztraubensäure, Anilin und Wasserstoffperoxyd: Zu 1.9 g Anilin (0.02 Mol) in 1 ccm Wasser wurde solange tropfenweise Eisessig gegeben, bis gerade klare Lösung eingetreten war. Sodann wurde mit 9.2 g Perhydrol (enthaltend 0.08 Mol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) versetzt und auf 0° gekühlt. Zu dieser Lösung gab man tropfenweise langsam 2.2 g Brenztraubensäures Natrium (0.02 Mol) in 1 ccm Wasser, wobei Kohlendioxyd-Entwicklung eintrat. Die Temperatur wurde durch Kühlen mit Wasser auf 40° gehalten, bis die Reaktion abklang. Nach 18stdg. Aufbewahren im Kühlschrank wurde mit 2*n*NaOH auf *p*<sub>H</sub> 7–8 gebracht, nicht umgesetztes Anilin mit Wasserdampf abgeblasen, der Rückstand auf dem Wasserbad auf 5 ccm eingeengt und heiß filtriert. Aus dem Filtrat fielen beim Abkühlen 0.12 g Acetanilid aus. Dieses wurde nach Umkristallisation aus Alkohol durch Schmelzpunkt und Misch-Schmp. identifiziert.

2. Acetylierung von Albuclid mit Brenztraubensäure und Wasserstoffperoxyd: 0.9 g Brenztraubensäure und 2.1 g Albuclid (0.01 Mol) wurden in je 5 ccm 2*n*NaOH zur Lösung gebracht und mit 3 ccm Perhydrol zusammen gegeben. Unter CO<sub>2</sub>-Entwicklung und Erwärmung schieden sich seidenglanzende, schwachrötliche Nadeln ab, die abgesaugt und aus β-Oxypropionitril/Wasser umkristallisiert wurden. Schmp. 253°; Misch-Schmp. mit *N,N'*-Diacetyl-sulfanilsäureamid 253°.

3. Benzanilid aus Phenylglyoxylsäure, Anilin und Wasserstoffperoxyd: 1.9 g Anilin, in 1 ccm Wasser wie unter 1. als Acetat gelöst, wurden mit 2.3 g Perhydrol versetzt und unter mäßiger Kühlung, so daß die Temperatur nicht über 40° anstieg, tropfenweise mit einer Lösung von 3.5 g phenylglyoxylsaurem Kalium (0.02 Mol) vermischt. Die nach Ansäuern erhaltenen Kristalle wurden abgesaugt, erst mit Wasser/Salzsäure, dann mit reinem Wasser gewaschen und schließlich in 2*n* Natronlauge aufgenommen, wobei 0.07 g Benzanilid ungelöst blieben, die mehrmals aus Alkohol umkristallisiert und durch Misch-Schmelzpunkt identifiziert wurden; Schmp. 161°. Aus der alkalischen Lösung fielen beim Ansäuern 1.64 g Benzoesäure.

### II. Versuche zur Konstitutionsaufklärung am Brenztraubensäure-„anil“

4. Darstellung des „Anils“<sup>5)</sup>: 17.6 g Brenztraubensäure und 38.6 g Anilin (beide frisch destilliert) wurden in je 100 ccm Äther gelöst und bei Zimmertemperatur zusammengegeben. Unter Erwärmung und Kohlendioxyd-Entwicklung färbte sich das

<sup>4)</sup> Br. Pawlewski, Ber. dtsh. chem. Ges. **31**, 661 [1898]; **35**, 110 [1902].

<sup>5)</sup> C. Böttinger, Ber. dtsh. chem. Ges. **10**, 818 [1877].

Gemisch bald dunkelgelb. Durch Reiben mit einem Glasstab oder Impfen wurde die Kristallisation in Gang gebracht. Der Ansatz blieb dann 3 Stdn. bei Zimmertemperatur und anschließend 2 Stdn. im Kühlschrank stehen. Die abgesaugte Kristallmasse wurde mit Äther farblos gewaschen, dann 2mal mit je 100 ccm absol. Äther und schließlich 2mal mit trockenem Chloroform je 10 Min. ausgekocht. Nach dem Absaugen und Trocknen hinterblieben 20 g feinkristallines, fast farbloses „Anil“. Schmp. 122° (Zers.).

$C_6H_9O_2N$  (163.2) Ber. C 66.24 H 5.56 N 8.59 Gef. C 65.92 H 5.78 N 8.45

Molekulargewichtsbestimmung durch Kryoskopie in Dioxan:

Einwaage Anil .....	0.1136 g
„ Dioxan .....	20.658 g (20 ccm bei 20°)
$\Delta T$ .....	0.09°

Mol.-Gew. Ber. 326.3 Gef. 288 Fehler -8.75%

Äquivalentgewichtsbestimmung durch Titration:

a) Eine eingewogene Menge „Anil“ wurde in 50 ccm absol. Dioxan gelöst und mit  $n/_{10}$  NaOH gegen Phenolphthalein rasch austitriert.

1. Einwaage: 168.5 mg	2. Einwaage: 157.2 mg
Verbr. $n/_{10}$ NaOH 5.5 ccm	Verbr.: $n/_{10}$ NaOH 5.1 ccm

Äquivalentgewicht für eine Carboxylfunktion

Gef. 301	Ber. 326.3	Gef. 306
Fehler -7.65%		-6.15%

b) Eine eingewogene Menge „Anil“ wurde in 20 ccm  $n/_{10}$  NaOH gelöst und mit  $n/_{10}$  HCl gegen Bromthymolblau zurücktitriert.

1. Einwaage: 108.6 mg	2. Einwaage: 116.8 mg
Verbr. $n/_{10}$ HCl 13.55 ccm	Verbr. $n/_{10}$ HCl 12.95 ccm
Verbr. $n/_{10}$ NaOH 6.45 ccm	Verbr. $n/_{10}$ NaOH 7.05 ccm

Äquivalentgewicht für eine Carboxylfunktion

Gef. 168.5	Ber. 163.15	Gef. 165.5
Fehler +3.4%		+1.55%

5. Umsetzungen von Brenztraubensäure-„anil“ mit Diazomethan. A. In Äther: 4 g „Anil“ wurden in 20 ccm absol. Äther suspendiert und mit 200 ccm frisch bereiteter ätherischer Diazomethan-Lösung (aus 20 g Nitrosomethylharnstoff) versetzt. Die Reaktion verlief unter lebhafter Stickstoffentwicklung, und das Anil ging völlig in Lösung. Der Ansatz blieb 2 Stdn. bei Zimmertemperatur und anschließend über Nacht im Kühlschrank stehen. Am nächsten Tage wurde von den ausgeschiedenen Kristallen abgesaugt und diese aus Methanol umkristallisiert (1. Frakt.). Die Mutterlauge wurde i. Vak. bei 30° abgedampft und der teils ölige, teils kristalline Rückstand ebenfalls aus Methanol umkristallisiert (2. Frakt.). Durch Misch-Schmelzpunkt erwiesen sich beide Fraktionen als identisch. Schmp. 128° (Zers.). Ausb. 2.4 g.

Das gleiche Produkt A (VII) wurde erhalten, wenn man statt Äther Benzol oder Essigester als Lösungsmittel benutzte.

$C_{13}H_{15}O_4N$  (247.2) Ber. C 63.10 H 5.27 N 5.66 Methoxyl 12.55  
Gef. C 62.96 H 5.34 N 5.61 „ 12.64

Mol.-Gew. 272 (ebullioskop. in Methanol), 270 (dch. alkalische Verseifung)

Die Verbindung läßt sich auch aus Benzol umkristallisieren. Sie enthält dann  $1/2$  Mol. Kristallbenzol.

$C_{13}H_{15}O_4N + 1/2 C_6H_6$  (286.3) Ber. C 67.10 H 5.59 N 4.90 Gef. C 66.76 H 5.77 N 5.03

In den Mutterlaugen war papierchromatographisch Anilin nachzuweisen. Die Sichtbarmachung erfolgte durch Besprühen mit einer 10-proz. Lösung von Furfurol in 50-proz. Essigsäure. (Himbeerroter Fleck von gleichem  $R_f$  wie authentisches Anilin.)

Nitrosamin von A (VII): 0.2 g der nach 5. gewonnenen Substanz wurden in 4 ccm Eisessig gelöst und die Lösung mit 4 ccm Wasser versetzt, wobei teilweise Ausfällung

erfolgte. Die Lösung wurde auf 0° abgekühlt, mit 0.2 ccm 5n NaNO<sub>2</sub> versetzt und noch 1 Stde. im Eisbad belassen. Das gelbe Pulver wurde abgesaugt, sofort in wenig siedendem Methanol gelöst und rasch filtriert. Die Lösung wurde rasch abgekühlt, abgesaugt und die Reinigung in gleicher Weise wiederholt. Schöne gelbe Nadelchen vom Schmp. 128° (Zers.). Ausb. 0.1 g.

C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub> (276.2) Ber. C 56.60 H 4.35 N 10.15 Gef. C 55.83 H 4.61 N 10.30

Milde alkalische Verseifung von A (VII): 1.2 g der nach 5. A. gewonnenen Substanz wurden kalt in 50 ccm absol. Methanol gelöst und mit 5 ccm einer 1 n Lösung von Natriumhydroxyd in absol. Methanol versetzt. Der Ansatz blieb über Nacht bei Zimmertemperatur stehen. Dann wurden 20 ccm 1 n methanol. Bariumhydroxyd zugesetzt und das ausgefallene Bariumsalz abzentrifugiert. Das Salz wurde 2mal mit frischem Methanol aufgerührt und erneut zentrifugiert. Nach dem Trocknen im Vak.-Exsiccator wurde das Bariumsalz mit 50 ccm 2n H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> zerlegt und die wäßrig-saure Phase mehrfach ausgeäthert. Die vereinigten Auszüge wurden über Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert und i. Vak. bei 30° zur Trockne gedampft. Der ölige Rückstand erstarrte beim Anreiben und ließ sich aus Methanol umkristallisieren: „Säure A“ (VIII), Schmp. 167° (Zers.). Ausb. 0.6 g.

C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>O<sub>5</sub>N + CH<sub>3</sub>OH (307.3) Ber. C 56.65 H 6.40 N 4.72 Gef. C 57.04 H 6.31 N 5.02

B. in Methanol: 2 g „Anil“ wurden in 50 ccm absol. Methanol aufgeschlämmt und mit 100 ccm frischer äther. Diazomethan-Lösung (aus 10 g Nitrosomethylharnstoff) versetzt. Die Reaktion verlief unter lebhafter Stickstoffentwicklung, wobei das Anil allmählich restlos in Lösung ging. Der Ansatz blieb 3 Stdn. bei Zimmertemperatur und dann über Nacht im Kühlschrank stehen. Es war nur geringfügige Kristallisation eingetreten, daher wurde die Lösung i. Vak. bei 30° zur Trockne gedampft und der Rückstand aus 10 ccm Methanol umkristallisiert. „Produkt B“ (IX), Schmp. 173°. Ausb. 1.1 g.

C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>O<sub>5</sub>N (279.3) Ber. C 60.25 H 6.09 N 5.02 Methoxyl 22.20  
Gef. C 60.70 H 6.34 N 5.12 „ 20.24

6. Umsetzung von A (VII) mit Diazomethan in Methanol: 0.5 g der Substanz wurden in 20 ccm absol. Methanol gelöst und mit 30 ccm äther. Diazomethan-Lösung (aus 3 g Nitrosomethylharnstoff) versetzt. Lebhaftige Stickstoffentwicklung. Der Ansatz blieb 1 Stde. bei Zimmertemperatur und dann über Nacht im Kühlschrank stehen. Dann wurde die Lösung i. Vak. bei 30° zur Trockne gedampft und der Rückstand aus Methanol umkristallisiert. Schmp. 173°. Die Verbindung erwies sich durch Mischschmelzpunkt als identisch mit „Produkt B“ (IX).

7. Umsetzung der „Säure A“ (VIII) mit Diazomethan: 0.3 g der Säure wurden in wenig Äther gelöst und mit 20 ccm äther. Diazomethan-Lösung (aus 2 g Nitrosomethylharnstoff) versetzt. Mäßige Stickstoffentwicklung. Der Ansatz blieb 2 Stdn. bei Zimmertemperatur und dann über Nacht im Kühlschrank stehen. Die ausgeschiedenen Kristalle wurden abgesaugt und 2mal aus Methanol umkristallisiert. Schmp. 172°. Die Verbindung ist gemäß Mischschmelzpunkt und Analyse mit dem Ester „Produkt B“ (IX) identisch.

C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>O<sub>5</sub>N (279.3) Ber. C 60.25 H 6.09 N 5.02 Gef. C 60.50 H 5.88 N 5.59

8. Umsetzung des Brenztraubensäure-anils mit Thioessigsäure: 16.3 g „Anil“ und 15.7 g frisch über Diphosphorpentoxyd destillierte Thioessigsäure wurden mit einigen Kriställchen Hydrochinon zusammengegeben und 1.5 Stdn. unter Feuchtigkeitsausschluß bei Zimmertemperatur stehengelassen. Unter anfangs kräftiger Schwefelwasserstoff-Entwicklung entstand ein zähes gelbes Öl. Dieses wurde mit 50 ccm trockenem Chloroform verrieben und vom Ausgeschiedenen (a) durch Absaugen befreit. Sodann wurde die Chloroformlösung mehrmals mit Hydrogencarbonatlösung ausgeschüttelt, bis alle sauren Bestandteile entfernt waren. Beim Ansäuern der hydrogencarbonat-alkalischen Lösung mit 2n HCl wurde eine zweite Kristallfraktion erhalten (b). Beim Eindunsten des Chloroforms hinterblieb Acetanilid (c).

Reinigung: a) (9.8 g) wurde in Hydrogencarbonatlösung gelöst, mit 2*n*HCl ausgefällt, abgesaugt und kurz auf Ton getrocknet. Nach Auflösen in 10 ccm Methanol wurde filtriert und mit dem 4fachen Volumen Wasser versetzt. Nach kurzer Zeit fiel die Säure X in glänzenden Nadeln aus. Schmp. 153° (Zers.). Ausb. 8.5 g.

$C_{14}H_{16}O_6NS$  (309.3) Ber. C 54.36 H 4.98 N 4.53 S 10.36

Gef. C 54.18 H 5.34 N 4.38 S 10.54

b) (5.9 g) wurde wie a) behandelt, dabei resultierten 5.2 g der  $C_{13}$ -Säure in glänzenden Blättchen. Schmp. 143° (Zers.). Ausb. 5.2 g.

$C_{13}H_{15}O_4NS$  (281.3) Ber. C 55.49 H 5.37 N 4.98 S 11.39

Gef. C 55.52 H 5.38 N 4.54 S 10.95

c) wurde mehrfach aus Alkohol umkristallisiert, dabei resultierten 5.3 g Acetanilid, das durch Misch-Schmelzpunkt identifiziert wurde.

9. Alkalische Spaltung der  $C_{14}$ -Säure (X): 2 g der  $C_{14}$ -Säure (X) wurden mit 7 ccm 2*n*NaOH 6 Stdn. bei 37° stehengelassen, dann erst bei  $p_H$  3.5 und darnach bei  $p_H$  2 ausgeäthert. Die erste Fraktion ergab beim Abdunsten des Äthers nur wenige Tropfen eines scharf riechenden Öles (Thioessigsäure?). Bei der zweiten Fraktion hinterblieben gelbliche Kristalle, die getrocknet, mit Petroläther gewaschen und aus Methanol bis zur Farblosigkeit umkristallisiert wurden. Ihre Nitroprussidreaktion war positiv. Schmp. 175° (Zers.). Ausb. 1.1 g.

$C_{12}H_{13}O_4NS$  (267.3) Ber. C 53.92 H 4.90 N 5.24 S 11.99

Gef. C 53.87 H 5.21 N 5.20 S 11.45

## 97. Theodor Wieland, Joachim Franz\*) und Gerhard Pfeleiderer: Über die Bildung von Aminosäuren aus $\alpha$ -Keto-aldehyden

[Aus dem Institut für organische Chemie der Universität Frankfurt a. M.]

(Eingegangen am 11. Februar 1955)

$\alpha$ -Keto-aldehyde verwandeln sich in  $\alpha$ -Aminosäuren, wenn man sie in Gegenwart von Ammoniumsalzen zusammen mit Mercaptanen einige Stunden bei Zimmertemperatur in wäbr. Lösung vom  $p_H$  ca. 7 aufbewahrt. Die Umsetzungsprodukte aus Glyoxal, Methylglyoxal und Oxymethylglyoxal (Redukton) konnten als Dinitrophenylderivate des Glycins, Alanins und Serins isoliert, *C*-Phenylglycin (aus Phenylglyoxal), Phenylalanin (aus Benzylglyoxal) und Leucin (aus Isobutylglyoxal) papierchromatographisch nachgewiesen werden. Primäre Amine werden wie Ammoniak eingebaut, sekundäre reagieren nicht, ebensowenig wie 1.2 Diketone mit Ammoniak. Über den Mechanismus dieser vielleicht auch biologisch möglichen Reaktion kann auf Grund der Versuchsergebnisse einiges ausgesagt werden.

Beim Behandeln mit Alkali erleiden  $\alpha$ -Keto-aldehyde eine innermolekulare Wasserstoffverschiebung, als deren Ergebnis  $\alpha$ -Oxy-carbonsäuren entstehen. Eine ähnliche Reaktion tritt auch in Gegenwart der Enzyme Glyoxalase I und II ein, die Methylglyoxal in Milchsäure verwandeln<sup>1)</sup>. Als Coenzym der Glyoxalase II ist Glutathion erkannt worden<sup>2)</sup>, an dessen S-Atom sich die geschilderte Reaktion abspielt. Die erste durch Glyoxalase I katalysierte Stufe besteht in der Vereinigung des Keto-aldehyds mit der SH-Gruppe des

\*) Dissertat. Universität Frankfurt a. M., 1955.

<sup>1)</sup> C. Neuberg, Biochem. Z. 49, 502 [1913].

<sup>2)</sup> K. Lohmann, Biochem. Z. 254, 332 [1932].