

120. Oxydativer Abbau von Uronsäuren und Derivate der Trioxyglutarsäuren

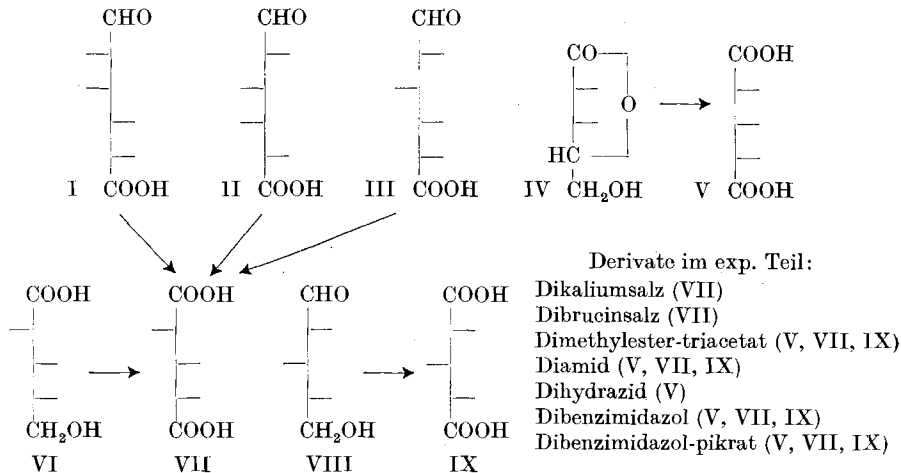
von E. Hardegger, K. Kreis und D. Spitz.

(14. III. 52.)

Die im folgenden beschriebenen Versuche wurden im Zusammenhang mit der Identifizierung von Hexuronsäuren in Naturstoffen durchgeführt; diese Identifizierung bereitet mangels analytisch geeigneter Uronsäure-Derivate immer noch grosse Schwierigkeiten.

Durch Oxydation zu den antipoden Manno- bzw. Ido-zuckersäuren und Identifizierung der letzteren, z. B. als Dibenzimidazole¹⁾, können nur D- und L-Mannuron- und D- und L-Iduronsäure auf einfache Weise erkannt werden (vgl. Tab.). Jede der übrigen Zucker- bzw. Schleimsäuren leitet sich von je 2 Alduronsäuren ab, wodurch eine eindeutige Identifizierung dieser Aldehydsäuren verunmöglicht wird.

Wie wir fanden, lassen sich D-Mannuronsäure (I), D-Galakturonsäure²⁾ (II) und D-Glucuronsäure (III) mit Sauerstoff in alkalischer Lösung in guter Ausbeute zu D-Arabo-trioxyglutarsäure (VII) abbauen. Die experimentellen Bedingungen des Abbaus sind gleich jenen,



¹⁾ Vgl. z. B. R. Lohmar, R. J. Dimler, S. Moore & K. P. Link, J. Biol. Chem. **143**, 551 (1942). Bisher wurden nur die Dibenzimidazole von D-Zucker-, D-Manno-zuckersäure und Schleimsäure hergestellt. Vgl. auch die Zusammenfassungen über Benzimidazole von J. B. Wright, Chem. Rev. **48**, 397 (1951), und von N. K. Richtmyer, Advances in Carbohydrate Chemistry, Vol. 6, p. 175 (1951).

²⁾ Vgl. dazu H. S. Isbell, U.S.P. 2 338 114; H. S. Isbell & N. B. Holt, J. Res. Natl. Bur. Stand. **35**, 433 (1945).

die erstmals von *Spengler & Pfannenstiel*¹⁾ für die Oxydation von Aldosen und Ketosen zu den um ein C-Atom kürzeren Aldonsäuren angegeben wurden. Es besteht kein Zweifel, dass sich auch andere Hexuronsäuren in gleicher Weise in Trioxyglutarsäuren umwandeln lassen.

Für sich allein betrachtet ist der von der reduzierenden Gruppe her erfolgende Abbau zu Trioxyglutarsäuren für die Identifizierung der Aldo-hexuronsäuren wertlos. Vergleicht man jedoch die aus einer unbekanntem Hexuronsäure erhaltene Schleim-, bzw. Zuckersäure mit der durch Abbau derselben Hexuronsäure gefundenen Trioxyglutarsäure, so kann mit Hilfe der beiden Dicarbonsäuren eine eindeutige Identifizierung der ursprünglich vorliegenden, unbekanntem Hexuronsäure vorgenommen werden. Von den 16 stereoisomeren Aldohexuronsäuren sind 14 auf die vorstehend erläuterte Weise bestimmbar (vgl. Tab.)²⁾; nur zwischen D- und L-Alluronsäure kann nicht unterschieden werden.

Gefundene Trioxyglutarsäure	Gefundene Zucker- bzw. Schleim-säure	Aldo-hexuronsäure identifiziert als
Ribo-	Allo-schleim-	D- und L-Alluronsäure; nicht unterscheidbar.
Ribo-	D-Talo-schleim-	
Ribo-	L-Talo-schleim-	L-Altruronsäure
D-Arabo-	D-Zucker-	D-Glucuronsäure
L-Arabo-	L-Zucker-	L-Glucuronsäure
nicht erforderlich	D-Manno-zucker- L-Manno-zucker-	D-Mannuronsäure
		L-Mannuronsäure
Xylo-	L-Zucker-	D-Guluronsäure
Xylo-	D-Zucker-	L-Guluronsäure
nicht erforderlich	D-Ido-zucker- L-Ido-zucker-	D-Iduronsäure
		L-Iduronsäure
D-Arabo-	Schleim-	D-Galakturonsäure
L-Arabo-		L-Galakturonsäure
D-Arabo-	D-Talo-schleim-	D-Taluronsäure
L-Arabo-	L-Talo-schleim-	L-Taluronsäure

Aus der Literatur ergibt sich, dass die Trioxyglutarsäuren überraschend wenig untersucht wurden. D- und L-Arabo- und Xylo-trioxyglutarsäure sind kristallisiert; Ribo-trioxyglutarsäure kann als kristallisierte Lactonsäure erhalten werden. An leicht zugänglichen Derivaten sind lediglich einige Metall- bzw. Alkaloidsalze bekannt.

Wir haben zu Vergleichszwecken die Trioxyglutarsäure VII auch aus D-Arabonsäure (VI), V aus D-Ribonsäure- γ -Lacton (IV)³⁾ und IX

¹⁾ Vgl. dazu *E. Hardegger, K. Kreis & H. El. Khadem*, *Helv.* **34**, 2343 (1951); **35**, 618 (1952); dort auch frühere Literatur.

²⁾ Voraussetzung hierfür sind leicht identifizierbare Derivate der Zucker- und Schleimsäuren.

³⁾ Vgl. dazu *E. Fischer & O. Piloty*, *B.* **24**, 4214 (1891).

aus D-Xylose¹⁾ (VIII) durch Oxydation mit Salpetersäure hergestellt und jeweils über das entsprechende Dimethylester-triacetat isoliert. Ribo-trioxyglutarsäure-dimethylester-triacetat schmolz bei 72°; die beim Xylo-dimethylester-triacetat beobachtete opt. Drehung von -4° ist infolge der auf $C_{13}H_{18}O_{10}$ stimmenden Analysenwerte auf eine nur geringfügige optisch aktive Verunreinigung zurückzuführen.

Die aus den drei Dimethylester-triacetaten hergestellten, gut kristallisierten Trioxyglutarsäure-diamide schmolzen unter Zersetzung; Schmelz- bzw. Zersetzungstemperatur variierte stark je nach Reinheit der Präparate. Zur Charakterisierung der Trioxyglutarsäuren sind die Dibenzimidazole²⁾ und ihre Pikrate eher geeignet, obwohl auch diese unter Zersetzung schmolzen. Für weitere Derivate vgl. den experimentellen Teil.

Wir danken der *Rockefeller Foundation* in New York für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil³⁾.

Oxydation von D-Mannuron⁴⁾, D-Galakturon⁵⁾- und D-Glucuronsäure (I, II, III). Isolierung der D-Arabo-trioxyglutarsäure (VII) als Brucinsalz, Dibenzimidazol und Kaliumsalz.

Die auf 0° gekühlte Lösung von 5,9 g (11 Millimol) Bariumsalz der D-Mannuronsäure in 60 cm³ Wasser wurde zu 10 g krist. Bariumhydroxyd in 120 cm³ eiskaltem Wasser gegeben. Die Oxydation erfolgte bei 20° unter Sauerstoff, bei intensiver Durchwirbelung der Mischung mittels eines Vibrators. Nach 20 Std. waren 350 cm³ O₂ (ber. 273 cm³ O₂) verbraucht. Überschüssiges Barium wurde mit CO₂ gefällt und die fast farblose Lösung durch 80 cm³ Wofatit KS filtriert. Das Filtrat wurde im Vakuum zur Trockene eingedampft und der leicht bräunliche Rückstand (2,5 g) in 40 cm³ warmem Wasser mit 12 g Brucin versetzt. Nach Erkalten wurde das überschüssige Brucin mit Chloroform ausgeschüttelt und die wässrige Lösung im Vakuum zur Trockene eingedampft. Das Brucinsalz kristallisierte aus Wasser im Verlauf einiger Tage in Warzen (3,8 g). Das aus Wasser umkristallisierte hygroskopische Analysenpräparat vom Smp. 152—154° (Zers.) wurde 24 Std. bei 75° im Hochvakuum getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

3,744 mg Subst. gaben 8,656 mg CO₂ und 2,064 mg H₂O

$C_{51}H_{60}O_{15}N_4$ Ber. C 63,22 H 6,24% Gef. C 63,09 H 6,17%

$[\alpha]_D = -17,5^{\circ}$ (c = 0,8 in Wasser)

Die nicht kristallisierten Anteile aus der Herstellung des Brucinsalzes wurden auf freie Säure (0,8 g) verarbeitet, die nach der unten gegebenen Vorschrift 130 mg D-Arabo-trioxyglutarsäure-dibenzimidazol vom Smp. 227—229° (Zers.) lieferte.

Ansatz für die Oxydation von 1,13 g (5,8 Millimol) D-Galakturonsäure⁶⁾: 3 g krist. Bariumhydroxyd und 40 cm³ Wasser. Nach 48 Std. waren 180 cm³ O₂ (ber.

¹⁾ Vgl. dazu *H. J. Wheeler & B. Tollens*, A. **254**, 318 (1889).

²⁾ Hergestellt nach der von *K. P. Link* und Mitarb. (l. c.) gegebenen Vorschrift.

³⁾ Alle Smp. sind korrigiert.

⁴⁾ Die durch Hydrolyse von Alginsäure nach *H. A. Spoehr*, Arch. Biochem. **14**, 153 (1947), hergestellte D-Mannuronsäure lag als rohes Brucinsalz vor; das aus dem Brucinsalz bereitete mannuronsaure Barium wurde in ungereinigtem Zustand für die Oxydation verwendet.

⁵⁾ Wir danken Herrn Prof. Dr. *H. Deuel*, ETH. Zürich, für die Überlassung von D-Galakturonsäure.

⁶⁾ *H. El. Khadem*, Diss. ETH. 1950, oxydierte mit O₂ und verd. KOH zur D-Arabo-trioxyglutarsäure, die als Dikaliumsalz isoliert wurde.

145 cm³ O₂) verbraucht. Nach Behandlung mit CO₂ und 20 cm³ Wofatit KS wurde die freie Säure VII (1 g) ins Dibenzimidazol umgewandelt. Das einmal aus Methanol-Wasser umkristallisierte Präparat (540 mg) schmolz bei 226–228° (Zers.).

Ansatz für die Oxydation von 1,0 g (5,6 Millimol) D-Glucuron: 1,1 g KOH und 40 cm³ Wasser. Nach 28 Std. waren 150 cm³ O₂ (ber. 140 cm³ O₂) verbraucht. Nach Filtration durch 40 cm³ Wofatit KS wurde die freie Säure VII in 10 cm³ warmem Wasser mit 0,8 g Kaliumcarbonat versetzt. Der im Vakuum auf 5 cm³ eingeeengten Lösung wurde bis zur Trübung wenig Alkohol zugesetzt, worauf das Dikaliumsalz von VII in Nadeln (170 mg) kristallisierte. Das mehrmals aus Wasser-Alkohol umkristallisierte Analysenpräparat wurde 24 Std. bei 50° im Hochvakuum getrocknet.

3,930 mg Subst. gaben 3,335 mg CO₂ und 0,843 mg H₂O
 C₅H₆O₇K₂ Ber. C 23,43 H 2,36% Gef. C 23,15 H 2,40%
 $[\alpha]_D = -5,5^{\circ}$ (c = 1,2 in Wasser)

Aus den nicht kristallisierten Mutterlaugen konnten noch 170 mg Dibenzimidazol vom Smp. 227–229° (Zers.) gewonnen werden.

Oxydation von D-Arabonsäure (VI). Isolierung der D-Arabo-trioxyglutarsäure (VII) als Dimethylester-triacetat.

Die aus 20 g Kalium-arabonat hergestellte¹⁾ sirupöse D-Arabonsäure wurde in 17 cm³ HNO₃ (d = 1,2) 2 Std. auf 60° erwärmt. Nach Entfernen der flüchtigen Anteile im Vakuum und Zugabe von 100 cm³ Wasser wurde die Lösung mit überschüssigem BaCO₃ neutralisiert. Aus der bräunlichen Lösung wurden mit Alkohol 17 g amorphes Bariumsalz gefällt. Das Bariumsalz wurde in 300 cm³ 3-proz. methanolischer Salzsäure 2 Std. am Rückfluss gekocht. Vom Unlöslichen wurde abfiltriert, das Filtrat eingedampft, der Eindampfrückstand mit 20 cm³ Pyridin und 20 cm³ Acetanhydrid 16 Std. bei 20° gehalten, nochmals filtriert und die flüchtigen Anteile im Vakuum abgesaugt. Aus dem Rückstand wurden mit 200 cm³ heissem Benzol 6,5 g lösliche Anteile extrahiert, die an 150 g Aluminiumoxyd mittlerer Aktivität chromatographiert wurden. Benzol eluierte 4,2 g D-Arabo-trioxyglutarsäure-dimethylester-triacetat in Form eines hellen Öls. Das Analysenpräparat wurde dreimal im Hochvakuum bei 140° im Kugelrohr destilliert.

3,991 mg Subst. gaben 6,868 mg CO₂ und 1,903 mg H₂O
 C₁₃H₁₈O₁₀ Ber. C 46,70 H 5,43% Gef. C 46,96 H 5,34%
 $[\alpha]_D = +31^{\circ}$ (c = 2 in Chloroform)

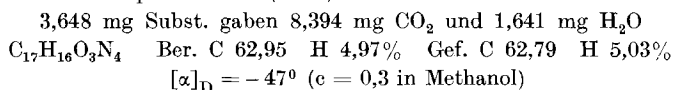
D-Arabo-trioxyglutarsäure-diamid aus Dimethylester-triacetat. Die Lösung von 4 g Dimethylester-triacetat in 100 cm³ Methanol wurde bei 0° mit NH₃ gesättigt, wobei 1,9 g Diamid auskristallisierten. Das dreimal aus Wasser umkristallisierte Präparat vom Smp. 190° (Zers.) wurde zur Analyse 24 Std. bei 60° im Hochvakuum getrocknet.

3,830 mg Subst. gaben 4,701 mg CO₂ und 1,906 mg H₂O
 C₅H₁₀O₅N₂ Ber. C 33,71 H 5,66% Gef. C 33,50 H 5,57%
 $[\alpha]_D = -40^{\circ}$ (c = 1 in Wasser)

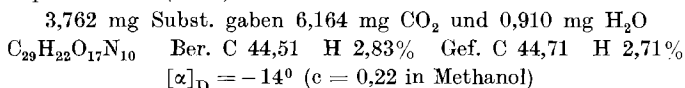
D-Arabo-trioxyglutarsäure-dibenzimidazol aus Diamid. 0,5 g (2,8 Millimol) Diamid, 0,8 g (7,4 Millimol) o-Phenylendiamin, 1,1 cm³ konz. Salzsäure, 0,6 cm³ konz. Phosphorsäure und 2,5 cm³ Diäthylenglykol wurden unter Umschütteln bei 100° gehalten, bis eine homogene Lösung entstand. Die Lösung wurde 2 Std. auf 135° erwärmt, noch heiss mit 5 cm³ Wasser verdünnt und nach Zugabe von wenig Aktivkohle durch Celit filtriert. Dem noch warmen Filtrat wurde tropfenweise konz. Ammoniak bis zur alkalischen Reaktion zugegeben, wobei das Dibenzimidazol als brauner Niederschlag ausfiel. Das mit Wasser, Aceton, Äther gewaschene Dibenzimidazol wurde in 50 cm³ Wasser

¹⁾ Aus Glucose durch Oxydation mit Sauerstoff und Kalilauge und Entfernen der Kalium-Ionen mit Wofatit KS.

suspendiert, in der Wärme durch Zugabe von verd. Salzsäure gelöst und nach Entfärben mit Kohle wieder mit Ammoniak gefällt. Das getrocknete Präparat (750 mg) wurde zur Analyse mehrmals aus Methanol-Wasser umkristallisiert und 24 Std. bei 70° im Hochvakuum getrocknet. Smp. 232—234° (Zers.).

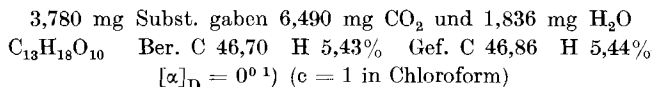


Pikrat: Die aus der erkalteten Lösung von 60 mg Dibenzimidazol und 75 mg Pikrinsäure in 5 cm³ Alkohol-Wasser (1:1) ausgeschiedenen feinen, gelben Nadelchen wurden zur Analyse aus Methanol umkristallisiert und 48 Std. bei 60° im Hochvakuum getrocknet. Smp. 228—230° (Zers.).

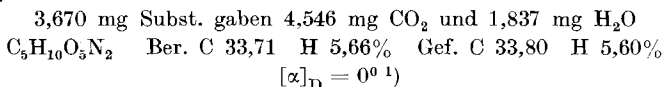


Oxydation von D-Ribonsäure-γ-Lacton (IV). Isolierung von Ribo-trioxyglutarsäure (V) als Dimethylester-triacetat.

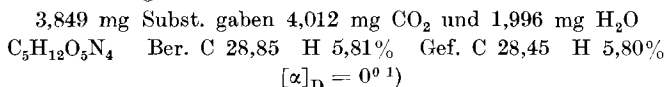
10 g D-Ribonsäure-lacton wurden mit 15 cm³ HNO₃ (d = 1,2) 2 Std. bei 60—70° oxydiert. Die Umwandlung der Oxydationsprodukte über das Bariumsalz (12 g), den Dimethylester (5 g), das rohe Dimethylester-triacetat (5,5 g) in das chromatographisch gereinigte D-Ribo-trioxyglutarsäure-dimethylester-triacetat (3 g) erfolgte wie bei der D-Arabo-trioxyglutarsäure (VII). Das Ribo-Derivat schmolz nach dem Umkristallisieren aus Äther bei 72°. Das Analysenpräparat wurde bei 70° dreimal im Hochvakuum sublimiert.



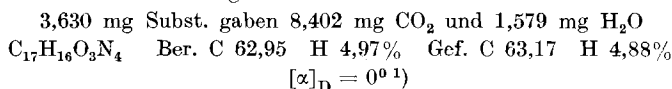
Ribo-trioxyglutarsäure-diamid aus Dimethylester-triacetat. 2,5 g Dimethylester-triacetat wurden in 30 cm³ Methanol mit NH₃ gesättigt. Nach einigen Tagen kristallisierte das Diamid in Warzen. Das aus Methanol umkristallisierte Analysenpräparat schmolz bei 150° und zersetzte sich bei 155°; es wurde 12 Std. bei 60° im Hochvakuum getrocknet.



Ribo-trioxyglutarsäure-dihydrazid aus Dimethylester-triacetat. 50 mg Dimethylester-triacetat wurden mit 0,5 g Hydrazinhydrat 1 Std. am Rückfluss gekocht. Nach Zusatz von 5 cm³ Alkohol kristallisierte das Dihydrazid in Nadeln, die, aus Wasser-Alkohol umkristallisiert, bei 197° (Zers.) schmolzen. Das Analysenpräparat wurde 48 Std. bei 80° im Hochvakuum getrocknet.



Ribo-trioxyglutarsäure-dibenzimidazol aus Diamid. 550 mg Diamid gaben 740 mg Dibenzimidazol vom Smp. 258—260° (Zers.). Das Analysenpräparat wurde 48 Std. bei 60° im Hochvakuum getrocknet.



¹⁾ Diese symmetrisch gebaute Verbindung ist optisch inaktiv.

Pikrat: Das 48 Std. bei 60° getrocknete Präparat schmolz bei 225–227° (Zers.).

3,690 mg Subst. gaben 6,024 mg CO₂ und 0,943 mg H₂O
 C₂₉H₂₂O₁₇N₁₀ Ber. C 44,51 H 2,83% Gef. C 44,55 H 2,86%
 [α]_D = 0°¹⁾

Oxydation von D-Xylose (VIII); Isolierung von Xylo-trioxyglutarsäure IX als Dimethylester-triacetat.

9 g D-Xylose wurden in 2 Std. mit 20 cm³ HNO₃ (d = 1,2) bei 60–70° oxydiert und die Oxydationsprodukte wie vorgängig beschrieben aufgearbeitet. Erhalten: 9,2 g Bariumsalz; 3,5 g Dimethylester; 3,6 g rohes Dimethylester-triacetat; daraus durch dreimalige Destillation bei 140° im Hochvakuum 1,5 g reines Dimethylester-triacetat.

3,467 mg Subst. gaben 5,953 mg CO₂ und 1,689 mg H₂O
 C₁₃H₁₈O₁₀ Ber. C 46,70 H 5,43% Gef. C 46,86 H 5,45%
 [α]_D = –4°¹⁾ (c = 1,5 in Chloroform)

Xylo-trioxyglutarsäure-diamid aus Dimethylester-triacetat. Aus der mit NH₃ gesättigten Lösung von 1,2 g Dimethylester-triacetat in 20 cm³ Methanol kristallisierten über Nacht 300 mg Diamid, das nach Entfärben mit Norit und Umkristallisieren aus Wasser bei 180° schmolz — etwas höher erfolgte Zersetzung — und das zur Analyse 24 Std. bei 60° im Hochvakuum getrocknet wurde.

3,723 mg Subst. gaben 4,582 mg CO₂ und 1,882 mg H₂O
 C₅H₁₀O₅N₂ Ber. C 33,71 H 5,66% Gef. C 33,68 H 5,67%
 [α]_D = 0°¹⁾

Xylo-trioxyglutarsäure-dibenzimidazol aus Diamid. 160 mg Diamid gaben 165 mg Dibenzimidazol vom Smp. 230–231° (Zers.), das zur Analyse 48 Std. bei 60° im Hochvakuum getrocknet wurde.

4,230 mg Subst. gaben 9,772 mg CO₂ und 1,865 mg H₂O
 C₁₇H₁₆O₃N₄ Ber. C 62,95 H 4,97% Gef. C 63,04 H 4,93%
 [α]_D = 0°¹⁾

Pikrat: Das in Nadelchen vom Smp. 220–222° krist. Präparat wurde zur Analyse 24 Std. bei 70° im Hochvakuum getrocknet.

3,750 mg Subst. gaben 6,150 mg CO₂ und 0,985 mg H₂O
 C₂₉H₂₂O₁₇N₁₀ Ber. C 44,51 H 2,83% Gef. C 44,76 H 2,94%

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Herrn W. Manser ausgeführt.

Zusammenfassung.

Die Identifizierung von Aldo-hexuronsäuren anhand von Trioxyglutar- und Zucker- bzw. Schleimsäuren wird ausführlich diskutiert.

D-Arabo-trioxyglutarsäure wurde durch Abbau von D-Mannuron-, D-Galakturon- und D-Glucuronsäure in alkalischer Lösung mit molekularem Sauerstoff und durch Oxydation von D-Arabonsäure mit Salpetersäure hergestellt. Oxydation von D-Ribonsäure- γ -Lacton und von D-Xylose mit Salpetersäure führte zu Ribo- bzw. Xylo-trioxyglutarsäure. Von den drei Trioxyglutarsäuren wurden die Dimethylester-triacetate, die Diamide, die Dibenzimidazole, die Dibenzimidazol-pikrate und einige weitere Derivate hergestellt.

Organisch-chemisches Laboratorium
 der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

¹⁾ Diese symmetrisch gebaute Verbindung ist optisch inaktiv.