

152. Le blocage de la lysine par la réaction de MAILLARD

I. Synthèse de N-(désoxy-1-D-fructosyl-1)- et N-(désoxy-1-D-lactulosyl-1)-L-lysines

par P. A. Finot et J. Mauron

Laboratoire de Recherche des PRODUITS NESTLÉ
1800 Vevey

(27 III 69)

Summary. The authors describe a specific method for the preparation of N_ϵ -(1-deoxy-D-fructosyl)-L-lysine, N_α -(1-deoxy-D-fructosyl)-L-lysine, their formyl derivatives, and N_α -formyl- N_ϵ -(1-deoxy-D-lactulosyl)-L-lysine, as well as N_α, N_ϵ -di-(1-deoxy-D-fructosyl)-L-lysine. After purification by cation-exchange chromatography using volatile pyridine-acetic acid or pyridine-formic acid buffers, these compounds are obtained in the pure state. By thin-layer chromatography and paper electrophoresis these lysine derivatives can be rapidly separated and identified.

L'altération des aliments par la cuisson, le rôtissage, le grillage, le séchage et même par le simple stockage est un problème qui préoccupe à juste titre l'industrie alimentaire, car cette altération ne modifie pas seulement les qualités organoleptiques souvent de manière défavorable, mais diminue aussi, presque toujours, leur valeur nutritive. Cette altération est due en bonne partie à la réaction de MAILLARD [1] (condensation des sucres avec les acides aminés). Si on ne peut pas éviter cette réaction on aimerait au moins en connaître les effets précis (nature des produits formés, propriétés chimiques et biologiques de ces produits). La baisse de la valeur nutritive des protéines, due essentiellement au blocage de la lysine par les sucres réducteurs, a été étudiée par HENRY [2], LEA & HANNAN [3] et MAURON [4]; à côté de la détérioration importante de la lysine, d'autres acides aminés sont aussi touchés, mais à des taux plus faibles (FORD [5]) et nos connaissances actuelles ne nous permettent pas encore d'en expliquer la raison.

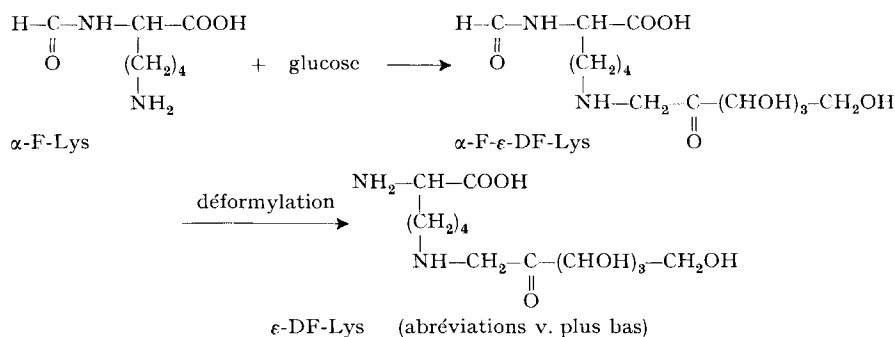
La formation, pendant la réaction de MAILLARD, de substances biologiquement actives encore insuffisamment connues peut avoir, on s'en doute, une grande importance. La propriété qu'ont les prémélanoidines chez le Rat d'augmenter l'appétit ou de diminuer l'utilisation protéique selon la quantité ingérée (ADRIAN [6]), et chez certains microorganismes, d'activer ou d'inhiber le métabolisme (PETIT [7]; SHEIKH [8]; JEMMALI [9]) laisse présager la découverte de nouvelles propriétés des produits de la réaction de MAILLARD, qu'il s'agira d'identifier.

De nombreux travaux ont déjà paru sur cette réaction dont on connaît assez bien les premières étapes (HODGE [10]): Quand un acide aminé réagit avec le glucose, il se forme d'abord un composé d'addition qui, par perte d'une molécule d'eau, donne une base de SCHIFF; celle-ci s'isomérise facilement en un N-glucoside qui par réarrangement d'AMADORI conduit à la formation d'un N-(désoxy-1-fructosyl-1)-aminoacide; des N-glucosido-aminoacides ont pu être isolés par MICHEEL [11] et WEITZEL [12]. La synthèse de N-(désoxy-1-fructosyl-1)-aminoacides a été réalisée par GOTTSCHALK [13], LOWY [14], ABRAMS [15] et HEYNS [16] [17].

Les N-(désoxy-1-cétose-2-yl-1)-aminoacides sont à la fois les plus faciles à préparer à l'état pur et les plus intéressants à étudier: ils sont en effet les produits les plus stables de la condensation entre acides aminés et aldoses, et le point de départ de toute une série d'autres réactions conduisant à la formation des mélanoidines (HODGE) [10]. Dans le présent travail nous décrivons une méthode commode de préparation de N-(désoxy-1-cétosyl-1)-L-lysines dérivant du glucose et du lactose, en vue de faciliter l'étude de leurs propriétés chimiques et biologiques.

LOWY [14] fut le premier à décrire un produit de la réaction entre lysine et glucose, obtenu dans les conditions décrites par GOTTSCHALK [13]. Améliorant la méthode de purification, HEYNS [17] sépare et identifie deux produits de cette réaction: la N_ε-(désoxy-1-D-fructosyl-1)-L-lysine et la N_α,N_ε-di-(désoxy-1-D-fructosyl-1)-L-lysine; il prépare en outre la N_α-(désoxy-1-D-fructosyl-1)-L-lysine par réduction de la N_ε-benzoxycarbonyl-N_α-(désoxy-1-D-fructosyl-1)-L-lysine.

En reprenant les travaux de HEYNS [17], nous avons constaté que sa «N_ε-(désoxy-1-D-fructosyl-1)-L-lysine» était en fait un mélange du dérivé ε avec une certaine quantité du dérivé α, le système chromatographique utilisé par lui ne permettant pas leur séparation. Nous avons mis au point une méthode de synthèse spécifique des dérivés N_α-(désoxy-1-D-fructosyl-1)-L-lysine et N_ε-(désoxy-1-D-fructosyl-1)-L-lysine avec blocage d'un des groupements aminés de la lysine par formylation, ce qui permet un déblocage dans des conditions qui n'altèrent pas le groupement cétosyle.



La déformylation de la N_α-formyl-N_ε-(désoxy-1-cétosyl-1)-L-lysine et des produits analogues se fait en milieu acide dans des conditions relativement douces, mais trop brutales cependant pour les produits de MAILLARD dérivant du lactose, dont la liaison osidique s'hydrolyse.

Les dérivés suivants ont été préparés:

Nom	Abréviation
N _α -formyl-L-lysine	α-F-Lys
N _ε -formyl-L-lysine	ε-F-Lys
N _α -formyl-N _ε -(désoxy-1-D-fructosyl-1)-L-lysine	α-F-ε-DF-Lys
N _ε -formyl-N _α -(désoxy-1-D-fructosyl-1)-L-lysine	ε-F-α-DF-Lys
N _α -(désoxy-1-D-fructosyl-1)-L-lysine	α-DF-Lys
N _ε -(désoxy-1-D-fructosyl-1)-L-lysine	ε-DF-Lys
N _α ,N _ε -di-(désoxy-1-D-fructosyl-1)-L-lysine	di-DF-Lys
N _α -formyl-N _ε -(désoxy-1-D-lactulosyl-1)-L-lysine ou	
N _α -formyl-N _ε -(β-D-galactosido-4-désoxy-1-D-fructosyl-1)-L-lysine	α-F-ε-DL-Lys

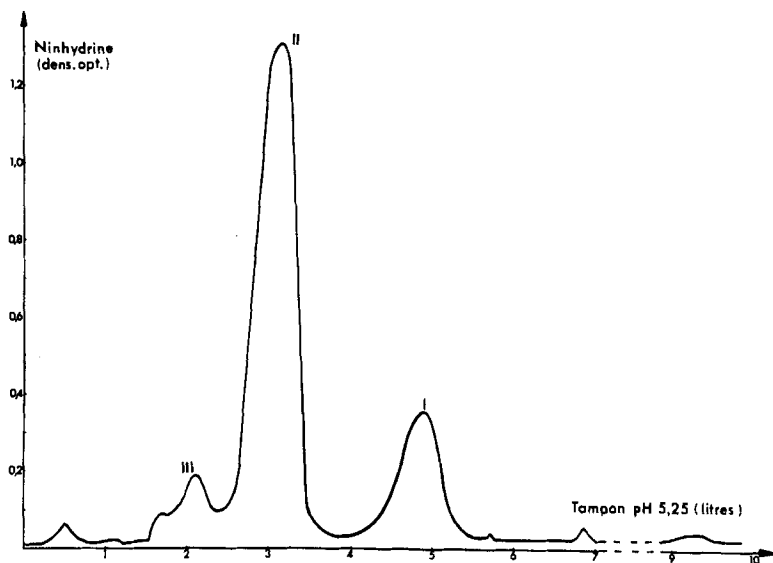


Figure 1. Séparation sur DOWEX-50 W \times 4 (forme acétate de pyridine) des produits de la réaction du monochlorhydrate de lysine avec le glucose

Pic I: mélange d' α -DF-Lys et d' ϵ -DF-Lys; pic II: di-DF-Lys; pic III: tri- et tétra-DF-Lys

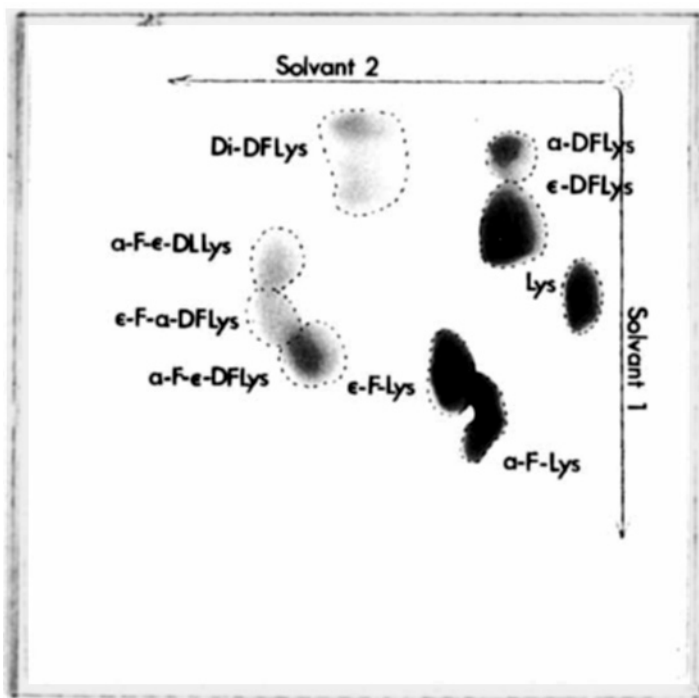


Figure 2. Séparation sur couche mince de cellulose de *N*-(désoxy-1-cétosyl-1)-L-lysine

Solvant 1: méthyl-éthyl-cétone/acide acétique/eau (50:30:20); solvant 2: pyridine/acide acétique/eau (90:10:20)

Nous avons purifié ces produits par chromatographie sur résine échangeuse de cations (DOWEX-50), à l'aide de tampons entièrement volatils (acide acétique-pyridine ou acide formique-pyridine) (PADIEU [18]). Dans ce système, l' α -F- ϵ -DF-Lys et l' α -F- ϵ -DL-Lys se séparent de l' α -F-Lys, l' ϵ -F- α -DF-Lys se sépare de l' ϵ -F-Lys, et le di-DF-Lys se sépare de la lysine et du mélange α -DF-Lys + ϵ -DF-Lys; mais tout comme dans le procédé chromatographique utilisé par HEYNS [17], l' α -DF-Lys et l' ϵ -DF-Lys ne se séparent pas. La figure 1 montre le chromatogramme du mélange obtenu par réaction du monochlorhydrate de lysine avec le glucose: pic I, mélange de α -DF-Lys et d' ϵ -DF-Lys; pic II, di-DF-Lys. Le pic III est sans doute un mélange des dérivés tri- et tétra- N_{α}, N_{ϵ} -(désoxy-1-D-fructosyl-1)-L-lysine, composés homologues à la N-di-(désoxy-1-

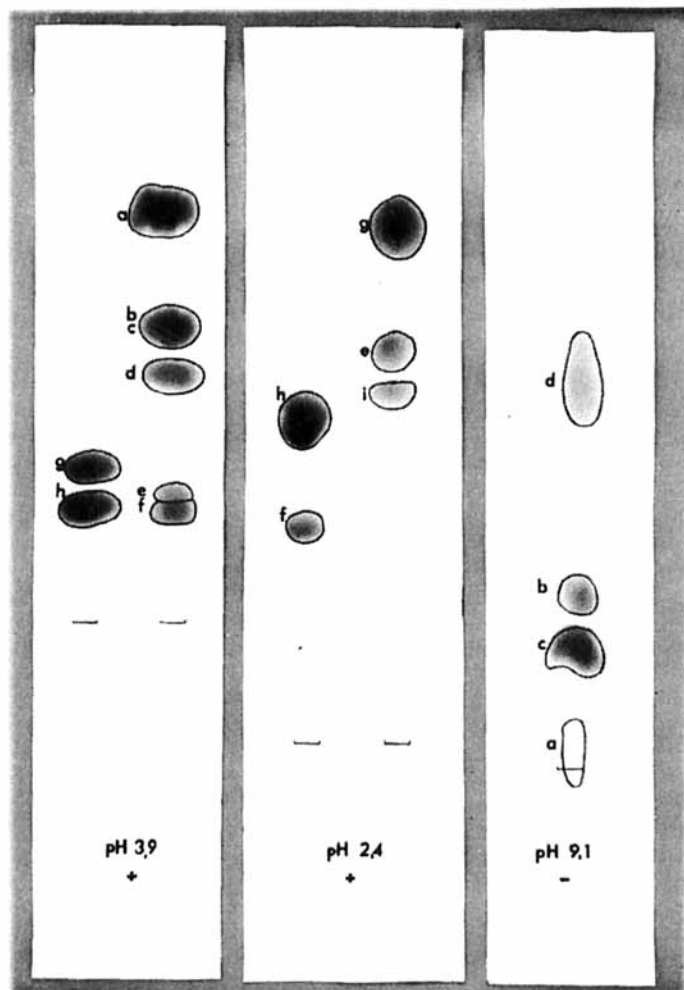


Figure 3. *Electrophorèse sur papier de N-(désoxy-1-cytosyl-1)-L-lysine*

a) lysine; b) α -DF-Lys; c) ϵ -DF-Lys; d) di-DF-Lys; e) α -F- ϵ -DF-Lys; f) ϵ -F- α -DF-Lys; g) α -F-Lys; h) ϵ -F-Lys; i) α -F- ϵ -DL-Lys

D-fructosyl-1)-glycine isolée par ANET [19]; au cours de la purification de l' α -F- ϵ -DF-Lys, un composé passant en tête du chromatogramme et correspondant probablement à la N $_{\alpha}$ -formyl-N $_{\epsilon}$ -di-(désoxy-1-D-fructosyl-1)-L-lysine, peut être aussi mis en évidence.

Les synthèses ont été faites dans du méthanol bouillant selon la technique de GOTTSCHALK [13], sauf pour la synthèse du dérivé du lactose pour laquelle il a fallu utiliser un mélange de méthanol et de formamide pour solubiliser le lactose. Ce dernier solvant a le désavantage – vu son Eb. élevé – de devoir être éliminé par chromatographie; au cours de celle-ci il s'hydrolyse partiellement en libérant de l'ammoniac qui est relargué pendant la séparation. Pour cette raison, une deuxième purification dans les mêmes conditions, est nécessaire. La chromatographie sur couche mince de cellulose et l'électrophorèse sur papier peuvent être utilisées pour l'identification de ces dérivés. Le système de solvants préconisé pour la chromatographie sur couche mince (figure 2) permet de bien identifier chacun des dérivés isolés, sauf l' α -DF-Lys et l' ϵ -DF-Lys pour lesquels la séparation est parfois moins bonne. L'électrophorèse sur papier selon BISERTE [20] permet de séparer tous les dérivés décrits (figure 3); séparation à pH 3,9 des dérivés formylés à caractère neutre et des dérivés non formylés à caractère basique; séparation à pH 2,4 de l'ensemble des dérivés formylés; séparation à pH 9,1 de l'ensemble des dérivés non formylés; dans ce dernier système, les produits migrent dans le même ordre que dans le système qu'utilise FOLK [21] (tampon véronal pH 8,5) pour séparer les dérivés de la lysine et du glucose obtenus après réaction dans les conditions standard de LEA & HANNAN [22] (humidité relative 70%).

Partie expérimentale

1. Techniques générales. – 1.1. *Chromatographie sur résine échangeuse de cations en milieu volatil organique.* La colonne de résine DOWEX-50 W \times 4 (100–200 mesh) est d'abord traitée par NaOH 2N, lavée à l'eau distillée, puis régénérée par HCl 2N jusqu'à élimination totale des ions sodium et relavée à l'eau. Elle est alors mise sous «forme pyridine» par une solution aqueuse de pyridine 2M, lavée à l'eau, traitée avec le tampon acétate ou formiate de pyridine 0,2M de pH 3,25 (sauf pour la séparation de l' α -F- ϵ -DL-Lys pour laquelle un tampon formiate de pyridine 0,2M de pH 3,0 est utilisé). La chromatographie des substances à caractère neutre est faite respectivement avec les tampons de pH 3,25 et 3,0, et celle des substances à caractère basique, avec un tampon acétate de pyridine 0,4M de pH 5,25. On prépare les tampons en ajustant au pH désiré, avec de l'acide formique ou de l'acide acétique, une solution aqueuse de pyridine 0,2M ou 0,4M. Les chromatographies se font à température ambiante. L'éluat est fractionné dans les tubes d'un collecteur; on analyse les fractions en prélevant une partie aliquote sur laquelle on fait réagir, pendant 15 min au bain-marie bouillant, 1 ml de réactif ninhydrine à 2% (*p/v*) dans le méthylcellosolve contenant 25% (*v/v*) de tampon acétate de sodium 4M de pH 5,5 (MOORE [23]); après refroidissement et dilution à 10 ml avec un mélange eau-éthanol 50% (*v/v*), la densité optique est lue à 570 nm. L'analyse peut être faite aussi par le réactif au ferricyanure selon BORSOOK [24].

1.2. *Précipitation.* Les fractions contenant les dérivés des désoxy-1-cétooses sont évaporées sous vide, reprises plusieurs fois par de l'eau et réévaporées à sec pour éliminer toute trace de tampon. Le résidu est alors dissous dans le méthanol et précipité par addition rapide d'un grand excès de méthyl-éthyl-cétone sous forte agitation. Après 20 h d'agitation, la substance finement divisée est essorée, puis séchée sous vide (à l'abri complet de l'humidité) jusqu'à poids constant. Les substances isolées sont conservées sous vide dans un dessiccateur contenant NaOH; elles se présentent sous la forme de poudres blanches amorphes, fortement chargées d'électricité statique et très hygroscopiques; elles brunissent rapidement en présence de traces d'eau.

1.3. *Chromatographie sur couche mince* (figure 2). La séparation bidimensionnelle sur couche mince de cellulose MACHEREY, NAGEL & Co, MN 300 se fait avec les solvants suivants: 1^{re} dimension: méthyl-éthyl-cétone/acide acétique/eau (50:30:20), 2^e dimension: pyridine/acide acétique/

eau (90:10:20). La révélation se fait avec une solution de ninhydrine à 0,2% dans le mélange éthanol/acide acétique/collidine: 50:10:2 (solution I de MOFFAT [25]), ou au chlorhydrate de triphényltétrazolium (TREVELYAN [26]) ou encore au nitrate d'argent.

1.4. *Electrophorèse sur papier* (figure 3). On travaille dans un appareil en V renversé, sur papier ARCHES 304 (40 × 28 cm) et à basse tension (BISERTE [20]). L'électrophorèse à pH 3,9 dans le tampon pyridine/acide acétique/eau (30:100:4870), 6 h à 400 V, permet de séparer en plusieurs groupes l'ensemble des dérivés formés, mais elle ne sépare pas l' α -DF-Lys de l' ϵ -DF-Lys, ni les monoformyllysines de leur produit de réaction avec le sucre réducteur. L'électrophorèse à pH 2,4 dans l'acide acétique 1N (6 h à 400 V) est utilisée pour séparer les composés à caractère neutre, c'est-à-dire tous les dérivés formylés. L'électrophorèse à pH 9,1 dans le tampon borate 0,02M de pH 9,1 (borate de Na, 10H₂O: 1,719 g; NaCl: 0,263 g; acide borique: 0,124 g; H₂O: 1 l) pendant 4 h à 400 V permet la séparation des composés à caractère basique et en particulier l' α -DF-Lys de l' ϵ -DF-Lys. Les électrophérogrammes sont révélés par trempage dans une solution de ninhydrine à 1% dans l'acétone contenant 10% de tampon phosphate 0,05M de pH 7 (BISERTE [27]); la lysine, l' ϵ -F-Lys et l' ϵ -DF-Lys se révèlent à température ambiante; l' α -F-Lys, l' α -F- ϵ -DF-Lys, l' α -F- ϵ -DL-Lys, l' α -DF-Lys et le di-DF-Lys se révèlent très faiblement à température ambiante, et il faut chauffer les papiers 30 min dans une étuve à 80° pour qu'ils se révèlent normalement. On peut aussi utiliser le réactif au chlorhydrate de triphényltétrazolium (TREVELYAN [26]), au ferricyanure (BOROOK [24]) ou au nitrate d'argent.

2. **Synthèses.** – 2.1. *Formylation – déformylation.* L' α -F-Lys et l' ϵ -F-Lys sont synthétisés selon HOFMANN [28]. L' α -F- ϵ -DF-Lys et l' ϵ -F- α -DF-Lys sont déformylés en milieu HCl 2N pendant 15 min dans un bain-marie bouillant. Après refroidissement dans l'eau froide, l'acide chlorhydrique est éliminé sur une colonne d'Amberlite IR-4 B (forme OH⁻). L'éluat recueilli est amené à pH 6 avec de l'acide acétique, puis évaporé à sec. Après dilution avec un petit volume de tampon acétate de pyridine de pH 3,25, le dérivé déformylé est purifié par chromatographie sur DOWEX-50 W × 4, à l'aide du tampon acétate de pyridine 0,4M de pH 5,25 (voir sous 2.5 et 2.6).

2.2. *N_α-formyl-N_ε-(désoxy-1-D-fructosyl-1)-L-lysine (α-F-ε-DF-Lys).* Une suspension de 5 g d' α -F-Lys et 32,5 g de D-glucose dans 475 ml de méthanol est chauffée 4 h à reflux. Le méthanol est distillé sous vide; le résidu, dissous dans le minimum d'eau, est chromatographié sur une colonne de DOWEX-50 W × 4 (hauteur 140 cm; diamètre 4 cm) avec le tampon formiate de pyridine 0,2M de pH 3,25 (débit de 360 ml/h). L' α -F- ϵ -DF-Lys passe entre les volumes 3800 et 6700 ml. Après élimination du tampon, le produit est précipité par la méthyl-éthyl-cétone, comme décrit sous 1.2. Rendement: 76,5%; F. 107–109,5°.

C₁₃H₂₄N₂O₈ (336,34) Calc. C 46,42 H 7,19 N 8,33% Tr. C 46,48 H 7,24 N 8,52%

2.3. *N_ε-formyl-N_α-(désoxy-1-D-fructosyl-1)-L-lysine (ε-F-α-DF-Lys).* Une suspension de 1 g d' ϵ -F-Lys et 6,5 g de D-glucose dans 95 ml de méthanol est chauffée 4 h à reflux. Après distillation du méthanol sous vide, le résidu est repris dans le minimum d'eau et déposé sur une colonne de DOWEX-50 W × 4 (hauteur 110 cm; diamètre 2 cm) traitée par le tampon acétate de pyridine 0,2M de pH 3,25, puis lavée à l'eau jusqu'à neutralité. Quand la substance a été déposée sur la colonne, celle-ci est lavée par de l'eau (débit: 100 ml/h). L' ϵ -F- α -DF-Lys passe entre les volumes 400 et 800 ml, nettement séparé de l' ϵ -F-Lys qui passe plus tard; après distillation de l'eau, il est précipité par la méthyl-éthyl-cétone.

2.4. *N_α-formyl-N_ε-(β-D-galactosido-4-désoxy-1-D-fructosyl-1)-L-lysine ou N_α-formyl-N_ε-(désoxy-1-D-lactulosyl-1)-L-lysine (α-F-ε-DL-Lys).* On dissout 6,5 g de D-lactose (monohydraté) dans 30 ml de formamide et ajoute 100 ml de méthanol et 1 g d' α -F-Lys. Après 4 h de chauffage à reflux, le méthanol est évaporé. Le résidu dilué avec 20 ml d'eau est déposé sur une colonne de DOWEX-50 W × 4 (hauteur: 110 cm; diamètre: 2 cm) traitée par le tampon formiate de pyridine 0,2M de pH 3,0. Après lavage de la colonne à l'eau pour éliminer le lactose et le formamide, on élue avec le tampon de pH 3,0 (débit: 100 ml/h). L' α -F- ϵ -DL-Lys passe entre les volumes 220 et 320 ml. L'analyse de l'éluat par la ninhydrine est gênée par la présence d'un peu d'ammoniac qui provient sans doute de l'hydrolyse partielle du formamide sur la résine et qu'on élimine par une deuxième chromatographie. Le dérivé est précipité et conservé comme décrit sous 1.2. Rendement 48%; F. 140° (déc.). C₁₉H₃₄N₂O₁₃·H₂O (516,19) Calc. C 44,17 H 6,98 N 5,43% Tr. C 44,45 H 7,12 N 5,45%

2.5. *N_α, N_ε-di-(désoxy-1-D-fructosyl-1)-L-lysine (Di-DF-Lys).* Une suspension de 5 g de monochlorhydrate de lysine et 32,5 g de D-glucose anhydre dans 475 ml de méthanol est chauffée à

reflux 4¹/₂ h. On évapore ensuite le méthanol sous vide, et dissout le résidu dans le minimum de tampon acétate de pyridine 0,2M de pH 3,25. La solution est déposée au sommet d'une colonne de DOWEX-50 W × 4 (hauteur 140 cm; diamètre 4 cm) traitée par le tampon acétate de pyridine 0,2M de pH 3,25. On lave la colonne par ce même tampon pour éliminer le glucose et élue ensuite avec le tampon acétate de pyridine 0,4M de pH 5,25 (débit 360 ml/h) (fig. 1). Le di-DF-Lys passe entre les volumes 2400 et 3600 ml. Le mélange d' α -DF-Lys et d' ϵ -DF-Lys passe entre les volumes 4100 et 6000 ml. Le di-DF-Lys est précipité et conservé comme décrit sous 1.2. Rendement: 63,3%; F. 67–75°.

C₁₈H₃₄N₂O₁₂ (470,47) Calc. C 45,95 H 7,23 N 5,96% Tr. C 45,83 H 7,31 N 5,89%

2.6. *N_ε*-(désoxy-1-D-fructosyl-1)-L-lysine (ϵ -DF-Lys). L' ϵ -DF-Lys peut être préparé soit par déformylation de l' α -F- ϵ -DF-Lys purifié, suivie d'une chromatographie sur DOWEX-50 W × 4 à l'aide du tampon acétate de pyridine 0,4M de pH 5,25, soit par déformylation du mélange obtenu par la réaction de l' α -F-Lys avec le glucose selon la technique suivante: on chauffe 4 h au reflux une solution de 5 g d' α -F-Lys et 32,5 g de glucose dans 475 ml de méthanol. Après distillation du solvant, le résidu dissous dans le minimum d'eau est passé à travers une colonne de DOWEX-50 W × 4 sous la forme H⁺ (hauteur: 25 cm; diamètre: 2 cm). La colonne est lavée à l'eau pour éliminer le glucose, et le dérivé formylé est élué par HCl 2N et se trouve dans la fraction de l'éluat qui donne un test positif à la ninhydrine ou au ferricyanure. Le dérivé formylé est déformylé selon la technique décrite sous 2.1., et le produit, purifié selon le même procédé chromatographique que pour la préparation du di-DF-Lys décrite sous 2.5. L' ϵ -DF-Lys passe entre les volumes 3400 et 4800 ml. Rendement: 80,3%; F. 53–55°.

C₁₂H₂₄N₂O₇, CH₃COOH (368,39) Calc. C 45,60 H 7,60 N 7,60% Tr. C 45,58 H 7,73 N 7,36%

2.7. *N_α*-(désoxy-1-D-fructosyl-1)-L-lysine (α -DF-Lys). L' α -DF-Lys est préparé et isolé exactement comme l' ϵ -DF-Lys, à partir de l' ϵ -F-Lys à la place de l' α -F-Lys. Rendement: 70,6%; se décompose à 100°.

C₁₂H₂₄N₂O₇, CH₃COOH (368,39) Calc. C 45,60 H 7,60 N 7,60% Tr. C 45,57 H 7,58 N 7,61%

Nous tenons à remercier M. J. P. CORBAZ de sa collaboration technique.

Les micro-analyses ont été faites, à Genève, par le Dr K. EDER, laboratoire de micro-analyse de l'Ecole de Chimie, Université.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] L. C. MAILLARD, C. r. Soc. Biol. 154, 66 (1912).
- [2] K. M. HENRY, S. K. KON, C. H. LEA & J. C. D. WHITE, J. Dairy Research 15, 292 (1948).
- [3] C. H. LEA & R. S. HANNAN, Biochim. biophysica Acta 5, 433 (1950); Nature 165, 438 (1950).
- [4] J. MAURON, Revue intern. Vitaminologie 27, 85 (1956); J. MAURON & F. MOTTU, Arch. Biochemistry Biophysics 77, 312 (1958).
- [5] J. E. FORD & D. N. SALTER, Brit. J. Nutr. 20, 843 (1966).
- [6] J. ADRIAN, R. FRAGNE, L. PETIT, B. GODON & J. BARBIER, Ann. Nutr. Aliment. 3, 257 (1966).
- [7] L. PETIT, Ind. alim. agric. 81, 905 (1964).
- [8] N. M. SHEIKH, Thèse présentée à la Faculté des Sciences de l'Université de Paris, 18 juin 1960, Série A, No 909, No d'ordre: 933.
- [9] M. JEMMALI & L. PETIT, Ann. Technol. agric. 15, 5 (1966).
- [10] J. E. HODGE, Agr. Food Chemistry 1, 928 (1953).
- [11] F. MICHEEL & A. KLEMER, Chem. Ber. 85, 1083 (1952).
- [12] G. WEITZEL, H. U. GEYER & A. M. FRETZDORFF, Chem. Ber. 90, 1153 (1957).
- [13] A. GOTTSCHALK, Biochem. J. 52, 455 (1952).
- [14] P. H. LOWY & H. BORSOOK, J. Amer. chem. Soc. 78, 3175 (1956).
- [15] A. ABRAMS, P. H. LOWY & H. BORSOOK, J. Amer. chem. Soc. 77, 4794 (1955).
- [16] K. HEYNS & H. PAULSEN, Liebigs Ann. Chem. 622, 160 (1959).
- [17] K. HEYNS & H. NOACK, Chem. Ber. 95, 720 (1962).
- [18] P. PADIEU, N. MALEKNIA & A. M. THIREAU, Bull. Soc. chim. France 1963, 2960; P. PADIEU & N. MALEKNIA, Bull. Soc. chim. biol. 47, 493 (1965).
- [19] E. F. L. J. ANET, Austr. J. Chemistry 12, 280 (1959).
- [20] G. BISERTE, T. PLAQUET-SCHOONAERT, P. BOULANGER & P. PAYSANT, J. Chromatogr. 3, 25 (1960).

- [21] J. E. FOLK, Arch. Biochemistry Biophysics *61*, 150 (1956).
[22] C. H. LEA & R. S. HANNAN, Biochem. biophysica Acta *3*, 313 (1949).
[23] S. MOORE & W. H. STEIN, J. biol. Chemistry *211*, 908 (1954).
[24] H. BORSOOK, A. ABRAMS & P. H. LOWY, J. biol. Chemistry *215*, 111 (1955).
[25] E. MOFFAT & R. LYTLE, Analyt. Chemistry *31*, 926 (1959).
[26] E. TREVELYAN, D. P. PROCTOR & J. C. HARRISON, Nature *166*, 444 (1950).
[27] G. BISERTE, M. DAUTREVAUX & P. BOULANGER, Bull. Soc. chim. France *1963*, 2954.
[28] K. HOFMANN, E. STUTZ, G. SPÜHLER, H. YAJIMA & E. T. SCHWARTZ, J. Amer. chem. Soc. *82*, 3737 (1960).

153. Struktur der Blei(IV)-carboxylate und ihre Zersetzung über elektronenspinresonanz-spektroskopisch nachweisbare Radikalzwischenstufen¹⁾

von K. Heusler und H. Loeliger

WOODWARD Forschungsinstitut und physikalische Abteilung
der CIBA AG., Basel

(20. VI. 69)

Summary: The position of the asymmetric COO⁻ vibration of lead⁴⁺ carboxylates (at 6.50 to 6.58 μ) clearly indicates the absence of covalent bonding between oxygen and lead. These salts show strong UV. absorption in the region of 220 to 270 nm which is assigned to a charge transfer from oxygen to lead. UV.-irradiation of lead⁴⁺ carboxylates at -196°C in a solid benzene matrix leads to decarboxylation and production of alkyl radicals which were identified by ESR. spectrometry. These radicals react in the solid matrix by hydrogen abstraction from the α -position of a neighbouring carboxylate. In solution however rapid oxidation to carbonium ions occurs.

Im Zusammenhang mit unseren Untersuchungen über die Oxydation von Alkoholen mit Bleitetraacetat (vgl. die Übersicht in [2]) schien es uns notwendig, genaueren Einblick in die Struktur und die Zersetzung von stabilen Sauerstoffderivaten des vierwertigen Bleis zu erhalten. Im Gegensatz zu Blei(IV)-alkoholaten sind Bleitetraacylate in reiner Form isolierbar. Wir haben uns deshalb zuerst mit diesen Verbindungen beschäftigt.

Als wir unsere Versuche begannen, war über die Struktur und Zersetzung der Bleitetraacylate nur wenig bekannt. In den letzten Jahren sind jedoch eine Reihe von Publikationen über Bleitetraacylat-Zersetzungen erschienen [3] [4], die unsere Befunde im wesentlichen bestätigen und ergänzen. Wir beschränken uns deshalb im folgenden auf die Diskussion derjenigen Resultate, die von den bisher publizierten abweichen und neue Aspekte eröffnen.

A. Infrarot-Messungen. – Die Struktur der Blei(IV)-acylate, insbesondere die Art der Bindung zwischen Sauerstoff und Blei ist bisher kaum untersucht worden. Ihre Festlegung schien uns als Ausgangspunkt für das Verständnis der Zersetzung wichtig. Der Bindungscharakter der Pb-O-Bindung sollte sich am deutlichsten in der Carbonyl-Streckschwingung der Acylreste manifestieren. Wir untersuchten deshalb die IR.-Spektren einer Reihe von leicht frei von Spuren von Carbonsäure herstell-

¹⁾ Ein Teil der hier beschriebenen Resultate wurde bereits in einer vorläufigen Mitteilung publiziert [1].