

Untersuchungen zur Komplexchemie der Brenztraubensäure. IV¹⁾

Über die Decarboxylierung von α -Ketosäuren bei Gegenwart von Metallsalzen

VON ALFRED SCHELLENBERGER UND RÜDIGER SELKE

Mit 4 Abbildungen

Herrn Professor Dr. W. Langenbeck zum 60. Geburtstage gewidmet

Inhaltsübersicht

Der Einfluß von Metallionen auf die Decarboxylierung von Brenztraubensäure, α -Ketobuttersäure und Trimethylbrenztraubensäure wird untersucht. Diese kann in Abhängigkeit von den gewählten Bedingungen nach zwei Richtungen erfolgen. Namentlich in Gegenwart von guten Komplexbildnern wie Al und Cu werden zunächst aldolartige Kondensationsprodukte aus mehreren Ketosäure-Molekülen gebildet, die anschließend unter der Wirkung der Metallionen decarboxyliert werden. Diese Reaktion ist stark p_{H} -abhängig und wird durch Sauerstoff nicht beeinflusst. Dagegen verläuft die oxydative Decarboxylierung der α -Ketosäuren bei Gegenwart von Mn-II-Ionen mit großer Wahrscheinlichkeit über einen Radikal-Mechanismus, in dessen Verlauf vornehmlich die um 1 C-Atom ärmeren Fettsäuren entstehen.

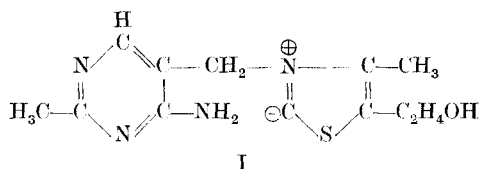
Wie in einer vorangegangenen Arbeit¹⁾ gezeigt werden konnte, tritt bei der Komplexbildung der Brenztraubensäure (BTS) mit Metallionen eine beträchtliche Polarisierung der α, β -Bindung ein, was sich zum Beispiel in einem erhöhten Substitutionsvermögen der als Liganden fixierten BTS-Moleküle gegenüber Halogen bemerkbar macht. Auch das Ferment Carboxylase, welches die Decarboxylierung der BTS unter Bildung von Acetaldehyd bzw. Acetoin bewirkt, benötigt für seine Wirksamkeit Metallionen (Mg), die sich — meist allerdings unter erheblichen Aktivitätsverlusten — durch andere zweiwertige Komplexbildner (Mn, Co, Fe, Ni, Zn, Cd²⁾) ersetzen lassen. Daher war es gerade in physiologischer Hinsicht interessant, ob auch das die Carboxylgruppe bindende Elektronenpaar durch die Komplexbildung beeinflusst wird, d. h., ob die

¹⁾ III. Mitteilung A. SCHELLENBERGER u. K. WINTER, Chem. Ber. **92**, 793 (1959).

²⁾ D. E. GREEN, D. HERBST u. V. SUBRAHMANYAN, J. biol. Chem. **135**, 795 (1940); A. J. KOSSEL, Hoppe-Seylers Z. physiol. Ch. **276**, 251 (1942).

Komplexbildung von Einfluß auf die Decarboxylierbarkeit des BTS-Moleküls ist.

Die wichtigsten Arbeiten zum Wirkungsmechanismus der Cocarboxylase stammen von W. LANGENBECK³⁾ und von R. BRESLOW⁴⁾. Während LANGENBECK auf Grund von Modellversuchen mit primären Aminen die Aminogruppe des Aneurins für die „aktive Gruppe“ des Fermentes hält, ist nach den Arbeiten von BRESLOW das über die Ylidstruktur (I) aktivierte C-Atom 2 des Thiazolringes für die decarboxylierende Wirkung des Fermentes verantwortlich zu machen.



Über metallionenkatalysierte Decarboxylierungen von Ketosäuren existieren bereits eine Reihe von Arbeiten, deren gemeinsames Ergebnis dahingehend zusammengefaßt werden kann, daß nur solche Ketosäuren leicht decarboxyliert werden, die neben der Carboxyl- und der Carbonylgruppe noch eine weitere nucleophile Funktion besitzen, wie es z. B. bei Oxalessigsäure⁵⁻¹¹⁾, Oxalbernsteinsäure⁷⁾, Acetondicarbonensäure⁶⁾¹²⁾ und Galacturonsäure¹³⁾ der Fall ist. Da die wirksamsten Metallionen immer starke Komplexbildner sind, ist man sich darüber einig, daß mit den Ketosäuren Chelate gebildet werden, in denen die Carboxylgruppe so gelockert ist, daß sie abspalten kann.

Der BTS fehlt die dritte nucleophile Gruppe, um leicht decarboxylierbare Komplexe bilden zu können. Trotzdem zeigt Abb. 1, daß gute Komplexbildner wie Al- oder Cu-Ionen eine beträchtliche Decarboxylierung der BTS bewirken. Eine nähere Untersuchung dieser Reaktion¹⁴⁾ ergab jedoch, daß nicht die BTS selbst, sondern Kondensationsprodukte

³⁾ W. LANGENBECK u. R. HUTSCHENREUTER, Z. anorg. allg. Chem. **188**, 1 (1930).

⁴⁾ R. BRESLOW, J. Amer. chem. Soc. **79**, 1762 (1957).

⁵⁾ L. O. KRAMPITZ u. CH. H. WERKMANN, Biochem. J. **35**, 595 (1941).

⁶⁾ H. A. KREBS, Biochem. J. **36**, 303 (1942).

⁷⁾ A. KORBERG, S. OCHOA u. A. H. MEHLER, J. biol. Chem. **174**, 159 (1948).

⁸⁾ J. SPECK, J. biol. Chem. **178**, 315 (1949).

⁹⁾ R. STEINBERGER u. F. H. WESTHEIMER, J. Amer. chem. Soc. **71**, 4158 (1949); **73**, 429 (1951).

¹⁰⁾ K. J. PEDERSEN, Acta chem. scand. **6**, 285 (1952).

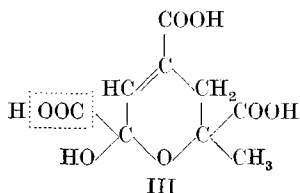
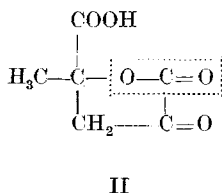
¹¹⁾ R. J. P. WILLIAMS, Nature (London) **171**, 304 (1953).

¹²⁾ J. E. PRUE, J. chem. Soc. (London) **1952**, 2331.

¹³⁾ G. ZWEIFEL u. H. DEUEL, Helv. chim. Acta **39**, 662 (1956).

¹⁴⁾ A. SCHELLENBERGER u. E. PODANY, Chem. Ber. **91**, 1781 (1958).

derselben wie Meta-Brenztraubensäure (II) und Para-Brenztraubensäure (III) an den markierten Stellen CO_2 abspalten.



Die vorliegende Arbeit liefert eine weitere Stütze dafür, daß Kondensationsreaktionen Voraussetzungen für die nichtoxydative Decarboxylierung von α -Ketosäuren durch Metallionen sind. Es zeigte sich nämlich, daß die Decarboxylierbarkeit der untersuchten α -Ketosäuren bei Gegenwart von Metallionen mit ihrer Fähigkeit, aldolartige Kondensationsreaktionen einzugehen, parallel läuft und demzufolge bei der Trimethylbrenztraubensäure erlischt.

A. Nichtoxydative Decarboxylierung von Brenztraubensäure, α -Ketobuttersäure und Trimethylbrenztraubensäure

Im Falle der BTS zeigen Mg^{2+} , Zn^{2+} und Fe^{2+} bei pH -Werten zwischen 3 und 4¹⁵⁾ praktisch keinen, Co^{2+} , Ni^{2+} , Mn^{2+} und Cr^{3+} mäßigen Einfluß auf die Decarboxylierung. Als sehr wirksam erwiesen sich außer Al^{3+} auch noch Fe^{3+} und Cu^{2+} . Die pH -Abhängigkeit der decarboxylierenden Wirkung von Al^{3+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} und Mn^{2+} wurde genauer untersucht und ist aus Abb. 1 ersichtlich. Ebenso wie das Aluminium ist das Kupfer besonders um pH 2,0 wirksam, allerdings nur, solange nicht durch Niederschlagsbildung Metallionen der Reaktion entzogen werden. Bei Auftreten von Fällungen war ganz allgemein ein starker Rückgang der CO_2 -Entwicklung zu beobachten. Aus den Fällungen konnte Meta-Brenztraubensäure isoliert werden, eine weitere Stütze dafür, daß sie ein Zwischenprodukt bei der Decarboxylierung darstellt. Im Falle des Kupfers war das Auftreten von Niederschlägen bei pH -Werten zwischen 2 und 3 nicht zu vermeiden, so daß in diesem Bereich die CO_2 -Messungen fehlen, was in der entsprechenden Kurve durch eine gestrichelte Linie angedeutet wird. Mit Nickel traten Fällungen nur vereinzelt auf.

Alle Messungen wurden unter Luft durchgeführt, da Vergleichsmessungen mit BTS und Al^{3+} unter Lampenstickstoff die gleichen Werte zeigten. Auch das pH -Optimum der BTS- Cu^{2+} -Kurve ließ sich unter gereinigtem Stickstoff reproduzieren. Dagegen stellte sich später heraus,

¹⁵⁾ Cr^{3+} , Fe^{2+} und Fe^{3+} wurden nur beim Eigen- pH der Lösungen untersucht.

daß Sauerstoff bei Gegenwart von Mn^{2+} -Ionen oxydierend auf alle α -Ketosäuren wirkt. Wir kommen darauf noch zurück.

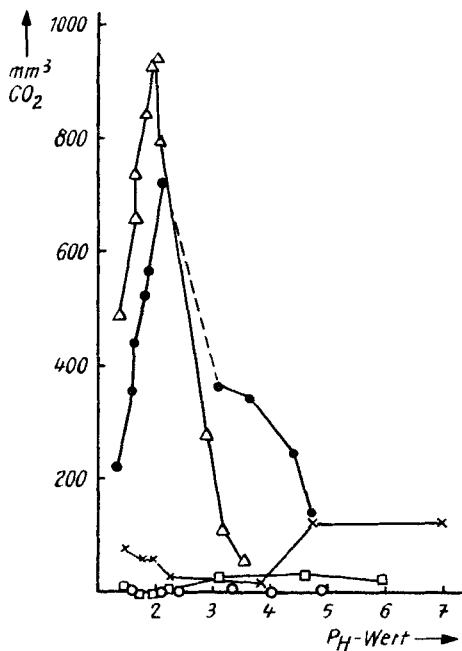


Abb. 1

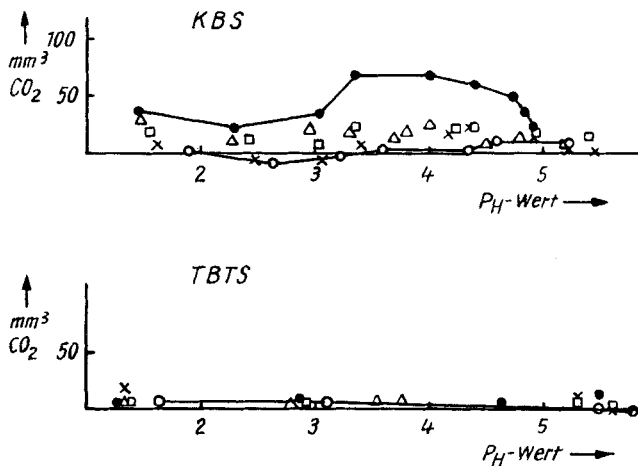


Abb. 2

Abb. 1 und 2. CO_2 -Entwicklung von 2 mMol Brenztraubensäure, α -Ketobuttersäure und Trimethylbrenztraubensäure nach zweistündiger Umsetzung mit verschiedenen Metallchloriden in Abhängigkeit vom pH . \circ ohne Metallechlorid, Δ mit Al^{3+} , \bullet mit Cu^{2+} , \times mit Mn^{2+} , \square mit Ni^{2+}

Die Ergebnisse der Messungen mit α -Ketobuttersäure (KBS) und Trimethylbrenztraubensäure (TBTS), die sämtlich unter Lampenstickstoff durchgeführt wurden, sind aus Abb. 2 ersichtlich. Die Werte der KBS-Messungen sind mit großen Fehlern ungeklärter Ursache behaftet, so daß aus den Kurven mit Sicherheit lediglich ganz allgemein ein geringer Einfluß der Metallionen auf die KBS-Decarboxylierung abgeleitet werden kann. Die stärkste Wirkung wurde in diesem Falle mit Cu^{2+} -Ionen erzielt.

Interessant ist, daß sich geringe Mengen Propionaldehyd als Reaktionsprodukt eines Ansatzes mit Aluminiumchlorid indirekt nachweisen ließen, wohingegen bei den BTS-Decarboxylierungen mit Aluminiumchlorid nie Acetaldehyd gefunden wurde. Die Arbeiten zur Aufklärung der weiteren KBS-Reaktionsprodukte (viskoser Öle), die vermutlich ähnlich wie bei der BTS durch aldolartige Kondensationsreaktionen entstanden sind, gestalten sich sehr schwierig.

Auf die TBTS haben Metallionen wie Al^{3+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} und Mn^{2+} unter Stickstoff keine CO_2 abspaltende Wirkung. Aus gelegentlich auftretenden Niederschlägen, die zum Unterschied von den BTS-Fällungen sofort nach Zugabe der Metallchloride fielen, konnte unveränderte TBTS wieder zurückerhalten werden.

B. Oxydative Decarboxylierungen mit Mangan-II-chlorid

Grundsätzlich verschieden von den eben geschilderten Reaktionen sind die im folgenden beschriebenen Decarboxylierungen der α -Ketosauren mit Mangan-II-chlorid unter Sauerstoff. Hier wird auch die TBTS angegriffen, und zwar besonders stark, wie aus Abb. 3 hervorgeht, in der die Wirkung des Manganchlorids auf verschiedene α -Ketosauren dargestellt ist und aus der ersichtlich wird, daß die TBTS in der halben Konzentration mit der halben Manganimenge noch die größte CO_2 -Entwicklung liefert. Der Angriff des Sauerstoffs muß direkt an den Ketosauren stattfinden, da keine Anlaufperiode wie bei den nichtoxydativen Decarboxylierungen zu erkennen ist. Dadurch lassen sich beide Reaktionsarten leicht unterscheiden.

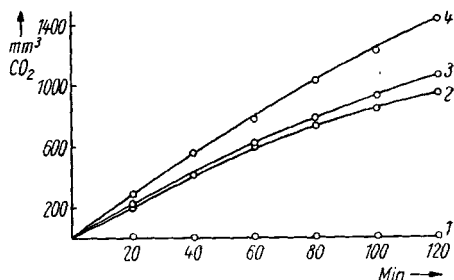


Abb. 3. Oxydative Decarboxylierung verschiedener α -Ketosauren in Gegenwart von Mangan-II-chlorid (Reaktionstemperatur 37°). 1. 2 mMol BTS + 0,2 mMol MnCl_2 unter N_2 ; 2. 2 mMol KBS + 0,2 mMol MnCl_2 unter O_2 ; 3. 2 mMol BTS + 0,2 mMol MnCl_2 unter O_2 ; 4. 1 mMol TBTS + 0,1 mMol MnCl_2 unter O_2

Mit TBTS wurde auch eine Versuchsreihe zur Feststellung des für die oxydative Decarboxylierung optimalen p_H -Bereiches durchgeführt. Hierzu wurde der Sauerstoffverbrauch von 1 mMol TBTS bei Gegenwart

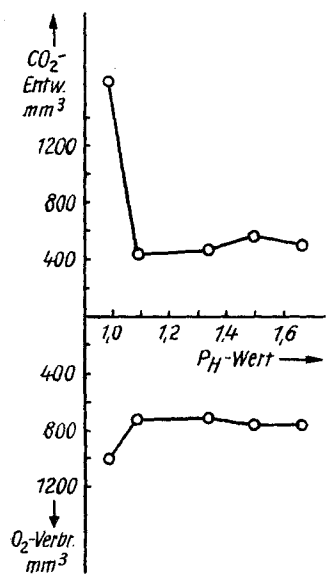
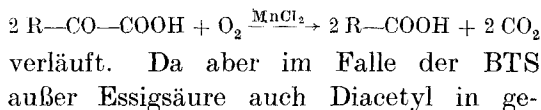


Abb. 4. CO_2 -Entwicklung und Sauerstoffverbrauch bei der oxydativen Decarboxylierung der TBTS durch $MnCl_2$ in Abhängigkeit vom p_H -Wert. (Reaktionstemp. 37° .) Aufgetragen wurden die durch 1 mMol TBTS nach zweistündiger Reaktionsdauer umgesetzten Gasvolumina (s. Text)

von 0,1 mMol $MnCl_2$ im WARBURG-Kölbchen mit Einsatz zur Absorption des gebildeten CO_2 gemessen und der CO_2 -Entwicklung unter gleichen Bedingungen gegenübergestellt (s. Abb. 4). Die Einstellung des p_H -wertes erfolgte wie in den vorangegangenen Versuchen durch Zugabe von Kalilauge. Da sich bei den CO_2 -Messungen der Sauerstoffverbrauch nicht ausschließen ließ, ist das manometrisch ermittelte CO_2 -Volumen noch um das Volumen des während der Reaktion verbrauchten Sauerstoffs zu erhöhen. Die größten CO_2 -Entwicklungen wurden beim Eigen- p_H der Lösungen erzielt, während bei p_H -Werten über 5 keine Decarboxylierung mehr festzustellen war. Die Versuche zur Ermittlung der CO_2 -Gesamtausbeute wurden daher ohne Zusatz von Kalilauge angesetzt. Hierbei ergab sich auf Grund des molaren Gasumsatzes während der oxydativen Decarboxylierung sowie der hohen CO_2 -Ausbeute (96–98%), daß die Reaktion insgesamt nach der Gleichung



Beschreibung der Versuche

I. Ausführung der WARBURG-Messungen

Sämtliche WARBURG-Messungen wurden bei 37° durchgeführt. Die zur Messung benutzten Mengen an Ketosäure und Metallchlorid sind aus

den Erläuterungen zu den Abbildungen ersichtlich. Von den Metallchloriden wurden Lösungen hergestellt, die in 0,1 ml die erforderliche Metallsalzmenge enthielten. Um die Forderung nach genau 2 ml Reaktionslösung im WARBURG-Kölbchen einzuhalten, wurde kurz vor der Umsetzung aus α -Ketosäure und Kalilauge im 50-ml-Meßkolben eine Lösung bekannten Gehaltes an Säure und Lauge hergestellt. Für die Messungen wurden in den Reaktionsraum eines jeden WARBURG-Kölbchens 1,9 ml Meßlösung mit einem Gehalt von 2 mMol bzw. 1 mMol α -Ketosäure pipettiert. Durch diese Arbeitsweise stand einmal für die Vergleichsmessungen stets dieselbe Lösung zur Verfügung, so daß keine Abweichungen in der p_H -Einstellung durch ungenaue KOH-Zugabe auftreten konnten. Außerdem konnte die Meßlösung gleich zu den p_H -Messungen benutzt werden. Zur Herstellung der Meßlösung wurde die berechnete Säuremenge in das Kölbchen eingewogen, mit Wasser verdünnt und unter Kühlung die entsprechende Menge 4 n KOH hinzugegeben. 10 Minuten nach Vereinigung der Metallsalzlösung mit der Meßlösung wurde die erste Ablesung gemacht und als Nullpunkt gewertet. Sämtliche in die Kurven eingetragenen Werte sind Mittelwerte aus zwei Messungen.

II. Untersuchung der bei der Decarboxylierung entstehenden Reaktionsprodukte

a) Nichtoxydative Decarboxylierung der Brenztraubensäure

Das Hauptprodukt der durch Al^{3+} -Ionen katalysierten decarboxylierenden Kondensation der BTS wurde bereits in einer vorangegangenen Arbeit als γ -Lacton der α -Methyl- α -hydroxy- β' -carboxy-adipinsäure identifiziert¹⁶⁾. Daneben bilden sich Brenzweinsäure und höhere Kondensationsprodukte, über die an anderer Stelle berichtet werden soll.

b) Nichtoxydative Decarboxylierung der α -Ketobuttersäure

22 g KBS und 16,3 g $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ wurden in 100 ml Wasser gelöst und mit 4 n KOH auf p_H 3 gebracht. Unter Durchleiten eines Stickstoffstroms wurde die Lösung auf 70° gehalten. Nach 384 Stunden und einer CO_2 -Ausbeute von 16,6% wurde die Reaktion abgebrochen. In der dunkelbraunen Reaktionslösung konnte KBS mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin nicht mehr nachgewiesen werden. Die erhaltenen Fällungen sprechen vielmehr dafür, daß höhere Kondensationsprodukte entstanden waren, die z. T. noch Carbonylfunktionen enthalten.

Aus der zur Trocknung des N_2/CO_2 -Stromes den Absorptionsgefäßen vorgeschalteten konz. H_2SO_4 ließ sich nach erfolgter Umsetzung α -Me-

¹⁶⁾ A. SCHELLENBERGER, Hoppe-Seylers Z. physiol. Ch. **309**, 16 (1957).

thyl- β -äthylacrolein als Kondensationsprodukt des Propionaldehyds in Form des 2,4-Dinitrophenylhydrazons einwandfrei identifizieren. Eine durch die konz. H_2SO_4 bewirkte Decarboxylierung der KBS ist kaum anzunehmen, da diese im Gegensatz zur BTS gegen konz. H_2SO_4 weitgehend stabil ist.

c) Oxydative Decarboxylierung von Brenztraubensäure und α -Ketobuttersäure durch Mangan-II-Salze

50 g BTS bzw. TBTS, gelöst in 300 ml Wasser, wurden mit einer Lösung von 50 g $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ in 300 ml Wasser vereinigt. Durch die Lösung wurde bei 70° so lange Sauerstoff geleitet, bis keine CO_2 -Entwicklung mehr nachweisbar war (96–98proz. Umsetzung). Die entstandenen Reaktionsgase wurden durch eine Kühlfalle geleitet, in der sich nach erfolgter Umsetzung bei Verwendung von BTS vornehmlich Diacetyl, bei Verwendung von TBTS nur geringe Mengen eines stark gelb gefärbten Produktes (2,2,5,5-Tetramethyl-hexandion(3,4) neben 10,8 g einer bei 80° destillierbaren Flüssigkeit (hauptsächlich tert. Butanol neben wenig Aceton) befanden. Die Ausbeute an Fettsäuren betrug 64% im Falle der BTS und 48% bei der TBTS.

Unserem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. W. LANGENBECK, danken wir an dieser Stelle für die freundliche Unterstützung, die er uns bei der Anfertigung dieser Arbeit gewährt hat.

Halle (Saale), Institut für Organische Chemie.

Bei der Redaktion eingegangen am 23. März 1959.

Verantwortlich

für die Schriftleitung: Prof. Dr.-Ing. E. Leibnitz, Leipzig O 5, Permoserstraße 15;
für den Anzeigenteil: Rudolph Friedrich (VEB Georg Thieme, Anzeigenabteilung),
Leipzig C 1, Thomaskirchhof 20, Ruf 21 005. Z. Z. gilt Anzeigenpreislste Nr. 1; Verlag: Johann
Ambrosius Barth, Leipzig C 1, Salomonstraße 18B; Fernruf 27 681 und 27 682. ZLN 5065

Printed in Germany

Druck: Paul Dünnhaupt, Köthen (IV/5/1) L 58/59