

## Zur Kenntnis des Glycerinaldehyds.

II. Mitteilung, zugleich VII. Mitteilung über den alkalischen Zuckerabbau.

Von

V. Prey, E. Waldmann, H. Berbalk und F. Ludwig.

Aus dem Institut für organische Chemie der Technischen Hochschule Wien.

Mit 1 Abbildung.

(Eingelangt am 30. März 1953. Vorgelegt in der Sitzung am 23. April 1953.)

Glycerinaldehyd als ein wichtiges Spaltstück des alkalischen Zuckerabbaues wird für sich im alkalischen Milieu verschiedenen Versuchsbedingungen unterworfen und die dabei auftretenden Umwandlungsprodukte zunächst qualitativ papierchromatographisch und polarographisch erfaßt. Auf Grund der Ergebnisse wird ein vorläufiges Reaktionsschema zur Diskussion gestellt.

Im Zuge unserer Untersuchungen über den alkalischen Zuckerabbau (Glucose) sollte auch der dabei primär durch Spaltung entstehende Glycerinaldehyd im alkalischen Milieu näher untersucht werden. Dabei sind hauptsächlich vier Möglichkeiten: 1. Umlagerung in Dioxyaceton, 2. Kondensation mit dem gebildeten Dioxyaceton zu Hexosen, 3. Spaltung von Glycerinaldehyd, Dioxyaceton und den Kondensationsprodukten, 4. weitere Umlagerungen der obigen Spaltprodukte (3).

Über die Umwandlung des Glycerinaldehyds durch Pyridin zu Dioxyaceton wurde erstmalig von *H. O. L. Fischer*, *C. Taube* und *E. Baer*<sup>1</sup> berichtet. Dieselben Autoren nehmen auf Grund ihrer Versuche zur Bildung von d-Fructose und d-Sorbose aus d-Glycerinaldehyd an, daß die Umlagerung von Dioxyaceton in Glycerinaldehyd keine Rolle spielen könne, da sie keine Racemate der angegebenen Hexosen fanden<sup>2</sup>.

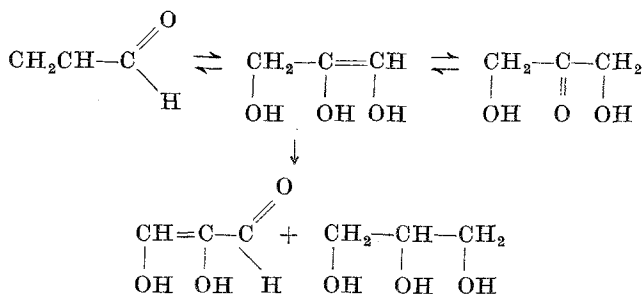
Wir knüpfen an diese Untersuchungen an und fanden nach dem Erwärmen von Glycerinaldehyd mit Pyridin während 40 Min. auf 100°

<sup>1</sup> Ber. dtsch. chem. Ges. **60**, 479 (1927).

<sup>2</sup> Helv. Chim. Acta **19**, 519 (1936).

(ebenso mit Pyridin : Wasser = 2 : 1) durch qualitative papierchromatographische Untersuchung des Reaktionsgemisches annähernd gleiche Mengen Glycerinaldehyd und Dioxyaceton; außerdem kleine Mengen Acetol. Der Vollständigkeit halber untersuchten wir aber auch die Umwandlung von Dioxyaceton unter denselben Bedingungen und fanden neben Dioxyaceton auch Glycerinaldehyd und außerdem kleine Mengen von Milchsäurealdehyd. Wir haben die Umlagerungen mittels Pyridin und Pyridin-Wasser auch bei 30° während 1 Std., 18 und 48 Stdn. sowohl von Glycerinaldehyd als auch von Dioxyaceton weitergeführt und kamen dabei zu ähnlichen Resultaten wie vorher.

Da die Umlagerung über das gemeinsame Endiol der beiden Verbindungen gehen soll, haben wir auch versucht, diese Endiole festzustellen, und überdies, angeregt durch die Arbeiten von *H. Euler* und *H. Hasselquist*<sup>3</sup> und in letzter Zeit von *F. Petuely*<sup>4</sup>, auch auf eventuelle Reduktionbildung durch Disproportionierung der Endiole in saurem Zustand mit *Tillmans'* Reagens geprüft<sup>5</sup>.



Es konnten bei allen geprüften Reaktionsgemischen Endiol, aber nur in einzelnen Fällen das Auftreten einer Endiol- $\alpha$ -Carbonylstruktur<sup>4</sup> festgestellt werden (Tabellen 1 und 2), vielleicht deshalb, weil wir vorläufig nicht unter Stickstoffabschluß arbeiteten und daher, wenn Stoffe mit Reduktionstruktur auftraten, diese zum größten Teil durch den Luftsauerstoff wieder zerstört wurden.

Im Hinblick auf das Auftreten von Acetol und Milchsäurealdehyd bei der Umlagerung von Glycerinaldehyd und Dioxyaceton behandelten wir auch Acetol und Methylglyoxal unter denselben Bedingungen und fanden im Falle des Acetols Milchsäurealdehyd und beim Methylglyoxal Milchsäurealdehyd und wahrscheinlich ein Kondensationsprodukt der Brenztraubensäure ( $R_F = 0,06$ ).

<sup>3</sup> Reduktone (1950).

<sup>4</sup> Mh. Chem. 84, 116 (1953).

<sup>5</sup> *W. Stoll, E. Waldmann, V. Prey* und *H. Berbalk*, Mh. Chem. 83, 988 (1952).

Weitere Versuche zur Umlagerung von Glycerinaldehyd und Dioxyaceton wurden dann im alkalischen Milieu, beginnend mit 0,01 n Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> über 0,1 n Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 0,01 n NaOH, 0,1 n NaOH, 0,25 n NaOH bis 1 n NaOH 1 Std., 18 und 48 Stdn. angestellt. Die Aufarbeitung der Reaktionsgemische erfolgte papierchromatographisch, wie im experimentellen Teil beschrieben; jedes Gemisch wurde wieder alkalisch und sauer mit *Tillmans'* Reagens überprüft (Tabellen 3 bis 9).

Zur polarographischen Erfassung der verschiedenen zu erwartenden Spalt- und Umlagerungsprodukte standen grundsätzlich zwei Möglichkeiten zur Verfügung, entweder mit den für die papierchromatographischen Versuche verwendeten Alkalilösungen zu arbeiten und nach beendeter Reaktion das Alkali mit einem geeigneten Ionenaustauscher zu entfernen, oder das Natriumhydroxyd durch Tetramethylammonium - hydroxyd zu ersetzen. Da wir bisher noch keine Erfahrung über die Vollständigkeit der Austauscherwirkung namentlich in Hinblick auf die hohe Empfindlichkeit der polarographi-

Tabelle I. Umlagerungsversuche mit Pyridin und Pyridin: Wasser = 2:1 an Glycerinaldehyd.

Reaktionsbedingungen	R <sub>FP</sub> -Werte										Verhät. geg. <i>Tillmans'</i> Reagens		
	0,32 Glycerinaldehyd	0,49 Dioxy-aceton	0,77 Acetol	0,64 Milchsäurealdehyd	0,14 Glucose	0,20 Fructose	0,24 Mannose	0,28	0,06	Brenztraubensäure a 0,21 b 0,63	Milchsäure a 0,67 b 0,70	pH > 7	pH < 7
Pyridin, 1 Std., 30°	+											+	+
Pyridin: Wasser = 2:1, 1 Std., 30°	+											+	+
Pyridin, 18 Stdn., 30°	+											+	+
Pyridin: Wasser = 2:1, 18 Stdn., 30°	+											+	+
Pyridin, 48 Stdn., 30°	+											+	+
Pyridin: Wasser = 2:1, 48 Stdn., 30°	+											+	+
Pyridin, 40 Min., 100°	+											+	+
Pyridin: Wasser = 2:1, 40 Min., 100°	+											+	+
Pyridin, 40 Min., 100°	+											+	+
Pyridin: Wasser = 2:1, 40 Min., 100°	+											+	+

Tabelle 2. Umlagerungsversuche mit Pyridin und Pyridin: Wasser = 2:1 an Dioxyaceton.

Reaktionsbedingungen	E <sub>p</sub> -Werte										Verhalt. geg. <i>Trypanum</i> -Reagens		
	0,32 Glycerinaldehyd	0,49 Dioxyaceton	0,77 Acetol	0,64 Milchsäurealdehyd	0,14 Glucose	0,20 Fructose	0,24 Mannose	0,28	0,06	Brenztraubensäure a 0,21 b 0,63	Milchsäure a 0,67 b 0,70	pH > 7	pH < 7
Pyridin, 1 Std., 30°	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pyridin: Wasser = 2:1, 1 Std., 30°	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pyridin, 18 Stdn., 30°	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pyridin: Wasser = 2:1, 18 Stdn., 30°	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pyridin, 48 Stdn., 30°	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pyridin: Wasser = 2:1, 48 Stdn., 30°	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pyridin, 40 Min., 100°	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)
Pyridin: Wasser = 2:1, 40 Min., 100°	(-)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(-)

sehen Meßmethodik sammeln konnten, wählten wir den zweiten Weg. Da alle Aufnahmen vorläufig nur qualitativ ausgewertet wurden, konnte auf Temperaturkonstanz, Korrigieren der Halbstufenpotentiale nach I · R usw. verzichtet werden. Ebenso sind die gemessenen Potentiale auf Bodenquecksilber und nicht auf die Kalomelektrode bezogen.

Die polarographischen Kurven von Dioxyaceton, Glycerinaldehyd, Acetol, Methylglyoxal und Brenztraubensäure haben wir schon früher beschrieben<sup>5</sup>. Neu vermessen wurde Glykolaldehyd. Da die Substanz nicht völlig rein war, konnte nur das angenäherte Halbstufenpotential in neutraler, ungepufferter Lösung mit -1,57 V gegen Bodenquecksilber angegeben werden; genaue Messungen werden später veröffentlicht.

Reiner Glycerinaldehyd zeigt in neutraler Lösung ein  $E_{1/2} = -1,56$  V, dieses Potential verschiebt sich in gepufferter Lösung von pH = 10 nicht, es tritt lediglich am oberen Stufenende ein flaches Maximum auf. Nach 18 Stdn. Stehen in diesem Puffer verändert sich weder die Stufenhöhe noch das  $E_{1/2}$ . Ein geringer Knick im oberen Stufenteil könnte als Dioxyaceton angesprochen werden.

Reines Dioxyaceton zeigt in gepufferter Lösung pH = 10 ein  $E_{1/2} = -1,62$  V, Glycerinalde-

hyd wurde nach 18stündigem Stehen bei Raumtemperatur nicht gefunden. Die polarographische Untersuchung der Umwandlung des Glycerinaldehyds unter dem Einfluß einer 0,25 n Tetramethylammoniumhydroxydlösung ergibt bei 30° nach 1 Std. eine Kurve mit einem bei etwa  $-1,8$  V beginnenden steilen Anstieg, der nach einem Knick in ein deutliches Maximum übergeht. Aus dem weit in das Bereich negativer Potentiale gerückten Anstieg kann mit Sicherheit auf ein Fehlen größerer Mengen Glycerinaldehyd, Dioxyaceton, Glykolaldehyd und Brenztraubensäure geschlossen werden. Vorhanden können sein Acetol ( $E_{1/2} = -1,92$  bis  $1,93$  V und Milchsäurealdehyd  $E_{1/2} = -2,0$  V). Nach 18 Stdn. tritt qualitativ keine Veränderung der Kurvenform auf, ebenso nicht nach 48 Stdn.

Die Umsetzungen von Dioxyaceton mit 0,25 n Tetramethylammoniumhydroxydlösung bei 30° durch 1 Std. ergaben bei der polarographischen Auswertung eine Kurve, die eine gut erkennbare Stufe mit  $E_{1/2} = -1,95$  bis  $1,97$  V zeigt, der ein deutliches steiles Maximum aufgesetzt ist.

Tabelle 3. Umlagerungsversuche an Acetol, Methylglyoxal und Milchsäurealdehyd mit Pyridin bei 100°, 40 Min.

$R_F$	Acetol 0,77	Milchsäurealdehyd 0,64	0,66
Acetol.....	—	+	—
Methylglyoxal.....	+	+	+

Diese Stufe könnte wegen der Ähnlichkeit der Stufenhöhenabhängigkeit von der Höhe des Quecksilberniveaus Acetol oder Milchsäurealdehyd zugeordnet werden. Kurvenform und Lage von  $E_{1/2}$  ändern sich nach 18 und 48 Stdn. Reaktionsdauer nicht. Dioxyaceton und Glycerinaldehyd sind unter obigen Bedingungen nach einiger Zeit in nennenswerten Mengen nicht nachweisbar.

Die Polarogramme von Glycerinaldehyd und Dioxyaceton sowie jeweils eine der Kurven der Umlagerungsversuche sind in der Abb. 1 (S. 562) wiedergegeben.

Um den Zusammenhang der polarographischen und papierchromatographischen Ergebnisse zu zeigen, wurden die für die Polarographie eingesetzten Reaktionsgemische mit 0,25 n Tetramethylammoniumhydroxydlösung auch papierchromatographisch untersucht. Jedes Reaktionsgemisch überprüften wir auch sauer und alkalisch mit *Tillmans'* Reagens (Tabelle 10).

Aus den vorliegenden papierchromatographisch und polarographisch ausgewerteten Versuchen geht hervor, daß bei der Einwirkung von Alkali



Tabelle 6. Umlagerungsversuche an Glycerinaldehyd bei 30°, 48 Stdn.

Reaktionsbedingungen	R <sub>F</sub> -Werte											Verh. Geg. <i>Tylinans</i> ' Reagens					
	0,32 Glycerinaldehyd	0,49 Dioxyceton	0,77 Acetol	0,64 Milchsäurealdehyd	0,14 Glucose	0,20 Fruktose	0,24 Mannose	0,28	0,06	Brenztraubensäure			Milchsäure				
										0,19	a 0,21	b 0,63	a 0,67	b 0,70	pH > 7	pH < 7	
0,01 n Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> . . . . .	+	+	(-)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,1 n Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> . . . . .	+	+	(-)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,01 n NaOH . . . . .	+	+	(-)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,1 n NaOH . . . . .	+	+	(-)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,25 n NaOH . . . . .	+	+	(-)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1 n NaOH . . . . .	+	+	(-)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Bei diesen Versuchen wurde nach Destillation des Reaktionsgemisches auch auf die flüchtigen Säuren und Formaldehyd geprüft und Formaldehyd im Destillat mit fuchsin-schwefeliger Säure<sup>12</sup> und mit Dimedon<sup>13</sup> und mit Ameisensäure und Essigsäure nach *W. L. Evans* und *H. B. Hass*<sup>14</sup> nachgewiesen.

<sup>12</sup> *L. Rosenthaler*, Nachweis organischer Verbindungen.

<sup>13</sup> *V. L. Kofler* und *H. Hilbeck*, Mikrochem. 8, 117 (1930).

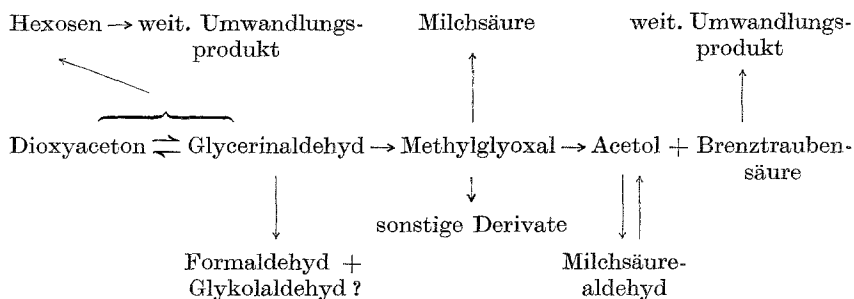
<sup>14</sup> *J. Amer. Chem. Soc.* 48, 2703 (1926).







(bzw. Pyridin) auf Glycerinaldehyd oder Dioxyaceton eine Reihe von Umwandlungen und Folgereaktionen eintritt, die in ihrem qualitativen und quantitativen Ausmaß stark von den Reaktionsbedingungen abhängen. Die bisherigen qualitativen Versuchsergebnisse, die zur ersten Orientierung dienen sollen, veranlassen zur Aufstellung des folgenden, jedoch noch lückenhaften Reaktionsschemas:



Die Umlagerung von Glycerinaldehyd in Dioxyaceton ist bereits, wie erwähnt, von *H. O. L. Fischer* und Mitarb. exakt nachgewiesen worden; der umgekehrte Fall ist zwar wiederholt behauptet, aber unseres Wissens noch nicht experimentell festgestellt worden.

Bei unseren papierchromatographischen Untersuchungen sind wiederholt Verbindungen festgestellt worden, die ihrem  $R_F$ -Wert nach in das Gebiet der Fructose, Mannose und Glucose hineinfallen und mit großer Wahrscheinlichkeit als Hexosen anzusprechen sind.

Methylglyoxal läßt sich, wie wir bereits früher<sup>6</sup> gefunden haben, papierchromatographisch nicht nachweisen. Es wird unter dem Einfluß von Alkali auch sonst so rasch verändert, daß es durch *m*-Nitrobenzhydrazid nicht oder nur wenig nachzuweisen ist<sup>7</sup>.

Die Umwandlung des Methylglyoxals durch Alkali geeigneter Konzentration in Milchsäure („intramolekulare *Cannizzaro*-Reaktion“) ist seit langem bekannt.

*C. Neuberg*<sup>8</sup> hat überdies vermutet, daß die beim alkalischen Zuckerabbau festgestellten Verbindungen Acetol und Brenztraubensäure ihren Ursprung dem Methylglyoxal verdanken („intermolekulare *Cannizzaro*-Reaktion“), doch konnte diese Ansicht von anderen Forschern<sup>9</sup> experimentell nicht bestätigt werden.

Wenn wir in unserem obigen Reaktionsschema doch der Deutung *Neubergs* vorläufig folgen, so deshalb, weil wir bei unseren Versuchen im

<sup>6</sup> *V. Prey, E. Waldmann, F. Ludwig* und *H. Berbalk*, Mh. Chem. **83**, 1344 (1952).

<sup>7</sup> *E. Waldmann* und *V. Prey*, Mh. Chem. **82**, 856 (1951).

<sup>8</sup> *Biochem. Z.* **49**, 502 (1913).

<sup>9</sup> *R. Nodzu* und *R. Goto*, Bull. Chem. Soc. Japan **15**, 209 (1940).

Chromatogramm (Tabellen 5, 6, 7, 8, 9 und 10) neben Acetol und einer Substanz vom  $R_F$ -Wert der Brenztraubensäure wiederholt auch eine Verbindung mit dem  $R_F$ -Wert 0,06 feststellen konnten. Diesen gleichen  $R_F$ -Wert zeigt auch eine Brenztraubensäure, die mit Alkali vorbehandelt worden war.

Auf das Gleichgewicht Acetol—Milchsäurealdehyd hat vor allem *R. Goto*<sup>10</sup> aufmerksam gemacht.

Die von den verschiedenen Forschern beim Studium des alkalischen Zuckerabbaues festgestellten Widersprüche finden zum Teil ihre Erklärung in den wechselnden Reaktionsbedingungen, unter denen gearbeitet worden ist. Wir bleiben weiter bemüht, durch das Studium der einzelnen Teilreaktionen das chemische Geschehen beim Zuckerabbau mit aufzuklären.

### Experimenteller Teil.

Die Untersuchungen wurden mit einer Stammlösung von 0,075 g Glycerinaldehyd bzw. Dioxyacetone pro 1 ccm durchgeführt, wovon wir jeweils 1 ccm mit der entsprechenden Lösung von Alkali, Pyridin bzw. Tetramethylammoniumhydroxyd auf 5 ccm auffüllten, so daß im ccm 0,015 g Substanz vorhanden waren.

Diese Lösungen standen dann 1 Std., 18 bzw. 48 Stdn. in einem Thermostaten bei 30° und wurden anschließend über einen Kationenaustauscher (Amberlit IR 120) geschickt, um die Kationen zu entfernen. Mit Pyridin und Tetramethylammoniumhydroxyd arbeiteten wir auch noch bei höherer Temperatur; diese Lösungen wurden nicht mit einem Ionenaustauscher behandelt. Die so erhaltenen Reaktionsgemische chromatographierten wir auf einem Papier von Schleicher & Schüll 2043 b in großen Glaszylindern. Die Ermittlung der nichtsauren Substanzen erfolgte absteigend auf Papierbändern, wobei als Lösungsmittelgemisch Cyclohexanol:Pyridin:Wasser = 5:3:3 verwendet wurde<sup>6</sup>; die Laufzeit war durchschnittlich 48 Stdn. bei 20°, die Wanderungsstrecke zirka 33 bis 35 cm. Nach dem Trocknen der Papierstreifen entwickelten wir durch Besprühen mit einer 1%igen alkohol. Lösung von *m*-Phenylendiamin-dihydrochlorid und trockneten nachher bei 100° 10 Min. Die Auswertung erfolgte mit Hilfe einer UV-Analysenlampe im auffallenden und durchscheinenden Licht.

Die sauren Substanzen chromatographierten wir aufsteigend mit

a) *n*-Butanol: Benzylalkohol: Wasser = 5:5:1 + 1% Ameisensäure 24 Stdn.,

b) Phenol: Wasser = 3:1 + 1% Ameisensäure zirka 36 Stdn.<sup>11</sup>

Die Chromatogramme von der Größe 30 × 47 cm wurden nach dem Trocknen an der Luft noch einmal mit Wasser besprüht, wieder getrocknet und mit einer 0,04%igen alkohol. Lösung von Bromphenolblau entwickelt.

In den angeführten Tabellen 1 bis 10 wird die Menge eines auftretenden Stoffes mit + bis +++ abgeschätzt, (+) bedeutet, daß die Schätzung fraglich ist, —, daß nichts gefunden wurde. Bei den unausgefüllten Feldern wurde nicht geprüft.

Bei allen Chromatogrammen wurde als Lösungsmittelgemisch Cyclo-

<sup>10</sup> Bull. Chem. Soc. Japan 15, 103 (1940).

<sup>11</sup> J. B. Stark und Mitarb., Analyt. Chemistry 23, 413 (1951).

hexanol, Pyridin, Wasser<sup>6</sup> verwendet, bei den  $R_F$ -Werten, die mit a bezeichnet sind, Phenol-Wasser, die mit b bezeichnet sind, Benzylalkohol-Butylalkohol-Wasser.

Die polarographische Vermessung erfolgte mit einem *Heyrovsky*-Polarographen, Modell Sargent M XII, die Kapillare hatte die Konstanten:  $m = 5,0366 \text{ mg Hg/sec.}$ ,  $t = 0,875 \text{ sec.}$ ,  $H = 123,5 \text{ cm.}$ ,  $\log k = 0,45843$ .

Grundelektrolyt war reinstes

Tetramethylammonbromid, meist in etwa 0,05 m molarer wäßr. Lösung, nur für Aufnahmen über  $-1,8 \text{ V}$  wurde Tetrabutylammonjodid verwendet. Die 0,25 n Tetramethylammonhydroxydlösung wurde durch Umsetzen von Tetramethylammonbromid mit reinstem, mehrmals mit dest. Wasser extrahiertem feuchtem Silberoxyd in wäßr. Aufschlämmung hergestellt. Zur Entfernung eventuell noch vorhandener Trimethylverbindung wurde einige Min. mit Wasserdampf geblasen. Sämtliche Umsetzungen werden zweckmäßig in Quarzgefäßen durchgeführt, um eine Verunreinigung mit fremden Kationen (hauptsächlich Na und K aus dem

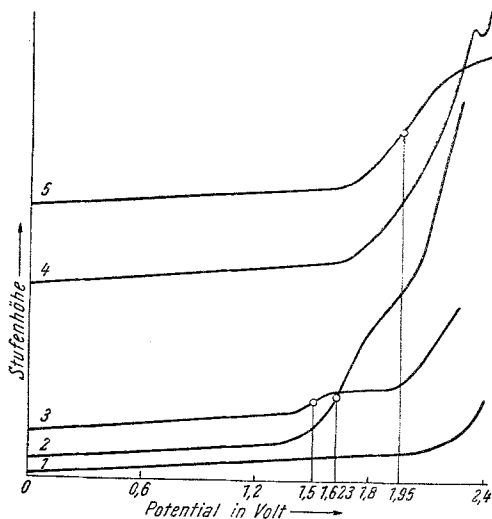


Abb. 1. 1: Grundlösung.  
2: Dioxyaceton.  
3: Glycerinaldehyd.  
4: Glycerinaldehyd in  $n/4 \text{ N}(\text{CH}_3)_4\text{OH}$ ,  
48 Stdn. bei  $30^\circ \text{C}$ .  
5: Dioxyaceton in  $n/4 \text{ N}(\text{CH}_3)_4\text{OH}$ ,  
48 Stdn. bei  $30^\circ \text{C}$ .

Glas!) zu verhindern. Das so hergestellte Tetramethylammonhydroxyd zeigt bis zum Endanstieg keine Stufe, ist also polarographisch rein. Die polarographischen Aufnahmen werden wie üblich durchgeführt, ein Zusatz von Grundelektrolyt erübrigt sich in den meisten Fällen, da das vorhandene Tetramethylammonhydroxyd in hinreichender Konzentration vorhanden ist.