

Zur Kenntnis der Brenztraubensäure*.

VIII. Mitteilung: Zur Kenntnis des alkalischen Zuckerabbaues.

Von

E. Waldmann, V. Prey und F. Jelinek.

Aus dem Institut für Organische Chemie der Technischen Hochschule Wien.

(Eingelangt am 29. April 1954.)

Das Verhalten der Brenztraubensäure und ihrer Kondensationsprodukte Ketovalerolaktocarbonsäure und Parabrenztraubensäure im alkalischen Medium wird untersucht und eine neue Konstitutionsformel der Parabrenztraubensäure angegeben.

Während die große Bedeutung der Brenztraubensäure als Zwischen- bzw. Endprodukt beim Abbau der Kohlehydrate im biochemischen Geschehen eindeutig feststeht, ist ihre Herkunft und ihre Rolle beim alkalischen Zuckerabbau umstritten^{1, 2}.

Bei unseren Arbeiten über das Verhalten des Glycerinaldehyds und Dioxyacetons im alkalischen Milieu³ konnten wir papierchromatographisch das Auftreten von BTS (Brenztraubensäure) ziemlich eindeutig feststellen. Gleichzeitig traten aber dabei auch Substanzen auf, deren R_f -Werte mit den R_f -Werten von Stoffen übereinstimmten, die wir bei der alkalischen Behandlung von BTS unter denselben Bedingungen erhielten. Wir konnten daher annehmen, daß diese Stoffe Umwandlungs- bzw. Kondensationsprodukte der BTS sind.

Nun ist seit langer Zeit bekannt⁴⁻⁶, daß die BTS schon bei längerem Stehen besonders in wäßriger Lösung bei gewöhnlicher Temperatur,

* Herrn Prof. Dr. L. Ebert zum 60. Geburtstag gewidmet.

¹ C. Neuberg, Biochem. Z. **49**, 502 (1913).

² R. Nodzu und R. Goto, Bull. Chem. Soc. Japan **15**, 209 (1940).

³ V. Prey, E. Waldmann, H. Berbalk und F. Ludwig, Mh. Chem. **84**, 551 (1953).

⁴ C. Voelkel, Ann. Chem. **89**, 57 (1854).

⁵ C. Boettinger, Ann. Chem. **172**, 241, 258 (1874); **188**, 293 (1877); **208**, 122 (1880).

⁶ C. Finck, Ann. Chem. **122**, 182 (1862).

mehr noch aber im alkalischen Milieu, namentlich in der Wärme, verschiedene Säuren, wie Ketovalerolactocarbonsäure (KVL), Parabrenztraubensäure (PBTS), Methyl-dihydrotrimesinsäure, Uvitinsäure und Brenzweinsäure, ergibt, die wir in der Folge nach Literaturangaben herstellten.

Reine BTS wurde durch wiederholtes Destillieren im Vak. bei 10 Torr und 59,5 bis 60,5° gewonnen.

Die von *L. Wolf*⁷ beschriebene KVL (I) gewannen wir aus den Destillationsrückständen der BTS.

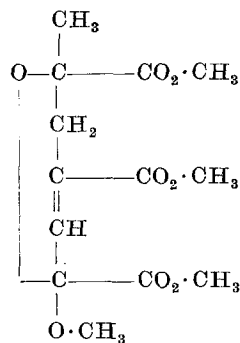
Die Methyl-dihydrotrimesinsäure (II), die Uvitinsäure (III), die Brenzweinsäure (IV) und die PBTS (V) stellten wir ebenfalls nach den Angaben von *L. Wolf*⁷ dar. Während nun über die Konstitutionsformel der obgenannten Kondensationsprodukte der BTS (I bis IV) kein Zweifel besteht, konnten wir für die PBTS (V) keinerlei genaue Angaben über deren Konstitution finden. *L. Wolf*, welcher der PBTS in seiner ersten Arbeit eine Formel zuordnete, widerrief diese später in einer zweiten Arbeit.

Da die nach Literaturangaben dargestellte PBTS (V) stets sehr unrein ist, kann sie für eine Konstitutionsbestimmung nicht verwendet werden. Wir ermittelten daher ihre Konstitutionsformel über einen ihr nahestehenden Methyl-ester, der sich gut in vollkommen reiner Form herstellen ließ.

Trockenes, parabrenztraubensaures Blei, nach *Wolf* hergestellt, wird mit methylalkohol. Salzsäure verestert (siehe exper. Teil). Beim Destillieren des rohen Esters erhält man bei 11 Torr 2 Fraktionen (140 bis 183° und 183 bis 202°), aus denen sich Kristalle abscheiden, die nach erfolgter Reinigung bei 90° schmelzen.

Die Bruttoformel dieser Verbindung ist im Hinblick auf die Elementaranalyse und das Molekulargewicht $C_{13}H_{18}O_8$. Sie enthält in Hinblick auf die Verseifungszahl drei mit Methylalkohol veresterte Carboxylgruppen, jedoch insgesamt (Methoxylzahl!) vier Methoxyle. Da außerdem der aktive Wasserstoff gleich Null ist, das heißt keine offene OH-Gruppe vorhanden ist, und die Hydrierzahl für eine olefinische Doppelbindung im Molekül spricht, so besitzt der Ester offenbar die nebenstehende Konstitutionsformel.

Der Körper ist also aus 3 Molekülen Brenztraubensäure, die sich aldolartig kondensiert haben, aufgebaut, wobei die noch verbliebene freie

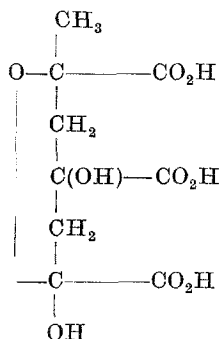


2-Methoxy-6-methyl-
2,4,6-tricarbo-methoxy-pyran-dihydrid-
(5,6)

⁷ *L. Wolf*, Ann. Chem. **305**, 125 (1899); **317**, 1 (1901).

OH- und Ketogruppe sich acetalartig binden. Damit in Einklang steht auch der Befund, daß die Substanz mit Ketonreagenzien, z. B. Dinitrophenylhydrazin, keinen Niederschlag gibt. Die Doppelbindung ist der ehemaligen Ketogruppe benachbart und erscheint uns in dieser Lage wahrscheinlicher, als wenn sie um eine Stufe verschoben wäre.

Die Parabrenztraubensäure selbst nimmt bei der Hydrierung keinen Wasserstoff auf, sie hat daher noch die OH-Gruppe und besitzt offenbar die nebenstehende Formel.



Die Säuren (I bis IV) wurden solange gereinigt, bis die papierchromatographischen Untersuchungen das Vorliegen einheitlicher Substanzen aufzeigten, deren R_f -Werte unter den von uns gewählten Bedingungen³ festgehalten wurden. Die PBTS (V) konnte vorläufig nicht von ihren Begleitstoffen befreit werden.

Es ist als wahrscheinlich anzunehmen, daß zumindest die Säuren I und V, die im alkalischen Milieu aus BTS entstehen, umgekehrt auch zu BTS rückgespalten werden; es besteht also eine

Art Gleichgewicht.

Um die Umwandlung der BTS im alkalischen Milieu in ihre Kondensationsprodukte und die Rückbildung aus diesen verfolgen zu können, war es notwendig, eine zuverlässige quantitative Schnellbestimmungsmethode der BTS zu entwickeln.

Unter den in der Literatur bekannten quantitativen Bestimmungsformen kennen wir Oxydations-⁸, Reduktionsmethoden⁹, jödometrische¹⁰, chromatographische¹¹, polarographische¹², kolorimetrische¹³, titanometrische¹⁴ und gravimetrische¹⁵ Verfahren.

⁸ *W. H. Hatcher* und *A. C. Hill*, *Trans. Roy. Soc. Canada* (3) **22**, 111, 212 (1928). — *C. A. Bunton*, *Nature* **163**, 444; *Chem. Zbl.* **1950 I**, 1834. — *Th. Wieland* und *A. Franke*, *Ann. Chem.* **457**, 38 (1937). — *C. Fromageot* und *P. Desmelle*, *Biochem. Z.* **279**, 174 (1935). — *P. Fleury* und *S. Boisson*, *C. r. acad. sci., Paris* **204**, 1264 (1937).

⁹ *B. H. Krishna* und *M. Sreenivasaya*, *Biochemic. J.* **22**, 1169 (1930). — *W. B. Wendel*, *J. Biol. Chem.* **94**, 717 (1932); **102**, 47 (1933).

¹⁰ *A. Fernbach* und *M. Schön*, *C. r. acad. sci., Paris* **170**, 765 (1920). — *G. Klein* und *W. Fuchs*, *Biochem. Z.* **213**, 52 (1929). — *Th. Wieland*, *Ann. Chem.* **406**, 233 (1924). — *W. Franke*, *ibid.* **457**, 38 (1927). — *E. Haag* und *Ch. Dalphin*, *Helv. Chim. Acta* **26**, 246 (1943). — *F. P. Clift* und *R. P. Cook*, *Biochemic. J.* **26**, 1788 (1933).

¹¹ *H. H. Strain*, *J. Amer. Chem. Soc.* **57**, 758 (1935). — *J. D. Roberts* und *Ch. Green*, *Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed.* **18**, 335 (1946). — *J. W. H. Lugg* und *B. T. Overell*, *Austral. Res., Ser. A* **1**, 98 (1948). — *Th. Wieland* und *E. Fischer*, *Naturwiss.* **36**, 219 (1950). — *V. Prey*, *E. Waldmann*, *F. Ludwig* und *H. Berbalk*, *Mh. Chem.* **83**, 1344 (1952).

Da wir bei der alkalischen Behandlung der BTS damit rechnen mußten, die BTS in einem Gemisch verschiedener carbonylhaltiger Verbindungen zu bestimmen, erschienen uns die Methoden am zweckmäßigsten, bei denen die BTS zuerst z. B. als Hydrazone gefällt wird und dann auf Grund der vorhandenen Carboxylgruppe das isolierte Hydrazone der BTS spezifisch erfaßt werden kann.

Schon *L. Simon* und *L. Piaux*¹⁶ fällten BTS mit Phenylhydrazin oder frisch bereitetem 4-Br-phenylhydrazin in schwach saurer Lösung und titrierten das mit Wasser gewaschene Hydrazone mit Natronlauge und Phenolphthalein als Indikator. Später verwendeten *St. Veibel* und *V. Hauge*¹⁷ p-Hydrazino-benzoesäure zur Fällung der BTS und titrierten nach Umkristallisieren des Hydrazids aus Alkohol mit Barytlauge und Phenolphthalein (Genauigkeit 1/2 bis 1%).

Bei beiden Verfahren wird das aufgeschlämmte Hydrazone titriert, was nicht sehr angenehm ist. Verwendet man NaOH als Reagens, so tritt eine starke Rotfärbung ein, die ein Erkennen des Umschlagspunktes erschwert; Barytlauge als Titerflüssigkeit hat den Nachteil der Unbeständigkeit.

Uns erschien besonders das in der Literatur¹⁵ wiederholt erwähnte 2,4-Dinitrophenylhydrazin als Abscheidungsreagens geeignet, da es gestattet, auch geringste Mengen von BTS quantitativ zu erfassen. Es wurde daher schon zur quantitativen kolorimetrischen Bestimmung der BTS herangezogen, wobei das Hydrazone mit roter Farbe in NaOH gelöst wird.

Wir versuchten, das isolierte BTS-2,4-Dinitrophenylhydrazin in einem Überschuß von Alkali zu lösen und dann die BTS durch Rücktitration des Alkaliüberschusses quantitativ zu erfassen. Das Verhalten des BTS-2,4-Dinitrophenylhydrazons in alkalischem Medium zeigte (Tabelle 1), daß Ätzalkalien das Hydrazone stark verändern bzw. zerstören; es wurde daher von uns 0,1 n Sodalösung verwendet und der Überschuß der Sodalösung mit n/30 HCl auf den Umschlagspunkt von Methylorange potentiometrisch zurücktitriert.

¹² *I. A. Korshunov, Z. B. Kuznetsova* und *M. K. Shchennikova*, *Fiz. Khim.* **23**, 1292 (1949). — *T. Santovy*, *Bull. soc. chim. biol.* **31**, 1221 (1949).

¹³ *E. M. Case*, *Biochemic. J.* **26**, 753 (1933). — *G. D. Lu*, *ibid.* **33**, 249 (1939). — *E. Kírberger*, *Klin. Wschr.* **27**, 48 (1950).

¹⁴ *F. Ludwig, E. Waldmann* und *V. Prey*, *Mh. Chem.* **83**, 1352 (1952).

¹⁵ *C. Neuberg* und *M. Kobel*, *Biochem. Z.* **216**, 495 (1929). — *Cl. F. H. Allan*, *J. Amer. Chem. Soc.* **52**, 2955 (1930). — *C. Neuberg* und *E. Simon*, *Biochem. Z.* **233**, 479 (1931). — *A. P. Sunner* und *M. Farran*, *ibid.* **287**, 113 (1936). — *Tsotomu Shindo*, *Z. physiol. Chem.* **251**, 285 (1939).

¹⁶ *L. Simon* und *L. Piaux*, *Bull. soc. chim. biol.* **6**, 480 (1924).

¹⁷ *St. Veibel* und *V. Hauge*, *Bull. soc. chim. France* (5) **5**, 1806 (1939).

Tabelle 1.

BTS-Dinitrophenylhydrazon wurde in Alkali gelöst, auf 50 bzw. 100° $\frac{1}{2}$ bzw. 1 Std. erhitzt, mit HCl wieder gefällt und die Menge sowie Schmp. und Säurezahl des wiedergewonnenen Hydrazons bestimmt.

Einwaage- Hydra- zon in g	Alkali 5 Äquival.	Einwir- kungs- dauer/h	Temp. ° C	Hydrazon nach Wiederfällung in g (%)	Schmp. (Theor. 218°)	SZ. (Theor. 209,9)	Farbe
0,1263	0,5 n NaOH	1	50	0,0833 (66)	168—182	166,1	braun
0,1235	0,5 n NaOH	$\frac{1}{2}$	100	0,0386 (31,3)	—	—	—
0,1428	0,5 n Na ₂ CO ₃	1	50	0,1404 (98,3)	218	208,4	gelb
0,1298	0,5 n Na ₂ CO ₃	$\frac{1}{2}$	100	0,1005 (77,5)	198—212	188,5	ocker

Auf diese Weise konnten vollkommen einwandfreie Ergebnisse (Tabelle 2 und 3) erzielt werden, wie auch eine gravimetrische Überprüfung zeigte. Die Spezifität der Methode gegenüber anderen Carbonylverbindungen zeigt Tabelle 4. Wir konnten also jetzt in einem alkalischen Reaktionsgemisch den wahren Gehalt an BTS einwandfrei quantitativ bestimmen und damit einerseits die durch Kondensationsreaktionen verbrauchte BTS, andererseits die aus den Kondensationsprodukten, wie KVL, PBTS, durch alkalische Einwirkung wiederentstandene BTS ermitteln.

Tabelle 2.

Beleganalysen zeigen die obere und untere Grenze der Methode.

BTS, einge- wogen in g	Gefunden in g
0,0200	0,0195
0,0150	0,0150
0,0100	0,0100
0,0073	0,0072
0,0059	0,0060
0,0039	0,0039
0,0006	0,0005

Tabelle 3.

Um die Genauigkeit der Methode bezüglich der minimalen BTS-Konzentration festzustellen, wurden je 1 ccm einer 1%igen BTS-Lösung (0,01 g) auf folgende Weise mit Wasser verdünnt:

Verdünnung d. 1%igen Lösung	1 ccm d. Lösung BTS in g	Gefunden BTS in g
1 : 1	0,005	0,010
1 : 10	0,001	0,0099
1 : 250	0,00004	0,0098

Aus den durchgeführten Versuchen (Tabellen 6 bis 11) geht hervor, daß im alkalischen Milieu BTS besonders bei höheren Alkalikonzentrationen sowohl bei Zimmertemperatur über längere Zeit (15 Tage) als auch bei 100° C während 1 Std. bis zu 80% abgebaut bzw. umgewandelt wird. Ebenso werden KVL (I) und PBTS (V) unter ähnlichen Bedingungen ihrerseits teilweise in BTS zurückverwandelt.

Die papierchromatographische Untersuchung der Reaktionsgemische ergab in allen Fällen das Auftreten einer Substanz mit dem R_f -Wert 0,06.

Tabelle 4.

Die Zahlen geben die Mengen Carbonylverbindungen in g an, die als Gemisch in den Versuchen 1 bis 9 verwendet wurden; die letzte Reihe die gefundene BTS in g.

Versuchs-Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Methylglyoxal ..	0,0054	0,0069	0,0056	0,0126	0,0043	0,0069	0,0043	0,0022	0,0044
Glycerinaldehyd .	0,0071	0,0015	0,0062	0,0028	0,0049	0,0013	0,0037	0,0047	0,0030
Acetol.	0,0177	0,0081	0,0034	0,0020	0,0067	0,0171	0,0062	0,0026	0,0056
Dioxyacetone ..	0,00	0,00	0,0016	0,0018	0,0020	0,0015	0,0028	0,0066	0,0020
Ascorbinsäure. . . .	—	0,00	0,0044	0,00	—	—	—	—	—
Milchsäure .	0,00	0,00	0,0337	0,0240	—	—	—	—	—
Brenztraubensäure.	0,0100	0,0079	0,0036	0,0034	0,0006	0,0017	0,0021	0,0018	0,0055
Gefundene BTS	0,0108	0,0084	0,0034	0,0032	0,0004	0,0018	0,0024	0,0020	0,0060

Das Entstehen dieses Körpers aus BTS im alkalischen Milieu steht außerhalb jeden Zweifels. Er ist aber nach dem R_f -Wert nicht identisch mit einer der bis jetzt bekannten und von uns in dieser Arbeit untersuchten kondensierten Säuren (I bis V) aus BTS.

Da bei der Behandlung von Hexosen, Pentosen und Triosen im alkalischen Milieu in allen Fällen ebenfalls eine Substanz mit dem R_f -Wert 0,06 entsteht, kommt diesem Stoff eine ganz besondere Bedeutung beim alkalischen Zuckerabbau zu.

Über die Identifizierung dieser Substanz und die durchgeführten papierchromatographischen Untersuchungen der Reaktionsgemische von BTS im alkalischen Milieu werden wir in Kürze berichten.

Tabelle 5. Überprüfung der Haltbarkeit von wäbr. BTS-Lösung unter Luft- und Lichtausschluß (in Quarzgefäßen).

Verwendet wurde eine 1%ige wäbr. Lösung, deren Gehalt nach 2, 7, 9 und 15 Tagen acidimetrisch mit 0,1 n Na_2CO_3 und als 2,4-Dinitrophenylhydrazon (wie oben beschrieben) bestimmt wurde.

Zeit Tage	BTS gefunden in g acidimetrisch als Hydrazon	
0	0,0095	0,0086
2	0,0093	0,0084
7	0,0092	0,0084
9	0,0092	0,0084
15	0,0092	0,0083

Experimenteller Teil.

Veresterung der Parabrenztraubensäure.

Parabrenztraubensäures Blei, das einige Stunden bei 65° an der Luft getrocknet wurde (67 g), wird in einem Kolben mit 250 g absol. Methyl-

Tabelle 6. Verhalten der BTS, KVL und PBTS im alkalischen Milieu.

Es wurde jeweils 1 Mol BTS mit $\frac{1}{2}$, 1, 3 und 5 Molen eisgekühlter 1 n NaOH vermischt und 15 Tage bei Zimmertemp. stehengelassen. Nach 2, 7, 9 und 15 Tagen wurde die BTS nach oben entwickelter Methode als 2,4-Dinitrophenylhydrazon bestimmt.

Mit $\frac{1}{2}$ Mol 1 n NaOH.			Mit 1 Mol 1 n NaOH.		
Zeit Tage	BTS gefunden in g als Hydrazon	%	Zeit Tage	BTS gefunden in g als Hydrazon	%
0	0,1284	—	0	0,0708	—
2	0,1280	99,7	2	0,0708	100,0
7	0,1260	98,4	7	0,0664	93,8
9	0,1256	98,1	9	0,0664	93,8
15	0,1200	93,7	15	0,0640	90,4
Mit 3 Mol 1 n NaOH.			Mit 5 Mol 1 n NaOH.		
0	0,0060	—	0	0,0055	—
2	0,0055	91,7	2	0,0035	63,6
7	0,0040	66,7	7	0,0024	43,6
9	0,0029	48,3	9	0,0022	40,0
15	0,0011	18,3	15	0,0009	16,4

Tabelle 7.

KVL wurde zuerst mit 0,5 n NaOH auf pH = 9 eingestellt und dann mit 4 Äquival. 0,5 n NaOH bzw. 0,5 n Na_2CO_3 versetzt und 15 Tage bei Zimmertemp. stehengelassen. Nach 2, 8, 10 und 15 Tagen wurde die BTS als 2,4-Dinitrophenylhydrazon bestimmt.

Zeit Tage	0,5 n NaOH. BTS in % d. einges. KVL	0,5 n Na_2CO_3 BTS in % d. einges. KVL
0	11	0
2	33,2	7,8
8	37,5	34,0
10	40,0	44,3
15	28,3	37,8

Tabelle 8.

1 Mol PBTS aus dem Bleisalz einerseits und dem Bariumsals andererseits wurde jeweils mit 12 Mol 0,5 n NaOH versetzt und 15 Tage bei Zimmertemp. belassen. Nach 2, 8, 10 und 15 Tagen wurde mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin versetzt und das gefällte Hydrazon mit 0,1 n Na_2CO_3 titriert.

Zeit Tage	Aus d. Bleisalz. BTS in % d. einges. PBTS	Aus dem Bariumsals. BTS in % d. einges. PBTS
0	6,6	3,1
2	19,8	16,3
8	25,3	19,4
10	46,2	23,7
15	5,5	3,9

alkohol übergossen, 150 g Methylalkohol mit HCl-Gas ziemlich gesättigt (23%ig an HCl) zugegeben, geschüttelt, etwa 70 bis 80 Stdn. auf Siedtemp. erhitzt, vom PbCl_2 abfiltriert, mit wäsr. Sodalösung in mäßigem Überschuß versetzt und der Alkohol größtenteils im Vak. abdestilliert. Die Rückstands-lösung wird mehrmals mit Äther ausgeschüttelt, die Ätherlösung mit konz. Pottaschelösung gewaschen und dann mit fester Pottasche getrocknet. Die

hellgelbe ätherische Lösung wird mit Aktivkohle aufgehellt, der Äther verdampft. Rückstand = 16 g, die zwischen 11 und 12 Torr destilliert werden.

I. Fraktion (-140°); dünnflüssig 1,0 g.

II. Fraktion (140 bis 183°); etwas viskos 5,8 g.

III. Fraktion (183 bis 202°); viskos 6,9 g.

Aus den beiden letzteren Fraktionen kristallisiert der Ester „A“, der nach Waschen mit Methylalkohol und mehrmaligem Umkristallisieren daraus bei 90° schmilzt. Ausbeute an krist. Ester: 4,0 g. In den ölig verbliebenen Anteilen ist noch etwas Ester enthalten, der erst nach längerem Stehen zu kristallisieren beginnt.

Tabelle 9.

1 Mol BTS wurde mit 1 n NaOH und 1 n Na_2CO_3 1 Std. auf 100° erhitzt und wie oben aufgearbeitet.

Verwend. Alkali	Einges. Mole	BTS in g	
		Einwaage	gef. als Hydrazon (% d. Einwaage)
NaOH	$\frac{1}{2}$	0,1762	0,1262 (71,6)
NaOH	1	0,0881	0,0168 (19,1)
NaOH	3	0,0293	0,0052 (17,8)
NaOH	5	0,0176	0,0030 (17,1)
Na_2CO_3	5	0,0176	0,0176 (100)

Tabelle 10.

KVL wurde mit 4 Äquival. 0,5 n NaOH bzw. 0,5 n Na_2CO_3 $\frac{1}{2}$ Std. auf 100° bzw. 1 Std. auf 50° erhitzt. Nachher wurde die sich bildende BTS als Dinitrophenylhydrazon gefällt und quantitativ bestimmt; auch die Reinheit des gebildeten Hydrazons wurde durch Schmp. und Säurezahl überprüft.

Alkali	Reaktionsbedingungen	Eingesetzte KVL in %	BTS gefunden in g (% der Ausgangsmenge)	Säurezahl theor. 209,1 (Schmp. d. Hydrazons)
NaOH	$\frac{1}{2}$ Std. 100°	0,1120	0,1015 (92,4)	208,9 ($216-218^{\circ}$)
Na_2CO_3	$\frac{1}{2}$ „ 100°	0,0954	0,0885 (92,8)	209,7 ($214-217^{\circ}$)
NaOH	1 „ 50°	0,0842	0,0687 (81,5)	209,3 (218°)
Na_2CO_3	1 „ 50°	0,0707	0,0157 (22,2)	— —

Tabelle 11.

PBTS wurde mit 4 Äquival. 0,5 n NaOH bzw. 0,5 n Na_2CO_3 $\frac{1}{2}$ Std. auf 100 bzw. 1 Std. auf 50° erhitzt. Nachher wurde die sich bildende BTS als Dinitrophenylhydrazon gefällt und quantitativ bestimmt; auch die Reinheit des gebildeten Hydrazons wurde durch Schmp. und Säurezahl überprüft.

Alkali	Reaktionsbedingungen	Eingesetzte PBTS in	BTS gefunden in g (% der Ausgangsmenge)	Säurezahl theor. 209,1 (Schmp. d. Hydrazons)
Na_2CO_3	$\frac{1}{2}$ Std. 100°	0,1006	0,0195 (19,4)	209,1 ($216-218^{\circ}$)
NaOH	$\frac{1}{2}$ „ 100°	0,1088	0,0275 (25,3)	209,1 (217°)
Na_2CO_3	1 „ 50°	0,0877	0,0044 (5,0)	209,1 ($214-218^{\circ}$)
NaOH	1 „ 50°	0,1157	0,0170 (14,7)	209,1 ($215-218^{\circ}$)

$C_{13}H_{18}O_8$. Ber. C 51,68, H 5,96, CH_3O 41,0. Mol.-Gew. 302.
 Gef. C 52,3, 51,8, H 6,10, 6,02, OCH_3 41,3, 41,2. Mol.-Gew. kryoskop. in Dioxan 298.

Verseifungszahl ber. für 3 CH_3O 556, gef. 524.

Hydrierzahl ber. für 1 Doppelbindung 69,2, gef. 60,0.

Aktiver H ber. 0, gef. 0 in der Hitze und bei gewöhnlicher Temp.

Darstellung der Säuren I bis V und der Brenztraubensäure.

(Nähere Angaben werden nur dann gegeben, wenn die Darstellung von den Literaturangaben abweicht⁷.)

Brenztraubensäure: 50 ccm BTS Merck wurden aus einer Schliftapparatur mit Widmer-Spirale bei 10 Torr und zwischen 59,5 bis 60,5° 4mal destilliert. Das Destillat war wasserklar und hatte einen Schmp. von 13,0° (Literatur 13,6°). Eine papierchromatographische Reinheitsprüfung ergab das Vorliegen einer einheitlichen Substanz mit dem R_f -Wert 0,20.

Chromatographiert wurde absteigend auf Schleicher & Schüll-Papier Nr. 2043 b mit Cyclohexanol-Pyridin-Wasser wie 5 : 3 : 3, entwickelt wurde mit m-Phenylendiamin.

Parabrenztraubensäure: Zu einer 10%igen Lösung von BTS wurde eine Lösung von Bleiacetat (25%ige Lösung) im Überschuß zugesetzt und über Nacht stengelassen. Am nächsten Tage wurde das gebildete Bleisalz der PBTS abfiltriert und bleifrei gewaschen. Den so erhaltenen Niederschlag versetzten wir mit einem Überschuß von verd. Schwefelsäure, filtrierten vom Bleisulfat ab und dampften das Filtrat bis zur Sirupkonsistenz im Vak. ein. Die letzten Spuren von Wasser entfernten wir durch Trocknen im Exsikkator über P_2O_5 . Wir erhielten gelbe Kristalle, die bei 97° unscharf schmelzen.

Eine papierchromatographische Untersuchung wie oben zeigte das Vorhandensein von BTS ($R_f = 0,20$), PBTS ($R_f = 0,11$) und eine Substanz mit $R_f = 0,06$. Die Substanz konnte vorläufig nicht weiter gereinigt werden.

Das Zerlegen des Pb-Salzes mit H_2S nach Wolf⁷ ist nicht empfehlenswert, da die PBTS mit schwefelhaltigen Verbindungen verunreinigt wird.

Ketovalerolactocarbonsäure: Die sirupösen Destillationsrückstände von der Reindarstellung der BTS wurden gesammelt und einige Zeit sich selbst überlassen. Nach einigen Tagen beginnt die zähe Masse zu kristallisieren. Der Kristallbrei wurde auf Tonteller gebracht und dort mit Benzol mehrmals gewaschen. Die noch gelblichen Kristalle zeigten einen Schmp. von 104°. Es wurde dann mehrere Male aus wasserfreier Ameisensäure umkristallisiert. Die so gewonnene KVL schmolz scharf bei 118°.

Die papierchromatographische Untersuchung ergab das Vorliegen einer einheitlichen Substanz mit dem R_f -Wert 0,32.

Methyldihydrotrimesinsäure stellten wir nach L. Wolf⁷ her, sie hatte einen Schmp. von 250°, ihr R_f -Wert lag bei 0,37.

Die *Uvitinsäure* wurde ebenfalls nach obiger Literaturangabe erhalten; Schmp. 290°, $R_f = 0,44$.

Die *Brenzweinsäure* stellten wir ebenfalls nach L. Wolf dar; Schmp. 117° aus Benzol umkristallisiert, $R_f = 0,42$.

Schnellbestimmungsmethode der BTS.

Die Lösung, deren Gehalt 0,015 g Brenztraubensäure nicht übersteigen soll, wird mit einer frisch bereiteten 1/4%igen Lösung von 2,4-

Dinitrophenylhydrazin in 2 n HCl im Überschuß versetzt. Nach kurzer Zeit beginnt unter Trübung der Flüssigkeit das Hydrazon auszufallen. Nach dem Absetzen des Niederschlages wird durch ein Papierfilter filtriert, der Niederschlag zuerst mit 2 n HCl und dann mit kaltem Wasser bis zum Verschwinden der Chlorionenreaktion gewaschen. Das noch feuchte Filter wird in ein Becherglas gebracht und mit einer überschüssigen gemessenen Menge 0,1 n Sodalösung versetzt, worin der Niederschlag vollständig löslich sein soll. Mit derselben Sodamenge wird ein Blindversuch angesetzt.

Zuerst erfolgt die Titration des Blindversuches, dabei wird die Sodalösung auf 50 ccm verdünnt und mit n/30 HCl auf Methylorange als Indikator titriert.

Der pH-Wert des Umschlagpunktes wird potentiometrisch festgelegt (*Pehavi*-Instrument, Chinhydron-Kalomel), da der Neutralpunkt bei der Originalprobe durch die Färbung der Hydrazonlösung schlecht zu erkennen ist.

Darauf wird die soda-alkalische Lösung des BTS-Hydrazons in das Titriergesäß filtriert (Papierfasern) und auf 50 ccm verdünnt. Zuerst wird bis zum Umschlagspunkt von Phenolphthalein mit n/30 HCl neutralisiert, dann etwas Chinhydron zugesetzt und bis zum ermittelten pH-Endwert (Blindprobe) titriert.

Wie aus Tabelle 2 hervorgeht, soll in 50 ccm der soda-alkalischen Endlösung nicht mehr Hydrazon enthalten sein als 0,015 g BTS entspricht; sonst kann Hydrazon ausfallen, und damit können Fehlwerte entstehen.