

Die Cyclisierung der 6-Desoxyhepturonsäure

Von

V. Prey und O. Szaboles

Aus dem Institut für Organische Chemie der Technischen Hochschule Wien

(Eingegangen am 31. März 1958)

Cyclite sind als Zwischenglieder der Umwandlung von Kohlehydraten zu Aromaten in der Natur von größtem Interesse. Es gelang, durch intramolekulare Aldolkondensation von 6-Desoxyhepturonsäure Polyhydroxy-cyclohexancarbonsäure darzustellen.

Hexahydroxy-cyclohexane und ihre Derivate sind von größtem Interesse, da sie als Zwischenglieder der Umwandlung von Kohlehydraten zu Aromaten in der Natur angesehen werden.

Es hat nicht an Versuchen gefehlt, solche Cyclite auch in vitro darzustellen. Soweit wir feststellen konnten, gelang dies nur in zwei Fällen, und zwar durch Cyclisierung von 6-Nitro-6-desoxyglucose¹ und durch Cyclisierung von 1,6-Dijod-dimethylenmannit²; solche Kohlehydrat-typen kommen in der Natur nicht vor.

Wenn auch Desoxyuronsäuren bis jetzt in Naturstoffen nicht aufgefunden werden konnten, sind doch andere Uronsäuren in der Natur sehr häufig anzutreffen. Wir versuchten daher die Cyclisierung der von uns erstmalig dargestellten 6-Desoxyhepturonsäure³ in Analogie zur Synthese von *Grosheintz* und *Fischer*¹.

Allerdings wurde bei diesen Cyclisierungsversuchen angenommen, daß die negative Carboxylgruppe die benachbarte Methylengruppe genau so aktiviert wie die negative Nitrogruppe. Wie bereits der erste Versuch zeigte, ist dies jedoch nicht der Fall. Diesen Umstand kann man darauf zurückführen, daß das Bariumsalz der Carbonsäure nicht mehr aktivierend

¹ *J. Grosheintz* und *H. O. L. Fischer*, *J. Amer. Chem. Soc.* **70**, 1476 (1948).

² *F. Micheel*, *Ann. Chem.* **496**, 77 (1932).

³ *V. Prey* und *O. Szaboles*, *Mh. Chem.* **89**, 350 (1958).

wirkt. Dieses Salz bildet sich aber sofort im Gegensatz zu dem Nitron-säuresalz, das nur allmählich im Verlaufe der Reaktion entsteht.

Da die Cyclisierung der 6-Desoxyhepturonsäure nicht einfach wie bei der 6-Desoxy-6-nitroglucose vor sich ging, erschien es uns ratsam, eine Versuchsreihe mit mehreren Kondensationsmitteln anzustellen und die Reaktionsprodukte chromatographisch zu untersuchen.

Aus der großen Zahl der bekannten Aldolkondensationsmittel (bei der Cyclisierung handelt es sich ja um eine intramolekulare Aldolkondensation) wählten wir einige besonders wirksame Vertreter aus. Diese sind in der folgenden Tabelle 1 nach steigender Acidität zusammengestellt.

Tabelle 1

Kondensationsmittel:		R_F -Werte:						
Reaktions- Temp. °C	Dauer Stdn.	0,14 sauer —	0,23 sauer, reduz.	0,31 sauer, reduz.	0,44 — reduz.	0,45 sauer —	0,58 sauer —	0,73 sauer —
Ba(OH) ₂ , 20	Ca(OH) ₂ .. 24	—	+++	+	—	+	—	—
Ba(OH) ₂ , 100	Ca(OH) ₂ .. 1	—	+	+	—	+	++	+++
Amberlite IRA 20	400 .. 24	—	+++	+	—	+	—	—
Amberlite IRA 100	400 .. 1	—	+++	++	—	++	—	—
KCN	20 24	++	++	+	—	—	—	—
KCN	100 1	+++	+	—	—	—	—	—
Piperidin in molaren Mengen	100 1	—	+++	++	—	—	—	++
Piperidin in katalyt. Mengen	100 1	—	+++	+	—	—	—	—
NaH ₂ PO ₄	100 5	—	+++	+	+	++	—	—
Ca(HSO ₃) ₂	100 5	—	+++	+	+	—	—	—
HCl, H ₂ SO ₄ , H ₃ PO ₄ .	100 5	—	+++	—	++	—	—	—

Bei allen Versuchen wurden einige Kubikzentimeter einer 10%igen wäßrigen Lösung von 6-Desoxyhepturonsäure mit dem Kondensationsmittel versetzt und bei 20° C bzw. bei 100° C (kochendes Wasserbad) reagieren gelassen. Nach der Reaktion wurden die Basen durch Kationenaustausch mit Amberlite IR 120 entfernt und das Filtrat chromatographiert. Die Säuren fällten wir durch ein geeignetes Fällungsmittel [bei HCl und HCN Ag_2CO_3 , bei H_2SO_4 und H_3PO_4 BaCO_3 , bei $\text{Ca}(\text{HSO}_3)_2$ und NaH_2PO_4 $\text{Ba}(\text{OH})_2$], wobei die Silber- bzw. Bariumsalze der organischen Säuren in Lösung blieben. Nach dem Kationenaustausch chromatographierten wir die freien Säuren aufsteigend auf Schleicher- & Schüll-Papier Nr. 2043 b mit Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5) als Laufmittel. Entwickelt wurde mit Bromphenolblau bzw. Methylrot und mit ammoniakal. Silbernitrat.

Tabelle 1 gibt die Resultate der Kondensationsversuche wieder. In der Tabelle 2 findet man die R_F -Werte einiger Testsubstanzen, die zum Vergleich herangezogen wurden.

Tabelle 2

	R_F -Wert	Säure	reduz.
6-Desoxyhepturonsäure ...	0,23	+	+
Chinasäure	0,30	+	—
Dehydrochinasäure	0,30	+	+
6-Desoxyhepturon	0,44	—	+
Glykolsäure	0,58	+	—
Milchsäure	0,73	+	—

Ein Vergleich der beiden Tabellen läßt die folgende Deutung für einzelne R_F -Werte zu:

$R_F = 0,14$ sauer, ammoniakal. Silbernitrat ohne NaOH-Zusatz nicht reduzierend. Mit NaOH-Zusatz reduzierend, ebenfalls nach vorheriger Behandlung mit HCl reduzieren. Kommt nur bei der Reaktion von 6-Desoxyhepturonsäure mit KCN vor. Daraus kann man schließen, daß es sich hier um eine durch starke Alkalien und Säuren verseifbare Cyanhydrinverbindung handelt.

$R_F = 0,23$ ist eindeutig das Ausgangsprodukt: 6-Desoxyhepturonsäure.

$R_F = 0,31$ sauer und reduzierend. Es liegt auf derselben Höhe wie Chinasäure und Dehydrochinasäure, kommt auch bei der Kondensation mit saurem Kondensationsmittel vor. Es kann also eine cyclische Verbindung ähnlich der Dehydrochinasäure sein.

$R_F = 0,44$ nicht sauer, reduzierend. Ist eindeutig 6-Desoxyhepturon.

$R_F = 0,45$ sauer, nicht reduzierend. Kommt auch bei der Umsetzung mit NaH_2PO_4 im sauren Gebiet vor, kann also kein alkalisches Abbauprodukt sein. Es kann sich hier wieder um ein Cyclisierungsprodukt handeln.

$R_F = 0,58$ sauer, nicht reduzierend. Kommt nur bei der stark alkalischen Behandlung von 6-Desoxyhepturonsäure und von Glucuron vor. Wahrscheinlich handelt es sich hier um die Glykolsäure, die beim alkalischen Abbau von Zuckern neben Milchsäure entstehen kann.

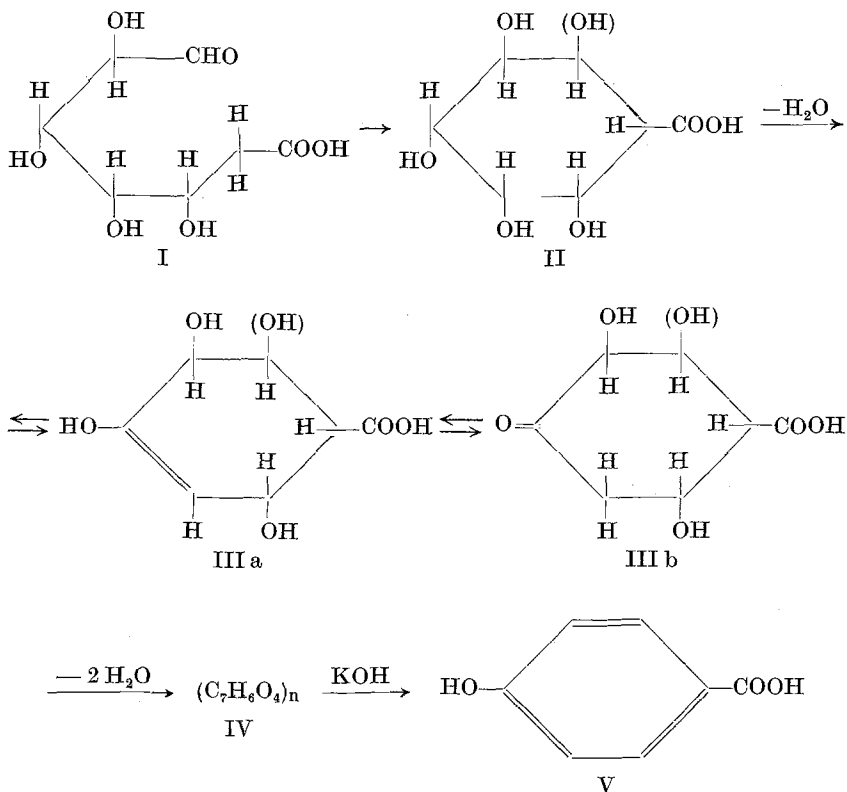
$R_F = 0,73$ sauer, nicht reduzierend. Ist eindeutig Milchsäure.

Zusammenfassend kann man sagen, daß bei den Cyclisierungsversuchen von 6-Desoxyhepturonsäure zwei Produkte mit den R_F -Werten 0,31 und 0,45 entstanden, die cyclische Verbindungen sein können. Das Produkt mit $R_F = 0,31$ entsteht bei allen Kondensationsversuchen mit Ausnahme derer, bei denen Mineralsäuren als Kondensationsmittel benutzt wurden. Das Produkt mit $R_F = 0,45$ entsteht hauptsächlich bei der Anwendung des Anionenaustauschers Amberlite IRA 400 und von NaH_2PO_4 als Kondensationsmittel.

Um zu beweisen, daß die beiden Produkte mit $R_F = 0,31$ und $R_F = 0,45$ tatsächlich cyclische Verbindungen sind, mußte man sie isolieren. Dies erfolgte unter Anwendung der Säulenverdrängungschromatographie.

Bei den Cyclisierungsversuchen mit Piperidin und NaH_2PO_4 konnten diese Umsetzungsprodukte wegen der zu geringen Mengen voneinander nicht getrennt werden. Nur die Cyclisierung mit dem Anionenaustauscher Amberlite IRA 400 führte zum Ziel. Bei diesem Versuch konnten 80% der 6-Desoxyhepturonsäure umgesetzt werden, wobei als Hauptmenge ein schwarzes Kondensationsprodukt erhalten wurde. Die beiden Substanzen mit den R_F -Werten 0,45 und 0,31 konnten als die Pentahydroxy-cyclohexancarbonsäure (II) bzw. die Tetrahydroxy-cyclohexancarbonsäure (III a) identifiziert werden. Durch Behandeln mit Alkalien gelang auch die Überführung von II in III a, tautomer mit III b und in dieser Form (als Trihydroxy-cyclohexanoncarbonsäure) reduzierend. Das schwarze Kondensationsprodukt erhielten wir aus beiden Cycliten. Nach der Elementaranalyse hatte dieses die Summenformel $(\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4)_n$, also genau um $3 \text{H}_2\text{O}$ weniger als die Pentahydroxy-cyclohexancarbonsäure. Durch eine Alkalischemelze wurde es weiterhin in die p-Hydroxybenzoesäure übergeführt.

Aus den obigen Tatsachen stellen wir folgendes Reaktionsschema für die Cyclisierung der 6-Desoxyhepturonsäure auf:



6-Desoxyhepturonsäure (I) wird durch den Anionenaustauscher in die Pentahydroxy-cyclohexancarbonsäure (II) übergeführt. Diese geht durch Wasserabspaltung in die Tetrahydroxy-cyclohexancarbonsäure (III a), welche mit der reduzierenden Trihydroxy-cyclohexanoncarbonsäure (III b) tautomer ist, über. Durch weitere Wasserabspaltung kommt es dann zur Bildung des schwarzen Kondensationsproduktes (IV), das durch alkalischen Abbau in die p-Hydroxybenzoesäure (V) übergeführt wird.

Wir danken der Österreichischen Gesellschaft für Holzforschung für die Unterstützung unserer Arbeit.

Experimenteller Teil

Nach mehreren Cyclisierungsversuchen mit Piperidin, NaH_2PO_4 und mit dem Anionenaustauscher Amberlite IRA 400 wurde die folgende Methode als die beste ermittelt:

10 g 6-Desoxyhepturonsäure wurden in 200 ccm Wasser gelöst und nach Zugabe von überschüssigem Anionenaustauscher 24 Std. bei 90° unter Rühren

reagieren gelassen, die organischen Säuren mit überschüssigem HCl in Freiheit gesetzt und diese Lösung auf die Chromatographiersäule gegeben.

Die konische Chromatographiersäule hatte eine Füllhöhe von 100 cm, der äußere Durchmesser betrug oben 40 mm, unten 25 mm. Unten wurde eine Glassinterplatte und ein Feineinstellhahn angebracht. Eine automatisch gesteuerte Fraktioniervorlage von *H. Berbalk* und *O. Szabolcs*⁴ sorgte für bequemes und sicheres Arbeiten. Die zu chromatographierenden Flüssigkeiten wurden durch einen oben angebrachten Scheidetrichter aufgegeben.

Bei unseren Trennversuchen wurde ausschließlich die Verdrängungschromatographie angewendet und dabei der Anionenaustauscher Amberlite IRA 400 als Säulenfüllung benützt. Der Ionenaustauscher wurde nach der Regenerierung mit Propionsäure beschickt und mit destilliertem Wasser gut gewaschen. Die Säule wurde vor dem Eintragen des Ionenaustauschers mit Wasser gefüllt und dadurch Gasblasenfreiheit der Füllung erzielt. Die Füllung wurde oben durch einen Glassintereinsatz abgeschlossen.

Das oben beschriebene Reaktionsgemisch wurde durch den Scheidetrichter mit einer Geschwindigkeit von rund 100 cm/Stde. auf die Säule gegeben und nachher mit $n/10$ HCl mit derselben Geschwindigkeit entwickelt, 300 Fraktionen mit je 10 cm Inhalt aufgefangen und die einzelnen Fraktionen auf ihr Reduktionsvermögen und HCl-Gehalt untersucht. Etwa 50 Fraktionen, vom Ende der Fraktionierung zurückgerechnet, wurden auch papierchromatographisch untersucht und dabei folgende Produkte festgestellt:

1. $R_F = 0,23$ (6-Desoxyhepturonsäure) gemeinsam mit Propionsäure gleich von Anfang an in geringen Mengen vorhanden.
2. $R_F = 0,23$ (6-Desoxyhepturonsäure) in mehreren Fraktionen zusammen mit Propionsäure enthalten.
- $R_F = 0,31$ (Cyclit).
3. $R_F = 0,31$ (Cyclit) in einigen Fraktionen nur mit Propionsäure.
4. $R_F = 0,31$ (Cyclit).
- $R_F = 0,73$ (Milchsäure).
- $R_F = 0,58$ (Glykolsäure) } in einigen Fraktionen zusammen enthalten.
- $R_F = 0,45$ (Cyclit)
5. $R_F = 0,45$ (Cyclit) allein bzw. in den letzten Fraktionen zusammen mit Salzsäure enthalten.

Nach Entfernen der Salzsäure mit Ag_2CO_3 und des Silberions mit dem Kationenaustauscher Amberlite IR 120 wurden alle Fraktionen jeweils im Vak. eingedampft und auf diese Weise eine Mengenbilanz aufgestellt. 2 g 6-Desoxyhepturonsäure konnten zurückgewonnen werden, alle anderen Fraktionen wogen zusammen nur rund 1 g. Rund 7 g Ausgangsmaterial blieben in dem Ionenaustauscher als in Säure unlösliches, schwarzes Produkt zurück.

Aus den obigen Fraktionen konnten neben dem Ausgangsmaterial die Produkte mit den R_F -Werten 0,31 und 0,45 isoliert werden. Die eingedampften Lösungen ergaben jedoch noch unreine Sirupe. Diese wurden durch Aufnehmen in Methanol und Behandeln mit wenig A-Kohle gereinigt und nach Wegdampfen des Lösungsmittels über P_2O_5 getrocknet. Auf diese Weise konnten einige Zehntelgramme von beiden Substanzen erhalten werden. Durch Lösen der Sirupe und Fällen mit Äther konnten wir diese in feste Form überführen. Schmelzpunkte waren jedoch wegen Zersetzlichkeit nicht erhältlich.

⁴ Wird demnächst publiziert.

Wir versuchten beide Substanzen mit Pyridin-Acetanhydrid zu acetylieren, erhielten aber dabei als Hauptmenge ebenfalls ein schwarzes Kondensationsprodukt. Um die Konstitution der beiden Substanzen zu beweisen, wurden neben der Elementaranalyse und Molekulargewichtsbestimmung auch eine Bestimmung der aktiven Wasserstoffe nach *Zerewitinoff* durchgeführt; dadurch wurden beide Substanzen eindeutig als Cyclite identifiziert.

Pentahydroxy-cyclohexancarbonsäure ($R_F = 0,45$)

$C_7H_{12}O_7$. Ber. MG 208,2, C 40,40, H 5,82, akt. H 6,0
Gef. MG 206, C 39,87, H 6,07, akt. H 5,5

Tetrahydroxy-cyclohexancarbonsäure ($R_F = 0,31$)

$C_7H_{10}O_6$. Ber. MG 190,2, C 44,20, H 5,30, akt. H 5,0
Gef. MG 193, C 43,81, H 5,50, akt. H 4,7

Das schwarze Kondensationsprodukt entstand aus beiden Cycliten thermisch durch Eindampfen mit Mineralsäuren sowie durch Behandeln mit basischen Substanzen (z. B. Pyridin). Es konnte auch aus dem Anionenaustauscher des ursprünglichen Reaktionsgemisches durch Herauslösen mit Natronlauge und Fällen dieser Lösung mit Mineralsäuren erhalten werden. Die Analyse ergab:

54,00% C und 4,10% H.

Danach hatte das schwarze Kondensationsprodukt die Summenformel $(C_7H_6O_4)_n$. Bezogen auf Pentahydroxy-cyclohexancarbonsäure enthält das obige Kondensationsprodukt 3 H_2O weniger.

Das schwarze Kondensationsprodukt hatte folgende Eigenschaften: Unlöslich in Wasser, löslich in Alkalien, wenig löslich in Alkohol. Aus der alkalischen Lösung konnte es mit Mineralsäuren wieder ausgefällt werden. Durch Behandeln mit starken Mineralsäuren wurden keine chromatographisch nachweisbare Hydrolysenprodukte erhalten.

Durch eine vorsichtige Alkalischemelze ging die Substanz vollständig in Lösung, wurde dann mit Mineralsäuren ausgefällt und ausgeäthert. Die ätherische Lösung wurde chromatographiert und dabei ein fluoreszierender Streifen erhalten, welcher seinen Schwerpunkt bei $R_F = 0,90$ hatte. Dieser Fleck gab folgende Reaktionen: Mit Bromphenolblau sauer, mit ammoniakal. Silbernitrat keine Färbung, mit $FeCl_3$ gelb, mit Ammonvanadat gelb und mit diazotierter Sulfanilsäure tiefgelb. Nach diesen Eigenschaften handelte es sich hier um die m- bzw. p-Hydroxybenzoesäure. Durch Eindampfen der ätherischen Lösung und Kristallisieren aus Alkohol-Benzol konnten geringe Mengen Kristalle erhalten werden. Diese konnten durch Sublimation gereinigt und durch den Schmelzpunkt ($215^\circ C$) als p-Hydroxybenzoesäure identifiziert werden.