

3.) Ammonsulfatsalpeter:

Sowohl die Titration mit  $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$  als auch überraschenderweise mit  $\text{BaCl}_2$  ergaben nach beiden Methoden richtige Werte. Die Annahme, daß die Anwesenheit von Nitrat-Ionen erforderlich sei, wenn  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  mit  $\text{BaCl}_2$  titriert werden soll, bestätigte sich im nächsten Versuch.

4.) Ammonsulfat in Gegenwart von  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  mit  $\text{BaCl}_2$  titriert.

Zum  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  wurden steigende Mengen  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  gesetzt. Bei 10 Gew.% erhält man bereits richtige Werte. Die Einwaage betrug 659,5 mg  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ .

Zusatz an  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ : 0,0 2,5 5,0 10,0 20,0 30,0 %  
 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  gefunden: 645 651 655 660 661 660 mg

Statt das  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  zur Probelösung zu geben, kann man es auch der Meßlösung zusetzen. Besonders bei niedrigen Ammonsulfat-Konzentrationen, wenn man sowieso mit Leitsalzen arbeiten muß, ist die letztere Methode angebracht. Bei Mikrosulfatbestimmungen nach der Trübungs-Methode treten ähnliche Effekte auf<sup>12)</sup>.

5.) Kaliumsulfat mit  $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$  und  $\text{BaCl}_2$  titriert.

Die Reaktionsgerade verläuft entgegen der Berechnung mit etwas Gefälle. Gleicht man diese Abweichung empirisch durch Zusatz eines Leitsalzes oder Wahl der Konzentrationen der

<sup>12)</sup> R. Wickbold, diese Ztschr. 65, 159 [1953].

Meß- und Probelösung aus, dann ergeben beide Methoden im untersuchten Bereich von 0,004–0,02 n  $\text{K}_2\text{SO}_4$  stöchiometrisch richtige Werte.

6.) Magnesiumsulfat:

Sowohl mit  $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$  als besonders mit  $\text{BaCl}_2$  titriert ergibt  $\text{MgSO}_4$  stark gekrümmte „Reaktionsgeraden“. Die Meßpunkte stellen sich nur sehr langsam ein. Setzt man der Probelösung mindestens äquimolare Mengen  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  zu, dann kann nach der Überpunktmethode gearbeitet werden und die Werte sind stöchiometrisch richtig.

7.) Aluminium- und Eisensulfat:

Weder ein Zusatz von  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  noch ein Ansäuern der Lösung mit  $\text{HNO}_3$  führte zu befriedigenden Resultaten.

Um die Anwendungsmöglichkeiten auch bei anderen Ionen zu untersuchen, wurden  $\text{KCl}$ - und  $\text{KBr}$ -Lösungen mit  $\text{AgNO}_3$  und Zinksulfat mit  $\text{NaOH}$  titriert. Die Rechnung stimmte genauestens mit dem Kurvenverlauf überein; die Analysenergebnisse waren sehr gut. Man darf sagen, daß die Sulfat-Bestimmungen daran gemessen ein hartes Prüfverfahren für die „Überpunktmethode“ dargestellt haben.

Eingeg. am 4. Januar 1954 [A 544]

## Zuschriften

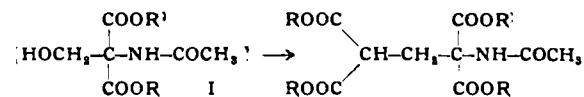
### Synthese von Glutaminsäure durch Kondensation von Malonester, Formaldehyd und Acetamino-malonester<sup>1)</sup>

Von Doz. Dr. H. HELLMANN und Dipl.-Chem. F. LINGENS  
 Aus dem Max-Planck-Institut für Biochemie und dem Physiologisch-chemischen Institut der Universität Tübingen

Es wurde eine Glutaminsäure-Synthese beschrieben<sup>1)</sup>, welche in einer Kondensation von Malonester und Piperidinomethylformamino-malonester besteht.

Sie läuft auf eine C-Alkylierung des Formamino-malonesters durch eine tert. Mannich-Base des Malonesters bzw. auf eine Michael-Addition des Formamino-malonesters an Methylen-monomalonester hinaus<sup>2, 3)</sup>. Die Michael-Addition von Acylamino-malonestern an Methylen-monomalonester ist unter der katalytischen Wirkung von  $\text{NaOH}$  (nicht von Piperidin) möglich. In früheren Synthesen wurde Acylamino-malonester bzw. -cyanessigerester bereits an Acrylsäureester<sup>4)</sup>, Acrylnitril<sup>5)</sup> und Acrolein<sup>6)</sup> nach Michael addiert.

Ebenso wie die Mannich-Basen der Acylamino-malonester lassen sich auch deren Formaldehyd-Addukte zur Glutaminsäure-Synthese verwenden. Wenn Oxymethylen-acetamino-malonester (I) unter gleichen Bedingungen wie die Esterbasen mit Malonester umgesetzt wird, so entsteht ebenfalls Methylen-monomalester-acetamino-malonester. Die Verwendung von Oxymethylen-acetamino-malonester zur Glutaminsäure-Synthese bietet jedoch keine Vorteile gegenüber derjenigen der Esterbasen, da diese leichter und mit besserer Ausbeute rein darstellbar sind.



Der Chemismus der Glutaminsäure-Synthese aus Oxymethylen-acetamino-malonester dürfte dem für die Esterbasen<sup>2, 3)</sup> entsprechen, denn aus Oxymethylen-acetamino-malonester kann ebenso wenig wie aus Piperidinomethyl-formamino-malonester ein re-

<sup>1)</sup> 8. Mitteilung von „Synthesen mit tert. Mannich-Basen“; vgl. 4., 6. u. 7. Mitteilung unter<sup>2, 3)</sup>.

<sup>2)</sup> H. Hellmann u. E. Brendle, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 287, 235 [1951].

<sup>3)</sup> H. Hellmann, G. Hallmann u. F. Lingens, Chem. Ber. 86, 1346 [1953].

<sup>4)</sup> H. Hellmann, diese Ztschr. 65, 473 [1953].

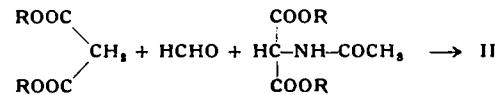
<sup>5)</sup> C. S. Marvel u. M. P. Stoddard, J. org. Chem. 3, 198 [1938]; H. R. Snyder, J. F. Shekleton u. C. D. Lewis, J. Amer. Chem. Soc. 67, 310 [1945].

<sup>6)</sup> N. F. Albertson u. S. Archer, J. Amer. Chem. Soc. 67, 2043 [1945].

<sup>7)</sup> D. T. Warner u. O. A. Moe, ebenda 70, 1151 [1948].

sonanzstabilisiertes Carbenium-Ion mit Fähigkeit zur C-Alkylierung intermediär entstehen. Diese Behauptung wird gestützt durch die Tatsache, daß Oxymethylen-acetamino-malonester sich nicht mit Acetamino-malonester zu Methylen-bis-acetamino-malonester umsetzt. Sie gibt die Erklärung für die gute Ausbeute bei der Serin-Synthese von King<sup>7)</sup>, in welcher Formaldehyd unter der katalytischen Wirkung von  $\text{NaOH}$  an Acetamino-malonester addiert und der entstehende Oxymethylen-acetamino-malonester zu Serin hydrolysiert und decarboxyliert wird. Die Vermutung, daß auch zwischen Oxymethylen-acetamino-malonester und Malonester in erster Stufe ein Austausch der Oxymethylen-Gruppe eintritt, wird gestützt durch den Befund, daß Umsetzung von Oxymethylen-acetamino-malonester mit Dimedon, dem bekannten Reagenz für den Formaldehyd-Nachweis, unter gleichen Bedingungen zur Bildung von Methylen-bis-dimedon führt.

Da Formaldehyd aus dem Gemisch von Malonester und Acetamino-malonester vorzugsweise mit dem unsubstituierten Malonester reagiert, und da der aus Formaldehyd und Malonester darstellbare Methylen-monomalonester Acetamino-malonester nach Michael addiert, sollte ein Gemisch von Malonester, Formaldehyd und Acetamino-malonester unter Bildung von Methylen-monomalester-acetamino-malonester (II) reagieren. Versuche haben dies bestätigt. Die besten Ausbeuten (ca. 80 %) werden erzielt, wenn man Paraformaldehyd und Malonester mit



50 proz. Überschuß gegenüber Acetamino-malonester verwendet und das Gemisch 5 h in Gegenwart katalytischer Mengen  $\text{NaOH}$  in Xylol bei 100 °C gehalten wird. Im Gegensatz zu unserer früher beschriebenen Glutaminsäure-Synthese aus Piperidinomethyl-formamino-malonester haben wir hier das Kondensationsprodukt (II) isoliert. Methylen-monomalester-acetamino-malonester ( $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_9\text{N}$ , ber. C 52,30, H 7,10, N 3,51, gef. C 52,16, H 7,08, N 3,54) kristallisiert aus wässrigem Methanol in farblosen Nadeln, welche bei 58 °C schmelzen. Er ist identisch mit dem kristallisierten Kondensationsprodukt aus Malonester und Piperidinomethyl-acetamino-malonester. Durch 8-stündiges Kochen mit konz.  $\text{HCl}$  läßt sich der Tetracarbonsäureester praktisch quantitativ zu Glutaminsäure verseifen und decarboxylieren; das Hydrolysat ist nahezu farblos. Die Gesamtausbeute an Glutaminsäure-hydrochlorid beträgt im 0,02 m Ansatz 75 % der Theorie, bezogen auf Acetamino-malonester.

Eingeg. am 19. Februar 1954 [Z 101]

<sup>7)</sup> A. J. King, J. Amer. Chem. Soc. 69, 2738 [1947].