

101. Emil Baur: Über Bildung, Zerlegung und Umwandlung der Glykolsäure.

(Eingegangen am 12. Februar 1913.)

I. Wie bekannt, läßt sich Oxalsäure elektrolytisch zu Glykolsäure reduzieren. In der Technik stellt man jetzt die Glykolsäure in großen Mengen durch Elektrolyse an Bleikathoden dar<sup>1)</sup>. Es geht aber auch, obschon mit bescheidener Ausbeute, mit Platin-elektroden, an denen keine erhebliche Überspannung vorhanden ist<sup>2)</sup>. D. h. es ist bereits Wasserstoff von gewöhnlichem oder wenig höherem Drucke imstande, die Oxalsäure zu Glykolsäure zu reduzieren. Dies läßt den Schluß zu, daß die Reduktion auch mit Ameisensäure eintreten wird, deren Reduktionspotential noch um 0.1 Volt höher liegt, als das des Wasserstoffs von normalem Druck. Die Möglichkeit einer Bildung von Glykolsäure auf diesem Wege ist pflanzenphysiologisch von Interesse. Man darf erwarten, daß diese Reaktion eintrate, wenn man die Spaltung der Ameisensäure in  $H_2 + CO_2$  durch Rhodium in Gegenwart von Oxalsäure vornimmt. Zu einem ähnlichen Prozeß ist das Rhodium schon einmal verwendet worden, nämlich zur Überführung von Acetaldehyd und Ameisensäure in Äthylalkohol und Kohlensäure nach Schade<sup>3)</sup>. Seither haben Reduktionen<sup>4)</sup> und sogar endotherme Hydrierungen<sup>5)</sup> mit Wasserstoff und Platinmetallen bei gewöhnlicher Temperatur verbreitete Verwendung gefunden. Ich stellte einen derartigen Versuch an, hatte jedoch keinen rechten Erfolg, indem sich nur eben merkliche Spuren von Glykolsäure nachweisen ließen.

Da nach Bredig und Blackadder<sup>6)</sup> das Rhodium für die Katalyse schwefelhaltig sein muß, so erzeugte ich, zugleich Gebrauch machend von einer Anweisung von Gutbier und Hofmeier<sup>7)</sup>, einen Rhodium-Niederschlag folgendermaßen:

Zu 1 l einer Lösung, die 1 g Natrium-rhodium-chlorid enthält, werden 200 ccm eines Schwefelsols hinzugesetzt, das durch Eingießen von 20 ccm kaltgesättigter alkoholischer Schwefellösung in 1 l Wasser erhalten wird.

<sup>1)</sup> Patente der Deutschen Gold- und Silberscheideanstalt. D. R.-P. 194038 [1908], 204787 [1908], 239412 [1911].

<sup>2)</sup> D. R.-P. 194038, wo auch die spärliche ältere Literatur über den Gegenstand verzeichnet ist.

<sup>3)</sup> Ph. Ch. 57, 17 [1907]. <sup>4)</sup> Paal, B. 40, 2209 [1907].

<sup>5)</sup> Nach Willstätter, vergl. die Dissertation von J. D. Hatt: »Synthese stark verzweigter aliphatischer Verbindungen usw. Zürich 1912.

<sup>6)</sup> Ph. Ch. 81, 385 [1912]. <sup>7)</sup> J. pr. [2] 71, 452 [1905].

Hierauf werden einige ccm einer 10-prozentigen Hydraziolösung zugesetzt und erwärmt, bis das Rhodium in Form von braunen Flocken sich abscheidet. Die Flocken werden abfiltriert, gewaschen und in wenig Wasser suspendiert.

Derartiges Rhodium katalysiert Ameisensäure bei 90° sehr lebhaft. Indessen verließ ich das Rhodium bald wieder, nachdem sich gezeigt hatte, was gar nicht bekannt zu sein scheint, daß es viel bequemer und wirksamer ist, sich zur Katalyse der Ameisensäure eines gewöhnlichen platinierter Platinbleches zu bedienen. 4-prozentige Ameisensäure zersetzt sich am Platinschwarz bei 90° in stürmischer Weise.

Ich überließ nun Lösungen, die 4-prozentige Oxalsäure und 4-prozentige Ameisensäure enthielten, teils der Einwirkung des Rhodiums, teils der des Platins während einiger Tage bei 40°. Darauf wurden die Flüssigkeiten auf dem Wasserbade eingedampft, der Rückstand mit Wasser aufgenommen und mit Kalkmilch neutralisiert, durch das Filtrat Atem-Kohlensäure geblasen, nochmals filtriert und das Filtrat auf einem Uhrglase verdunstet. Die verbleibenden geringen Rückstände sollten glykolsaures Calcium  $[(\text{CH}_2\text{OH})\text{COO}]_2\text{Ca} + 4\text{H}_2\text{O}$  enthalten, ein Salz, das mikroskopisch zu charakterisieren sein mußte. Es besteht aus haarfeinen Nadeln,  $n_\gamma = 1.495$ ,  $n_\alpha = 1.535$ , Charakter der Hauptzone positiv, Auslöschungsschiefe 11°. Allein die Prüfung der Rückstände, die übrigens noch Calciumformiat enthielten, lieferte wegen schlechter Ausbildung der Krystalle kein klares Ergebnis. Dagegen gelang eine Reaktion auf Glykolsäure, die vor kurzem von Denigès<sup>1)</sup> angegeben wurde. Man nimmt wenige Milligramm eines Glykolates, dazu 0.2 ccm Wasser, dann 2 ccm reine Schwefelsäure und erhitzt vorsichtig, bis Gasblasen auftreten, herrührend von der Zersetzung der Glykolsäure in Formaldehyd und Kohlenoxyd. Dann prüft man auf Formaldehyd. Ich wählte dazu die Reaktion von Hehner mit Milch (vergl. II). Eine Lila-Färbung, die obige Rückstände bei dieser Prüfung gaben, zeigten Spuren von Formaldehyd und damit von Glykolsäure an.

Bei der Reduktion der Oxalsäure zu Glykolsäure tritt als Zwischenstufe Glyoxalsäure auf. Auf diese haben wir eine sehr feine Reaktion mit Naphthoresorcin, Salzsäure und Äther (vergl. II). Ich überzeugte mich, daß diese Reaktion in den Oxalsäure-Ameisensäure-Lösungen während der Katalyse zwar schwach, aber doch unzweifelhaft, auftritt.

Man kann daher sagen, daß es mit feinen Hilfsmitteln gelingt, eine Reduktion der Oxalsäure zu Glyoxalsäure und

<sup>1)</sup> Bl. [4] 5, 647—649 [1911].

Glykolsäure durch Ameisensäure am Rhodium oder Platin qualitativ nachzuweisen.

II. Auch Spaltungen der Glykolsäure scheinen für die Physiologie bemerkenswert zu sein<sup>1)</sup>. Um solche hervorzubringen, wandte ich mich zu Belichtungsversuchen. Ich belichtete zunächst Lösungen, die 2.6-prozentige Glykolsäure (=  $\frac{1}{2}$ -mol./L.) und 0.67-prozentiges Uranylsulfat (=  $\frac{1}{50}$ -mol./L.) enthielten, in gläsernen Gärungsmessern mit dem Lichte einer Quarz-Quecksilberlampe während 15 Stunden. Danach war das Uranylsalz reduziert, was für einfache stöchiometrische Verhältnisse eine Zersetzung von 5 % der vorhandenen Glykolsäure bedeuten kann. Ein Gas hatte sich nicht entwickelt und die Lösung gab eine Reihe von Reaktionen, die es zunächst unentschieden ließen, ob Glyoxalsäure oder Formaldehyd vorhanden war. Als aber eine Lösung von glykolsaurem Kalium mit Uranylsulfat exponiert wurde, trat keine Reduktion ein; die verschiedenen Farbenreaktionen, die ich alsbald einzeln nennen werde, kamen jedoch wie zuvor. Eine gleiche Wirkung des Lichtes war zu beobachten, wenn ich Lösungen der Glykolsäure mit Uranoulfat (gleiche Konzentration wie oben) oder mit Kupfersulfat (die Lösung enthält  $\frac{1}{2}$ -mol. Glykolsäure und  $\frac{1}{10}$ -mol. Kupfersulfat) exponierte. Im letzten Fall muß man, um erheblichere Effekte zu erzielen, an Stelle gläserner Gefäße solche aus Quarzglas verwenden. Da hier Oxydationen der organischen Säure nicht möglich sind, so kann sich Glyoxalsäure nicht gebildet haben. Der in der belichteten Lösung leicht nachweisbare Stoff von Aldehydcharakter muß also durch Spaltung aus der Glykolsäure hervorgehen.

Noch etwas wirksamer als die genannten Metallsalze erwiesen sich Ferrisalze. Lösungen von 0.03-mol. Ferrichlorid und  $\frac{1}{2}$ -mol. Glykolsäure oder von 0.01-mol. Ferriammoniumsulfat und  $\frac{1}{2}$ -mol. Glykolsäure sind in gläsernen Gefäßen nach 15-stündiger Belichtung mit der Quarzquecksilberlampe entfärbt und man bemerkt im Gärungsmesser das Auftreten einer Gasblase von einigen Zehntel ccm. Nimmt man mehr Ferrisalz, z. B. 0.3-mol.  $\text{FeCl}_3$ , so tritt keine Entfärbung ein, weil eben von der vorhandenen Menge Glykolsäure in der angegebenen Zeit nicht mehr als höchstens 10 % zerfallen. Die Gasblase ist auch nicht größer, als in der Lösung mit weniger Eisenchlorid, indem der Umsatz wesentlich von der einfallenden Lichtmenge abhängt. Wird die 0.3-mol. Lösung weiter belichtet, so wächst die Gasblase, aber zunehmend langsamer, was auf eine fortschreitende Hemmung der Photolyse hindeutet. Wie beim Uranylsalz bemerkt man auch

<sup>1)</sup> Vergl. E. Baur, *Cosmografia chimica*, S. 206. Milano 1908.

hier in neutraler Lösung (z. B. 0.005-mol. Ferriammoniumsulfat + 0.1-mol. Calciumglykolat) zwar Zerlegung des Glykolats, aber keine Reduktion.

Die in Rede stehende Photolyse der Glykolsäure tritt nicht ein, wenn die Glykolsäure für sich belichtet wird, auch nicht in Quarzgefäßen. Sie tritt auch nicht ein, wenn sie gemeinsam mit den Metallsalzen im Dunkeln bleibt. Zusatz von Fluorescenten wie Chinin, Rhodamin, Fluorescein, Chlorophyll haben auf die Photolyse keinen Einfluß. Apfelsäure, die eine kondensierte Glykolsäure ist, gibt mit Uranylsalz im Licht andersartige Produkte, als diese selbst.

Wenn nun die Glykolsäure unter den angegebenen Umständen Formaldehyd abspaltet, so bleibt ein Rest, der Ameisensäure sein muß. Die Ameisensäure ist aber neben Uranylsalz im Lichte der Quecksilberlampe nicht beständig<sup>1)</sup>, sie erleidet Oxydation nach der Gleichung:  $\text{U}^{\text{VI}} + \text{H}_2\text{CO}_3 \rightarrow \text{U}^{\text{IV}} + 2\text{H}^+ + \text{CO}_2$ . Der Reaktionsumfang in den der Belichtung unterworfenen Lösungen ist indessen zu gering, um Gasblasen von Kohlensäure auftreten zu lassen. Die Ameisensäure macht sich also nur durch die Reduktion des Uranylsalzes bemerklich. Dagegen muß sie bei der Belichtung der Glykolsäure mit Kupfersulfat erhalten bleiben. Hier kann man ihre Anwesenheit erkennen, indem man zu der Kupfersulfat-Glykolsäure-Lösung noch Quecksilberchlorid zusetzt und in Quarzgefäßen belichtet. Es scheidet sich Kalomel aus.

Aus 50 ccm einer Lösung, bestehend aus 17 ccm 7-prozentiger Kupfervitriollösung + 8 ccm kalt gesättigter Sublimatlösung + 25 ccm 4-prozentiger Glykolsäure wurden nach 17-stündiger Belichtung im Quarzgefäß erhalten: 0.041 g  $\text{Hg}_2\text{Cl}_2$ , entsprechend rund 0.8 g Ameisensäure im Liter.

Der Formaldehyd-Gehalt der Lösung zeigte sich, nach der weiter unten zu erwähnenden Thymolreaktion beurteilt, gleich demjenigen im Parallelversuch ohne Quecksilberchlorid, so daß man die Kalomel-Bildung der Ameisensäure allein zuschreiben muß. Daß Ameisensäure das Quecksilberchlorid unter den Belichtungsbedingungen des Versuches zu Kalomel reduziert, davon habe ich mich durch besondere Versuche überzeugt.

Auch Ferrisalze werden im Quecksilberlicht durch Ameisensäure reduziert. Eine Lösung, die 0.03-mol.  $\text{FeCl}_3$  und 1.5-mol. Ameisensäure enthält, wird nach mehrstündiger Belichtung in Glasgefäßen völlig entfärbt. Im Gärungsmesser sieht man eine kleine, etwa  $1/2$  ccm große Gasblase auftreten, die sich in Kalilauge nicht auflöst. Genau dasselbe gilt von den entsprechenden Glykolsäure-Belichtungen. Wahrscheinlich besteht die Gasblase aus Kohlenoxyd und geht aus dem Um-

<sup>1)</sup> Vergl. H. Schiller, Ph. Ch. 80, 666 [1912].

satz hervor:  $2\text{H}_2\text{CO}_3 + 2\text{Fe}^{\text{III}} = 2\text{Fe}^{\text{II}} + 2\text{H}^{\cdot} + \text{CO}_2 + \text{CO} + \text{H}_2\text{O}$ . Es kann sich aber nur um eine geringfügige Nebenreaktion handeln, da  $\frac{1}{2}$  ccm Kohlenoxyd in einem Gärungsmesser, der 10 ccm obiger, völlig reduzierter Eisensalzlösung enthält, nur etwa 10% der nach dieser Gleichung zu erwartenden Menge ist. Die Hauptreaktion ist eben die Oxydation der Ameisensäure zu Kohlensäure, die in der Menge, die im Versuch auftritt, in der Lösung verbleibt.

Das nächste Interesse richtet sich nun auf den Nachweis des Formaldehyds und seine Unterscheidung von Glyoxalsäure.

Die belichteten Lösungen geben die Reaktion von Molisch-Udranski. Zu 1 ccm der Lösung lasse ich 9 ccm reine Schwefelsäure zufüßen und gebe dazu 10—12 Tropfen 15-prozentiger alkoholischer Thymol-Lösung; darauf wird umgeschüttelt. Eine rote Färbung mit charakteristischem Spektrum<sup>1)</sup> zeigt Kohlehydrate, Aldehyde oder Aldehydsäuren an. Zu dem von C. Neuberg<sup>2)</sup> aufgestellten Verzeichnis der Stoffe, die die Reaktion geben, sind noch Formaldehyd und Glyoxalsäure hinzuzufügen. Früher schrieb man die Reaktion einer Furol-Bildung zu, es ist aber wohl richtiger<sup>3)</sup>, sie auf die Huminstoffe zu beziehen. Sie tritt bei allen den Stoffen auf, die mit Alkali gekocht gelb werden, Methylenblau entfärben<sup>4)</sup> und Fehlingsche Lösung reduzieren. Die beiden letzteren Reaktionen geben meine belichteten Lösungen auch, wozu der durch Alkali entstehende Niederschlag des anwesenden Metallsalzes abzufiltrieren ist. Werden die belichteten Lösungen mit einer 1-prozentigen alkoholischen Indollösung versetzt und mit Schwefelsäure unterschichtet, so tritt ein rubinroter Ring und beim Umschütteln tiefrote Färbung auf, was ebenfalls Aldehyde oder Aldehydsäuren anzeigt.

Um nun zwischen Formaldehyd und Glyoxalsäure zu unterscheiden, haben wir zunächst die Reaktion von Tollens<sup>5)</sup> mit Naphthoresorcin, von der C. Neuberg<sup>6)</sup> nachwies, daß sie zur Erkennung der Glyoxalsäure dienen kann.

Eine Lösung von Glyoxalsäure gibt auch noch in sehr großer Verdünnung ( $\frac{1}{1000}$ -normal und noch weniger) folgende Reaktion: 1—2 ccm der Lösung werden mit einer Messerspitze Naphthoresorcin und mit etwa 5 ccm rauchender Salzsäure versetzt und im Reagensglas zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen wird, nachdem allenfalls mit etwas Wasser verdünnt ist, mit

<sup>1)</sup> E. Baur, Über die Bestimmung des Zuckers im Fleisch, Arb. Kais. Gesundheitsamt **30**, 63 [1909].

<sup>2)</sup> H. **31**, 564—573 [1901].

<sup>3)</sup> Vergl. C. Neuberg, ebenda.

<sup>4)</sup> E. Herzfeld, Über eine quantitative Zuckerbestimmungsmethode im Blute. H. **77**, 420 [1912].

<sup>5)</sup> B. **41**, 1788 [1908].

<sup>6)</sup> Bio. Z. **13**, 148 [1910]; **24**, 436 [1910].

Ather ausgeschüttelt, der bei Anwesenheit von Glyoxalsäure einen schönen violetten bis tiefroten Farbstoff aufnimmt.

Diese Probe verlief bei meinen Belichtungsversuchen negativ. Dies war auffallend, da C. Neuberg<sup>1)</sup> bei der Belichtung von Essigsäure in Gegenwart von Uranylulfat mit Sonnenlicht Glyoxalsäure durch die Naphthoresorcin-Probe nachweisen konnte. Ich wiederholte den Versuch Neubergs mit der Quecksilberlampe und konnte seinen Befund nur bestätigen. Auch mit Eisenchlorid und Essigsäure bekommt man eine positive Naphthoresorcin-Reaktion. C. Neuberg<sup>2)</sup> erwähnt, daß er bei der Besonnung von Glykokoll mit Uranylulfat neben Formaldehyd auch Glyoxalsäure nachweisen konnte. Das Glykokoll scheint also zum Teil wie Glyoxalsäure gespalten zu werden.

Als weitere Unterscheidung von Glyoxalsäure und als spezifische Reaktion auf Formaldehyd bot sich die Reaktion von Hehner an<sup>3)</sup>.

Man versetzt etwa 1 ccm der zu prüfenden Lösung mit 5 ccm Milch und einigen Tropfen 1-prozentiger Eisenchloridlösung, sodann fügt man noch dieselbe Menge 50-prozentiger Schwefelsäure (1 Raumteil  $H_2SO_4$  + 1 Raumteil  $H_2O$ ) hinzu, schüttelt um und erhitzt zum Kochen. Eine prächtige, satt violette Färbung zeigt die Gegenwart von Formaldehyd an. Verdünnte Glyoxalsäurelösungen geben diese Reaktion nicht. Es tritt nur eine fleischfarbene oder wenig ausgesprochene, mißfarbig röthlichviolette Färbung auf, die der Adamkiewiczschen Eiweißreaktion entspricht. Mit der Formaldehyd-Reaktion ist sie nicht zu verwechseln. Die belichteten Glyoxalsäurelösungen geben nun die Formaldehyd-Reaktion sehr stark und prächtig.

Die Diagnose läßt sich noch etwas vervollständigen durch die Destillation der belichteten Lösungen. Sowohl Formaldehyd als Glyoxalsäure sind mit Wasserdämpfen flüchtig. Letztere reichert sich allerdings im Rückstande an; wir konnten uns aber überzeugen, daß, wenn verdünnte Glyoxalsäure-Lösungen, die wir durch elektrolytische Reduktion der Oxalsäure herstellten, in vier gleiche Fraktionen zerlegt werden, die zweite und dritte schon erhebliche Anteile der gesamten vorhandenen Menge enthalten. Solche Destillate geben nun mit überschüssigem Kalkwasser in der Hitze einen Niederschlag von oxalsaurem Calcium, wenn sie Glyoxalsäure enthalten<sup>4)</sup>.

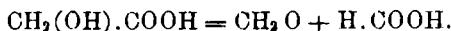
Aber auch diese Probe fiel mit den Destillaten der belichteten Glyoxalsäure ebenso negativ aus, wie die Naphthoresorcin-Probe, während die Formaldehyd-Reaktion mit Milch darin ungeschwächt war. Auch die anderen Aldehydreaktionen: Rötung der fuchsinschwefeligen Säure und des Diazobenzolsulfates mit Alkali, waren den Destillaten eigen.

<sup>1)</sup> Bio. Z. 18, 305–320 [1908]. <sup>2)</sup> Ebenda.

<sup>3)</sup> Vergl. Polenske, Arb. Kais. Gesundheitsamt 22, 657 [1905].

<sup>4)</sup> Debus, A. 110, 321 [1859].

Alles zusammengefaßt, ergibt sich, daß die Glykolsäure bei Anwesenheit farbiger Metallsalze im Quecksilberlicht eine Photolyse erfährt, die durch die Gleichung ausgedrückt wird:



Um über das Maß der Zerlegung Daten zu bekommen, bediente ich mich der Reduktion Fehlingscher Lösung und der Kupferbestimmung nach Allihn. Folgende Messungen wurden gemacht:

A. 110 ccm einer Lösung, enthaltend 2% Glykolsäure und 1.5%  $\text{CuSO}_4$ , werden 15 Stunden in Quarzröhren belichtet, darauf mit 100 ccm Fehlingscher Lösung versetzt und zwei Minuten gekocht. Erhalten: 0.0604 g Cu.

B. 140 ccm einer Lösung mit 2% Glykolsäure und 1.5%  $\text{CuSO}_4$ , in Quarzröhren 15 Stunden belichtet, werden destilliert. 100 ccm des Destillates werden wie oben behandelt. Erhalten: 0.0445 g Cu.

C. 150 ccm einer Lösung, enthaltend 2.6% Glykolsäure und 0.67% Uranylsulfat, werden in einem gläsernen Meßzylinder, den die Lösung vollständig erfüllt, mit Glasstopfen verschlossen, 15 Stunden belichtet. Darauf wird das reduzierte Uransalz mit Natronlauge gefällt und abfiltriert. Das Filtrat wird wie oben behandelt. Erhalten: 0.0670 g Cu.

D. 150 ccm einer Lösung, enthaltend 2% Glykolsäure und 3%  $\text{FeCl}_3$ , 15 Stunden im verschlossenen gläsernen Meßzylinder belichtet, werden destilliert. 100 ccm des Destillates werden wie oben behandelt. Erhalten: 0.0584 g Cu.

E. 150 ccm einer Lösung mit 2% Glykolsäure und 0.2%  $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$  wird belichtet — das Ferrisalz ist nach der Belichtung völlig reduziert — und destilliert wie oben. 100 ccm des Destillates ergeben: 0.0372 g Cu.

Wenn wir das Kupferäquivalent des Formaldehyds dem der Dextrose gleichsetzen, d. h. rund 1 g Cu gleich  $\frac{1}{2}$  g Formaldehyd setzen, und außerdem annehmen, daß bei den Destillationen keine merkliche Fraktionierung stattgefunden hat, so geben diese Werte in den vorgenannten Versuchen folgende Mengen Formaldehyd im Liter Lösung an:

$$A = 0.27 \text{ g} \quad D = 0.27 \text{ g}$$

$$B = 0.22 \text{ } \rightarrow \quad E = 0.18 \text{ } \rightarrow$$

$$C = 0.22 \text{ } \rightarrow$$

Es entsprechen 0.22 g Formaldehyd 0.55 g Glykolsäure; dies macht in 2-proz. Glykolsäure-Lösung eine Zersetzung von 2.8%.

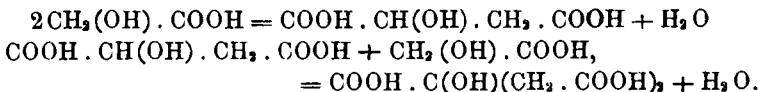
Dem so ermittelten Gehalt von rund 0.02% Formaldehyd in den belichteten Lösungen entsprechen diejenigen, die man nach Farbe und Spektrum der Reaktion von Molisch schätzen kann. Hier muß ich aber darauf aufmerksam machen, daß man den Vergleich nur mit den Filtraten oder Destillaten anstellen darf. Denn die Gegenwart von Metallsalzen verstärkt die Reaktion; namentlich Ferrisalze in größerer Menge, z. B. in Versuch I, machen diese sog. »Furol«-Probe

wohl hundertmal empfindlicher. Gegebenen Falles wird man von dieser Tatsache bei Anstellung der Furolprobe mit Vorteil Gebrauch machen können. Kupfersulfat macht den Farbenton mehr rosenrot und gibt eine schärfere Begrenzung des blauen Saumes des Absorptionsbandes. Daher mag Kupfersulfat zur Verschärfung der Reaktion von Molisch vielleicht noch empfehlenswerter sein als Ferrisalz.

Ich hielt es nicht für ausgeschlossen, daß die Photolyse neben Formaldehyd auch Kohlenhydrate, als dessen Polymere, lieferte. Indessen verlief sowohl die Phloroglucinprobe auf Pentosen nach Tollen als auch Seliwanoffs Ketosenreaktion negativ; damit und wegen des negativen Ausfalles der Naphthoresorcinprobe war zugleich die Anwesenheit von Glucuronsäure, als eines möglichen Oxydationsproduktes einer Hexose, ausgeschlossen<sup>1)</sup>. Versuche, mit Phenylhydrazin Osazone zu erhalten, verliefen ebenfalls negativ.

Der Zerfall der Glykolsäure in Formaldehyd und Ameisensäure hat nichts auffallendes. Erhitzen von Calciumglykolat mit Schwefelsäure auf 170° wirkt ebenso<sup>2)</sup>. Abspaltung von Ameisensäure ist überhaupt eine allgemeine Eigenschaft der Oxsäuren. So gibt Milchsäure mit Schwefelsäure erhitzt Acetaldehyd und Ameisensäure; Citronensäure gibt unter denselben Umständen Acetondicarbonsäure und Ameisensäure; und die gleichen Zersetzung finden wir als Photolyse in Gegenwart von Uranylsulfat oder Ferrisulfat nach C. Neuberg<sup>3)</sup> bei der Milchsäure und nach Seekamp<sup>4)</sup> bei der Citronensäure wieder. Die altbekannte Zerlegung der Oxalsäure in Ameisensäure und Kohlensäure mit und ohne Licht schließt sich ebenfalls hier an.

III. Mit der Glykolsäure stehen zwei andere, weit verbreitete Pflanzensäuren auf gleicher Oxydationsstufe, die Apfelsäure und Citronensäure. Es sind Kondensationsprodukte der Glykolsäure nach den Gleichungen:



Da nach den Arbeiten von Giamician und Silber<sup>5)</sup> das Sonnenlicht Kohlenstoffverkettungen vom Typus der Aldolkondens-

<sup>1)</sup> Vergl. C. Neuberg, H. 31, 564—573 [1911] und C. Neuberg, Der Harn, I. Th., Berlin, Springer 1911.

<sup>2)</sup> Vergl. Heintz, A. 138, 143 [1866].

<sup>3)</sup> Bio. Z. 29, 279—293 [1910] und 39, 158 [1912].

<sup>4)</sup> A. 278, 374 [1894].

<sup>5)</sup> B. 44, 1280, 1554 [1911].

sationen hervorzubringen vermag, so versuchte ich, ob nicht auch obige Umwandlungen durch Lichtwirkung sich bemerklich machen würden. In Röhren aus Quarzglas füllte ich teils etwa 1-proz., nahezu gesättigte Lösungen von Calciumglykolat, teils ebensolche gemeinschaftliche Lösungen von Calciumglykolat und Calciummalat, verschloß sie, nachdem ich zur Konservierung in jedes ein kleines Stückchen Thymol hineingeworfen hatte, und belichtete sie 140 Stunden lang mit der Quarzquecksilberlampe. Die Lösungen veränderten sich dabei äußerlich nicht, aber nach der Belichtung gaben sie eine Reaktion auf Citronensäure. Proben von beiden Lösungen, mit Kalkwasser versetzt und zum Kochen erhitzt, schieden in der Siedehitze einen weißen Niederschlag ab, der zuerst als eine opake Trübung erschien, dann sich flockig absetzte und nach einigen Tagen krystallinisch wurde. Unbelichtete Lösungen von Calciumglykolat und Calciummalat geben diese Reaktion nicht. Wohl aber tritt sie in der genau gleichen, eben beschriebenen Weise auf, wenn Citronensäure mit Kalkwasser übersättigt und zum Sieden erhitzt wird.

Nachdem die Niederschläge krystallinisch geworden waren, untersuchte ich sie unter dem Mikroskop. Dabei ließ sich freilich nur feststellen, daß beide aus gleich aussehenden, radialstrahligen Globuliten bestehen, die ziemlich starke Doppelbrechung besaßen und die gleiche mittlere Lichtbrechung, nämlich etwa  $1.56$  ( $n_a > \text{Anisol} = 1.56 > n_g$ ). Einzelne nadelige Krystalle ließen negativen Charakter der Hauptzone erkennen. Krystalle von denselben optischen Merkmalen erhält man auch, wenn man eine verdünnte Lösung von Natriumcitrat mit Chlorcalcium versetzt und zwei Tage stehen läßt. Man muß daher annehmen, daß der Niederschlag in dem belichteten Glykolate und dem gemischten Glykolat-Malate aus citronensaurem Calcium besteht. Leider gelang es nicht, aus den belichteten Lösungen durch Zusatz von Bariumacetat das Bariumcitrat zur Krystallisation zu bringen, das nach Kämmerer<sup>1)</sup> charakteristisch ist, da die Gegenwart des Calciumglykolates und -malates, wie ich mich besonders überzeugte, die Ausfällung des Bariumcitrates verhindert.

Es scheint, daß die Kondensation des Glykolates und Malates zum Citrate auch durch die katalytische Wirkung des Kalkwassers eintreten kann.

Ich vermischte je 100 ccm gesättigtes Calciummalat und Calciumglykolat (beide Lösungen enthalten etwa 1%) mit je 150 ccm gesättigtem Kalkwasser und ließ die klaren Lösungen in verstöpselten und vollständig gefüllten Flaschen stehen. Nach einem Tage haben beide die Eigenschaft bekommen, beim Erhitzen im Reagensglas sich opak zu trüben, was den frisch bereiteten

<sup>1)</sup> Fr. 8, 298 [1869].

Lösungen nicht zukommt. Nach zwei Tagen bemerkt man in der Flasche mit Malat einen Niederschlag, nach drei Tagen auch in der mit Glykolat. Ich hängte nun die Flaschen in einen Thermostaten von 90°. Dabei trübten sich die Lösungen stark und schieden im Verlaufe von zwei Tagen ziemlich reichliche Mengen eines flockigen Niederschlages ab. Ganz dieselbe Erscheinung — zuerst Trübung der ganzen Lösung, sodann flockiger Absatz — tritt ein, wenn man eine Flasche mit Calciumeitrat und Kalkwasser (man neutralisiert 0.23 g Citronensäure, in etwas Wasser gelöst, mit Kalkwasser, wozu etwa 80 ccm nötig sind, und fügt noch 130 ccm Kalkwasser hinzu) in den Thermostaten einhängt. Die gewonnenen Niederschläge waren amorph, so daß sich unter dem Mikroskop nichts weiteres feststellen ließ.

Die, wie angegeben, zusammengesetzten Lösungen aus Calciumhydroxyd und Calciumglykolat bzw. -malat sollten, nach einer Überschlagsrechnung beurteilt, bei 100° an  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  übersättigt sein. Auch erhält man mit einer Lösung aus 100 ccm 0.6%  $\text{CaCl}_2$  + 150 ccm gesättigtes  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  — die annähernd ebensoviel Calcium enthält, wie die Glykolat- und Malat-Lösungen, und bei Zimmertemperatur an Kalk nicht übersättigt ist — beim Kochen einen geringen staubigen, durchsichtigen Niederschlag von Kalkhydrat, der übrigens mit der undurchsichtigen Citrattrübung nicht verwechselt werden kann. Da dieser feinpulverige Kalkniederschlag in den frisch bereiteten Glykolat- und Malatlösungen beim Kochen, wie erwähnt, nicht entsteht, so wird ersichtlich, daß zwischen dem Calciumhydroxyd und den Calciumsalzen der Oxysäuren eine gewisse Komplexbildung eintritt.

Vorbehaltlich weiterer Untersuchung wird man die beschriebenen Präzipitate auf Calciumcitrat zurückführen müssen. Die kondensierende Wirkung des Kalkwassers hat nichts auffälliges, da den Alkalien vielfach eine solche Fähigkeit zukommt. Es braucht nur an die Umwandlung des Formaldehyds in Arabinoketose<sup>1)</sup> erinnert zu werden.

Ob äpfelsaures Salz in der belichteten Lösung des Calciumglykolates vorhanden ist, konnte ich bislang nicht ermitteln. Indessen beobachtete ich zufällig eine Bildung von Calciumbimalat aus Calciumglykolat auf biologischem Wege.

In einer Flasche mit saurem Calciumglykolat, die, ohne mit Thymol konserviert zu sein, mehrere Wochen gestanden hatte, hatte sich ein schwedendes Pilzmycelium entwickelt. Als ich dieses unter dem Mikroskop betrachtete, bemerkte ich zwischen den Pilzfäden viele sehr kleine, oktaedrische Krystallchen. Sie waren doppeltbrechend, der Form nach aber von regulären Oktaedern nicht zu unterscheiden. Nun krystallisiert das saure Calciummalat,  $\text{Ca}(\text{C}_4\text{H}_5\text{O}_5)_2 + 6\text{H}_2\text{O}$ , in rhombischen Oktaedern<sup>2)</sup>, die Achsenverhältnis

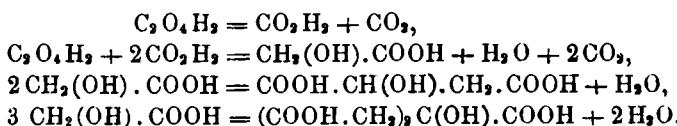
<sup>1)</sup> Vergl. H. und A. Euler, B. 39, 45 [1906]

<sup>2)</sup> Iwig und Hecht, A. 233, 166 [1886].

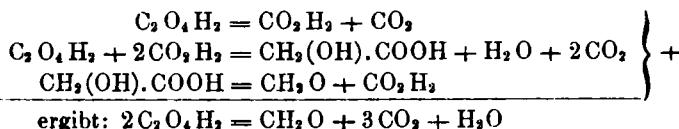
nisse sind von der Einheit kaum verschieden<sup>1)</sup>), so daß bei reiner Ausbildung des Bisphenoids Krystalle, die wie reguläre Oktaeder aussehen, erhalten werden. Zum Vergleiche stellte ich dieses Salz her durch Auflösen des neutralen Calciummalates ( $\text{CaC}_4\text{H}_4\text{O}_5 + 3\text{H}_2\text{O}$ , das aus Kaliummalat und Chlorcalcium in schönen Krystallen leicht zu erhalten ist) in verdünnter Salpetersäure und Krystallisieren lassen, sowie durch Auflösen der berechneten Menge Ätzkalk in Äpfelsäure. Beim Kochen der letzteren Lösung fällt ein Teil des Salzes feinpulverig aus, dieser Niederschlag besteht aus sehr kleinen, mikroskopischen Oktaedern. Mit diesen kann man zweckmäßig die erstere Lösung (in verdünnter Salpetersäure) impfen. Stellt man dann zur Krystallisation, so entstehen in beiden Lösungen größere, größtenteils flächenreiche Krystalle, zum Teil von prismatischer Ausbildung, zum Teil größere Oktaeder. Namentlich aber die kleinen Oktaeder des feinpulverigen Anteils gleichen vollkommen denjenigen, die ich im Pilzmycel antraf.

Das entscheidende Merkmal ist die Lichtbrechung. Sie ist für die zum Zwecke der Vergleichung hergestellten Krystallisationen des Calciumbimalates und für die im Calciumglykolat neben den Pilzfäden gewachsenen Oktaeder die gleiche und beträgt, nach der Einbettungsmethode gemessen, 1.540 (wie Nelkenöl). Bolland<sup>2)</sup> gibt für Calciumbimalat  $n_a = 1.545$ . Unter sonstigen möglichen Stoffen hat das Calciumformiat ähnliche krystall-optische Merkmale. Es kann aber nicht aus 1-proz. Lösung krystallisieren, da es zu 16% löslich ist. Ich stehe daher nicht an, jene Oktaeder für saures Äpfelsaures Calcium anzusprechen, das sich durch eine Fermentwirkung, die von den Pilzen ausgeht, aus dem glykolsauren Salz gebildet haben muß.

IV. Die vorhergehenden Beobachtungen erlauben, von der Oxalsäure ausgehend, die wichtigsten Pflanzensäuren abzuleiten. Wir haben die Reaktionen:



Ferner erbält die Glykolsäure einen nahen Zusammenhang mit den Kohlehydraten durch ihre Spaltung in Formaldehyd und Ameisensäure. Die Zusammenfassung der drei Gleichungen:



<sup>1)</sup> Vergl. Groth, Chemische Krystallographie, Bd. III, S. 298.

<sup>2)</sup> Wien. Akad. Ber. 119, IIb, 285 [1910].

und zeigt, wie man von der Oxalsäure, dem wahrscheinlich ersten Produkt der Assimilation<sup>1)</sup> zu den Koblehydraten übergehen kann, die in der Pflanze wohl an Stelle des Formaldehyds bei der Zersetzung der Glykolsäure auftreten.

Äpfelsäure und Citronensäure kommen zur Glykolsäure in ein ähnliches Verhältnis wie die Stärke zur Glykose; es sind vorübergehende Aufspeicherungsformen der Glykolsäure.

Insgesamt erkennen wir in den Pflanzensäuren, nämlich in der Oxalsäure, Ameisensäure, Glyoxalsäure, Glykolsäure, Äpfelsäure und Citronensäure, die Vorstufen der Kohlenhydrate, was übrigens schon Justus von Liebig klar geworden war.

Ohne auf weitere biologische Folgerungen einzugehen, möchte ich vorbeugend hier nur bemerken, daß ich nicht meine, die verschiedenen Verwandlungen der Pflanzensäuren, die in dieser Arbeit zum Teil durch Licht eingeleitet werden, müßten auch in der lebenden Pflanze durch Licht bewirkt werden. Die Pflanze verfügt über spezifische Fermente. Wenn wir uns mit Vorliebe des Lichtes bedienen, so geschieht es, weil uns dieses als universeller Katalysator dienen kann.

Zürich, Eidgen. Techn. Hochschule.

---

**102. August Darapsky: Zur Konstitution der Pyrazolin-carbonsäuren. (Dritte Mitteilung.)**

[Aus dem Chemischen Institut der städtischen Handels-Hochschule Köln]. (Eingeg. am 22. Febr. 1913; vorgetragen vom Verfasser in der Sitzung vom 10. März 1913).

In der ersten Mitteilung<sup>2)</sup> habe ich gezeigt, daß die Auffassung C. Bülow's<sup>3)</sup>, wonach die Kondensationsprodukte der Diazo-fettsäure-ester mit Äthylen-carbonsäureestern keine Pyrazolin-Derivate darstellen, sondern als acyclische *gemischte* Azine zu betrachten sind, weder neu noch zutreffend ist, da nach dieser Ansicht bei folgerichtiger Anwendung auf die Vereinigung von Diazo-bernsteinsäure-ester und Fumarester dem so entstehenden Körper die schon vor 27 Jahren von Curtius und Koch<sup>4)</sup> vorläufig aufgestellte Formel des *unsymm.* Azin-bernsteinsäureesters oder mit anderen Worten des *symm.* Azins des Oxal-essigsäureesters zukommen müßte, während

<sup>1)</sup> E. Baur, Z. physik. Chem. 68, 706 [1908]; 72, 336 [1910].

<sup>2)</sup> B. 45, 797 [1912]. <sup>3)</sup> B. 44, 3710 [1911]. <sup>4)</sup> B. 18, 1304 [1885].