

**129. Kurt Maurer und Kurt Knoevenagel: Die Einwirkung von Aminosäuren auf  $\alpha$ -Ketohehexonsäureester.**

[Aus d. Chem. Institut d. Universität Rostock.]

(Eingegangen am 5. Mai 1941.)

Die Bindungsart zwischen Kohlenhydraten und Eiweißstoffen in Glykoproteiden ist schon häufig Gegenstand von Untersuchungen gewesen. Trotzdem ist die Frage keineswegs geklärt. Für die verschiedenen Bindungstypen sind Modellsubstanzen aufgebaut worden (A. Bertho<sup>1)</sup>). Wir selbst haben eine Reihe von Peptid- und Aminosäure-glucosiden<sup>2)</sup> synthetisiert und haben jetzt auch die Carbonsäuren der Zuckerreihe in Betracht gezogen, die u. U. durch Säureamidbindungen Aminosäuren, Peptide und Eiweiß binden können.

Im Rahmen dieser Untersuchungen wurden auch die  $\alpha$ -Ketohehexonsäuren auf ihr Verhalten geprüft. Die Umsetzung der einfachsten  $\alpha$ -Ketosäure, der Brenztraubensäure, mit Alanin usw. ist von Langenbeck studiert worden, sie führt zu einer Decarboxylierung. Da wir Säureamide aufbauen wollten, haben wir die Langenbeckschen Arbeitsbedingungen nicht übernommen, sondern Hexonsäureester auf Aminosäureester einwirken lassen.

Die  $\alpha$ -Ketohehexonsäureester geben in keinem Falle Säureamide mit den Aminosäureestern, sondern lagern sich unter Lactonbildung in die Anordnung der Ascorbinsäure um. Sie verhalten sich also gegenüber dem basischen Aminosäureester genau wie gegen andere alkalische Mittel, von denen die umlagernde Wirkung seit unserer 1933 erstmalig gemachten Beobachtung<sup>3)</sup> bekannt ist. Wir haben einige Fälle untersucht, weil gerade mit organischen Basen die Reaktion nicht immer durchführbar ist. Besonders interessierte uns die Möglichkeit, den basischen Aminosäureester durch eine basische Diaminosäure zu ersetzen. Mit Arginin gelang eine 100-proz. Umsetzung. Auch mit basischem Eiweiß scheint die Umlagerung einzutreten, leider verfügten wir nicht über die genügende Menge reinen Clupeins, das wir als Objekt benutzten, um einwandfreie Versuche anstellen zu können. Gerade die letzten Beobachtungen dürften von biologischem Interesse sein.

Im einzelnen ist zu der Reaktion folgendes zu sagen: Sie verläuft am besten in alkoholischer Lösung unter Luftabschluß bei leicht erhöhter Temperatur. Aber auch in wäßriger Lösung ist sie möglich. Da die gebildete Ascorbinsäure den Aminosäureester durch Salzbildung neutralisiert, arbeitet man mit äquimolaren Mengen. Die Ausbeute an Umlagerungsprodukt ist von der jeweils eingesetzten Aminosäure abhängig und liegt im Mittel zwischen 60 und 100%. Es gelang uns nicht, die gebildeten Salze des Vitamins C mit den Aminosäureestern zur Krystallisation zu bringen. Sie sind mit neutraler Reaktion in Wasser löslich, schmecken bitter und lassen sich leicht zerlegen. Mit alkoholischer Kalilauge fällt in der Eiskälte sofort das ascorbinsaure Kalium aus. (Die Umlagerung mit diesem Reagens verlangt höhere Temperatur und einige Minuten Zeit.)

Für die Versuche wurden eingesetzt:  $\alpha$ -Ketogluconsäureester,  $\alpha$ -Ketogluconsäureester, die Ester des Glykokolls, Alanins, des  $\beta$ -Alanins, ferner freies Arginin. Ob die Kombination Vitamin C und  $\beta$ -Alanin eine besondere biologische Bedeutung hat, soll geprüft werden.

<sup>1)</sup> A. 485, 127 [1931].<sup>2)</sup> K. Maurer u. Schiedt, Ztschr. physiol. Chem. 213, 110 [1932]; 231, 1 [1935].<sup>3)</sup> K. Maurer u. Schiedt, B. 66, 1054 [1933].

Der Verlauf der Reaktion wurde durch Titration mit  $n_{10}$ -Jodlösung und optisch verfolgt. Die Enddrehungen der Salze ermittelten wir an Salzen, die aus den jeweiligen Komponenten direkt dargestellt waren.

### Beschreibung der Versuche.

#### 1) Ketogluconsäureester und Glykokollester.

4.16 g  $\alpha$ -Ketogluconsäuremethylester ( $\frac{2}{100}$  Mol) wurden in 100 ccm absol. Methanol gelöst und 2.03 g Glykokolläthylester ( $\frac{2}{100}$  Mol) zugesetzt. Die Lösung wurde in 20 Ampullen zu je 5 ccm eingeschmolzen und im Thermostaten auf 70° erwärmt. Von Zeit zu Zeit wurde eine Ampulle herausgenommen und mit  $n_{10}$ -Jodlösung titriert.

Zeit des Erwärmsens in Stdn.	Verbr. $n_{10}$ -Jod in ccm	Umsatz in %
3	11.1	55.5
5	11.9	59.5
8	12.1	60.5
22	10.3	51.5

Für 100-proz. Umlagerung wären 20 ccm  $n_{10}$ -Jod verbraucht worden.

Die Lösung in den Ampullen färbte sich im Laufe des Erwärmsens von Gelb bis Rotbraun.

#### 2) $\alpha$ -Ketogluconsäureester und $\alpha$ -Alaninester.

2.08 g  $\alpha$ -Ketogluconsäureester ( $\frac{1}{100}$  Mol) in 100 ccm absol. Methanol wurden mit 1.25 g  $\alpha$ -Alaninester versetzt, 10 Ampullen zu 10 ccm gefüllt und auf 70° erwärmt.

Zeit des Erwärmsens in Stdn.	Verbr. $n_{10}$ -Jod in ccm	Umsatz in %
0	0.3	1.5
1	8.5	42.5
2	10.5	52.5
3	11.0	55.0
18	18.3	91.5
43	16.5	82.5
65	14.4	72.0

Die optische Verfolgung der Umlagerung zeigt folgendes Ergebnis.

Ansatz: 1.04 g Ketogluconsäuremethylester, 50 ccm Methanol, 0.6 g  $\alpha$ -Alaninester. Lösung in Ampullen zu 10 ccm auf 70° erwärmt. 2-dm-Rohr. Na-Licht.

Zeit des Erwärmsens in Stdn.	$\alpha$ :	Umsatz in %
0	---2.4	—
0.5	—1.3	20.8
2.5	-0.64	33.5
18	+1.56	77.5
23	+1.70	80.3
43	+1.66	80.0

Eine Lösung von 0.176 g Isoascorbinsäure und 0.12 g  $\alpha$ -Alaninester in 10 ccm Methanol besaß den Drehwert  $\alpha$ : +2.6°.

3)  $\alpha$ -Ketogluconsäureester und  $\beta$ -Alaninester.

2.08 g Ester wurden zu 100 ccm Methanol gelöst, 1.17 g  $\beta$ -Alaninester zugesetzt und in Ampullen zu 10 ccm auf 70° erwärmt.

Zeit des Erwärmens in Stdn.	Verbrauchtes $n_{10}$ -Jod in ccm	Umsatz in %	$\alpha$ :	Umsatz in %
0	0.5	—	—2.08	—
0.5	7.1	35.5	—0.42	33.5
1	11.0	55.0	+0.56	53.5
2	13.5	67.0	+1.28	67.8
4.5	16.3	81.5	+1.88	79.9
18	17.7	88.5	+2.7	96.5

Eine Lösung von 0.176 g Isoascorbinsäure mit 0.117 g  $\beta$ -Alaninäthylester zu 10 ccm Methanol zeigte die Drehung  $\alpha$ : +2.88°.

4)  $\alpha$ -Ketogluconsäuremethylester und  $d$ -Arginin.

2.08 g  $\alpha$ -Ketogluconsäureester wurden in 90 ccm Methanol gelöst, 1.74 g Arginin in 10 ccm Wasser zugesetzt und in 9 Ampullen zu je 10 ccm verteilt. Erwärmen auf 70°.

Zeit des Erwärmens in Stdn.	Verbr. $n_{10}$ -Jod in ccm	Umsatz in %
0	1.0	5.0
0.25	12.3	61.5
0.5	15.7	78.5
1	17.0	85.0
2	19.1	95.5
15	19.8	99.0

5)  $\alpha$ -Ketogulonsäuremethylester und  $d$ -Arginin.

0.312 g Ketogulonsäureester und 0.261 g Arginin wurden in einem Gemisch von 13 ccm Methanol und 2 ccm Wasser gelöst, in eine Ampulle eingeschmolzen, im Thermostaten auf 70° erwärmt und von Zeit zu Zeit Proben entnommen.

Zeit des Erwärmens in Stdn.	Verbr. $n_{10}$ -Jod *) in ccm	Umsatz in %
0	0.8	4.0
3	11.5	57.5
19	9.4	45.0

\*) Werte sind auf 10 ccm umgerechnet.

In den beiden letzten Proben war etwas öliges Produkt ausgefallen (vielleicht Arginin, das in Methanol schwer löslich ist), wodurch die Werte nicht ganz genau sind.

## 6) Versuch in wäßriger Lösung.

2.08 g Ketogluconsäuremethylester werden mit 1.17 g  $\alpha$ -Alanin-äthylester zu 100 ccm Wasser gelöst, in Ampullen zu 10 ccm auf 70° erwärmt und von Zeit zu Zeit 10 ccm untersucht.

Zeit des Erwärmens in Stdn.	Verbrauchtes $n_{10}$ -Jod in ccm	$\alpha$ :	Umsatz in %
0	1.3	—2.4	—
0.5	5.2	—1.74	10.4
1.0	6.1	—1.3	17.4
2	5.3	—1.4	15.9
18	5.2	—2.04	5.7

Eine Lösung von 0.176 g Isovitamin C und 0.117 g  $\alpha$ -Alaninäthylester in Wasser zeigte die Drehung  $\alpha$ : +3.9°.

Der Versuch zeigt, daß in wäßr. Lösung Nebenreaktionen — wahrscheinlich Esterverseifungen — überhand nehmen.

### 7) Kontrollversuche in wäßriger und in methyllalkoholischer Lösung.

Da es möglich ist, Ketohexonsäureester auch durch Erhitzen in Wasser ohne Zusätze in Vitamin C umzulagern, waren folgende Blindversuche nötig. Sie zeigen, daß unter unseren Versuchsbedingungen kaum eine Umlagerung eintritt.

Es wurden jeweils 1.04 g Ketogluconsäureester zu 50 ccm Wasser bzw. Methanol gelöst und in der üblichen Weise erwärmt. Je 10 ccm wurden zu den Einzelproben verwendet.

Wasser:	Zeit des Erwärms in Stdn.	$\alpha$ :	Verbr. $n_{10}^{\circ}$ -Jod in ccm
	0	—3.0	0
	24	—3.26	0.3
	72	—3.12	1.6
	nach 10 Tagen	—3.2	+1
Methanol:	0	—2.9	0
	24	—1.64	0
	48	—1.56	0
	nach 10 Tagen	—1.7	0.4

8) In einem weiteren Versuch wurde *p*-Amino-benzoesäureester als Aminosäureester eingesetzt. Eine Umlagerung wurde nicht beobachtet. Auch mit Anilin gelang der Versuch nicht.

Dagegen bewährte sich Diäthylamin sehr gut. Bereits nach 1 Stde. Erwärmen auf 70° zeigte der Titrationswert 100% Umlagerung an, während der Drehwert etwas zurückblieb.

### 9) Versuche zur präparativen Darstellung von Isovitamin C.

a) 6.24 g  $\alpha$ -Ketogluconsäuremethylester ( $\frac{3}{100}$  Mol) wurden in 100 ccm absol. Methanol gelöst und 3.51 g  $\alpha$ -Alaninäthylester ( $\frac{3}{100}$  Mol) zugegeben. Die Lösung wurde 12 Stdn. im luftdicht verschlossenen Gefäß im Thermostaten auf 70° erwärmt. Anschließend wurde mit einer Lösung von 1.71 g KOH ( $\frac{3}{100}$  Mol) in 50 ccm absol. Methanol unter Eiskühlung gefällt, schnell abfiltriert und getrocknet. Ausb. 2.5 g K-Salz (33% d. Th.).

b) 10.4 g  $\alpha$ -Ketogluconsäuremethylester ( $\frac{1}{20}$  Mol) wurden in 250 ccm absol. Methanol gelöst und 5.1 g Glykokolläthylester ( $\frac{1}{20}$  Mol) zugegeben. Die Lösung wurde 15 Stdn. im luftdicht verschlossenen Gefäß im Thermostaten auf 70° erwärmt. Anschließend wurde mit einer Lösung von 3 g KOH ( $2.8 = \frac{1}{20}$  Mol) in 100 ccm absol. Methanol unter Eiskühlung gefällt und schnell abgesaugt. Der Niederschlag wurde getrocknet. Ausb. an K-Salz 5.0 g (41% d. Th.).