

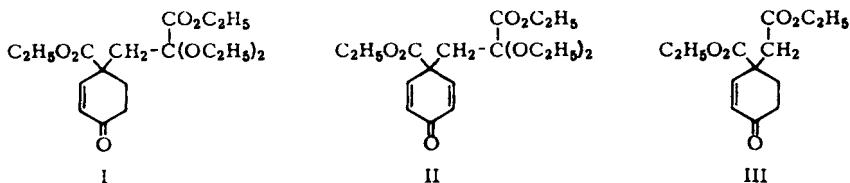
HANS PLIENINGER, LOTHAR ARNOLD, ROLF FISCHER und
WERNER HOFFMANN

Synthese des Prephensäure-diäthylacetals und seine Hydrolyse zu Phenylbrenztraubensäure und Prephensäure*)

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Heidelberg
(Eingegangen am 15. September 1964)

Das Dienon II und Prephensäure-diäthylacetal (X) werden dargestellt. Unter Verwendung der vorstehend ermittelten kinetischen Daten wird berechnet, nach welcher Zeit die maximale Konzentration an Prephensäure durch saure Hydrolyse von X erreicht wird. Das Experiment bestätigt die Rechnung und zeigt, daß hierbei neben einer größeren Menge Phenylbrenztraubensäure Prephensäure entsteht.

Bei unseren Versuchen zur Synthese der Prephensäure (XI) stellten wir das Cyclohexenon-Derivat I dar¹⁾. Für die Umwandlung in Prephensäure fehlte noch die Einführung der zweiten Doppelbindung, die Reduktion der Keto- zur Alkoholgruppe und die Hydrolyse der Acetal- sowie der Estergruppen.



Die Einführung der zweiten Doppelbindung gelingt in sehr guter Ausbeute mit Selendioxid in tert.-Butylalkohol²⁾.

Es überrascht, daß die bei einfacheren Enonen³⁾ günstigere Umwandlung über das Enolacetat, dessen Bromierung mit Bromsuccinimid und HBr-Abspaltung im vorliegenden Fall wesentlich schlechtere Ausbeuten an Dienon II liefert. Zur Darstellung von reinem Dienon II aus I ist es wichtig, von einem Präparat auszugehen, das bei 222 m μ mit log ε = 4.08 absorbiert und einheitlich bei 155°/0.1 Torr siedet. Ein Präparat von III, das über sein kristallisiertes Semicarbazone gereinigt war, diente als Modellverbindung für die Reinheitskontrolle von I durch UV-Messung. Das Enon I gibt keine Derivate, mit deren Hilfe man es reinigen kann.

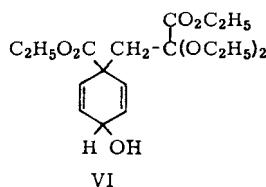
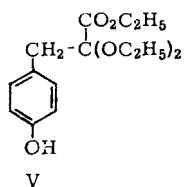
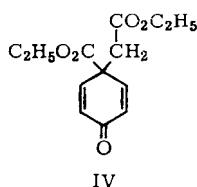
Das mittels Selendioxid gewonnene ölige Dienon II muß mit Raney-Nickel von Selen und Selenverbindungen, die bei der Dehydrierung entstanden sind, befreit werden. Nach Vakuumdestillation absorbiert es bei 237 m μ (log ε = 4.15). Absorptionslage und Extinktion stimmen überein mit denen des kristallisierten Dienons³⁾ IV. Auch Analyse und NMR-Spektrum zeigen die Reinheit von II.

*) Vgl. H. PLIENINGER, Angew. Chem. 74, 423 [1962]; Angew. Chem. internat. Edit. 1, 367 [1962].

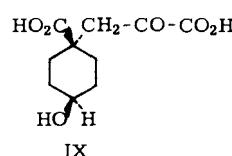
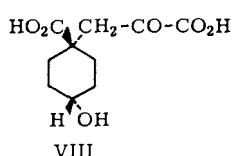
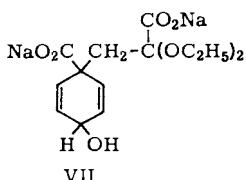
¹⁾ H. PLIENINGER, G. EGE, R. FISCHER und W. HOFFMANN, Chem. Ber. 94, 2106 [1961].

²⁾ H. J. RINGOLD, G. ROSENKRANZ und F. SONDHEIMER, J. org. Chemistry 21, 239 [1956].

³⁾ H. PLIENINGER, G. EGE, H. J. GRASSHOFF, G. KEILICH und W. HOFFMANN, Chem. Ber. 94, 2115 [1961] und vorstehende Mitteilung.



Die Verbindung II aromatisiert sich, wie alle in 4-Stellung äthoxycarbonyl-substituierten Cyclohexadienone³⁾, zum Phenol. Bei der Aromatisierung mit Natriumäthylat entsteht in 90-proz. Ausbeute der kristallisierte *p*-Hydroxy-phenylbrenztraubensäure-acetalester V; gaschromatographisch ist auch noch Diäthylcarbonat nachweisbar. Das Dienon II ist gegen Säuren und thermisch recht stabil. Beim Zutropfen einer alkoholischen Lösung von II zu Natriumborhydrid in Äthanol bei 20° verschwindet die UV-Absorption bei 237 m μ innerhalb weniger Minuten. Das Reaktionsgemisch enthält dann zu etwa 75% das gesuchte Dienol VI und zu 20% das Phenol V. In den flüchtigen Anteilen ließ sich Ameisensäureester gaschromatographisch nachweisen; V und VI lassen sich leicht voneinander trennen. Eine 1,4-Addition des Wasserstoffs, wie sie WINSTEIN und FRIEDRICH⁴⁾ in einem ähnlichen Fall beschrieben, haben wir nicht gefunden *). Der erhaltene Dienolester VI lässt sich nicht ohne Zersetzung destillieren, ist aber bei -20° unbegrenzt haltbar. Die Reduktion von II nach MEERWEIN-PONNDORF ergibt wegen der längeren Reaktionsdauer und höheren Temperaturen weniger reine Präparate.



Durch kontrollierte alkalische Hydrolyse wurde VI zum Na-Salz des Prephensäure-acetals VII verseift. Beim Ansäuern mit Mineralsäure entsteht unter CO₂-Entwicklung in 89-proz. Ausbeute Phenylbrenztraubensäure; VI muß also relativ rein sein. Bei der alkalischen Verseifung können keine wesentlichen Nebenreaktionen auftreten.

Nach katalytischer Hydrierung von VII (als Ba-Salz) mit Pd auf Bariumsulfat wurde das Dinitrophenylhydrazon der Tetrahydroprephensäure hergestellt. Man erhielt ein Hydrazongemisch der beiden Stereoisomeren VIII und IX, wie aus dem papierchromatographischen Vergleich mit den synthetischen Tetrahydroprephensäuren hervorgeht⁵⁾. Die „natürliche“ Form IX (OH und CO₂H *cis*) überwiegt. Das Prephensäure-acetal VII stellt also auch ein Gemisch der stereoisomeren Formen dar.

Um zur Prephensäure zu gelangen, mußte die Acetalgruppe zur freien Ketogruppe hydrolysiert werden, ohne daß eine Aromatisierung zu Phenylbrenztraubensäure

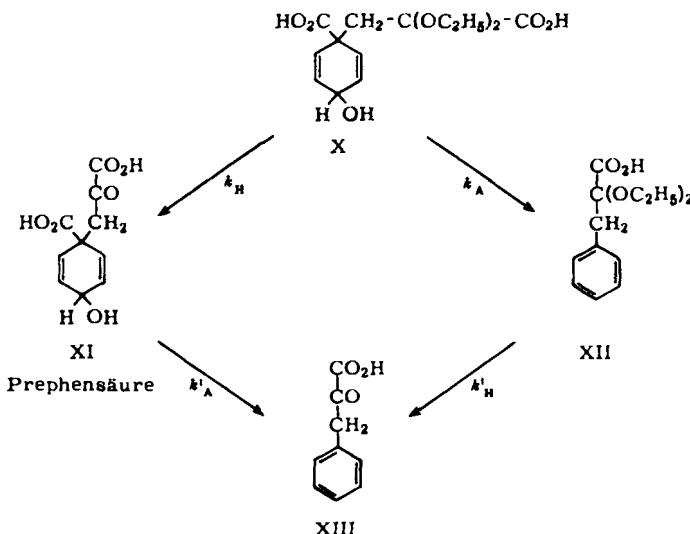
*) Wir haben allerdings beobachtet, daß die Ausbeute auf 50% absinkt, wenn man festes Natriumborhydrid zu einer Lösung des Dienons II in Äthanol gibt.

⁴⁾ E. C. FRIEDRICH und S. WINSTEIN, Tetrahedron Letters [London] 11, 477 [1962].

⁵⁾ H. PLIENINGER und G. KEILICH, Z. Naturforsch. 16b, 81 [1961].

erfolgt. Vorversuche zeigten in Übereinstimmung mit E. VOGEL und H. SCHINZ⁶⁾, daß die Acetale von α -Ketosäureestern ziemlich stabil gegen Säure sind. Die Acetale der entsprechenden freien Säuren hydrolyseren jedoch bedeutend leichter als die Ester⁷⁾.

Bei der sauren Behandlung von X spielen sich folgende Reaktionen ab:



Eine kinetische Betrachtung dieser Parallel- und Folgereaktionen ermöglicht die Bestimmung der Prephensäure-Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit⁸⁾. Für die Änderung der Prephensäure-Konzentration gilt:

$$\frac{d[XI]}{dt} = k_H \cdot [X] - k'_A \cdot [XI], \quad (1)$$

für die Abnahme der Konzentration von X:

$$-\frac{d[X]}{dt} = (k_H + k_A) \cdot [X] \quad (2)$$

Durch Integration der Gleichung (2) erhalten wir (Anfangskonzentration an Prephensäure-acetal = $[X]_0$):

$$[X] = [X]_0 \cdot e^{-(k_H + k_A) \cdot t} \quad (3)$$

(3) in (1) eingesetzt:

$$\frac{d[XI]}{dt} = k_H \cdot [X]_0 \cdot e^{-(k_H + k_A) \cdot t} - k'_A \cdot [XI] \quad (4)$$

Die Gleichung (4), die als Variable nur XI und t enthält, läßt sich integrieren:

$$[XI] = [X]_0 \cdot \frac{k_H}{k'_A - k_H - k_A} \cdot \left(e^{-(k_H + k_A) \cdot t} - e^{-k'_A \cdot t} \right) \quad (5)$$

⁶⁾ Helv. chim. Acta **33**, 116 [1950].

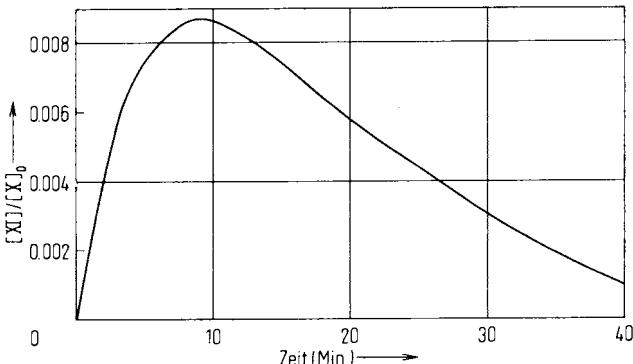
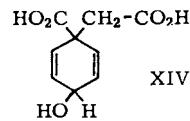
⁷⁾ H. PLIENINGER, L. ARNOLD und W. HOFFMANN, Chem. Ber. **98**, 1761 [1965].

⁸⁾ siehe auch R. HUISGEN, Liebigs Ann. Chem. **574**, 194 [1952] und R. HUISGEN in Methoden der organ. Chemie (Houben-Weyl), Bd. III, S. 146, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1955.

Mit der vereinfachenden Annahme, daß $k_A = k'_A$ ist, geht Gleichung (5) über in

$$[\text{XI}] = [\text{X}]_0 \cdot \left(e^{-k_A \cdot t} - e^{-(k_H + k_A) \cdot t} \right) \quad (6)$$

Da die Werte für k_H und k_A bzw. k'_A nicht direkt zu erhalten sind, müssen wir auf geeignete Modelle zurückgreifen. Die in der voranstehenden kinetischen Studie⁷⁾ untersuchte Hydrolyse des α -Keto-glutarsäure- und Phenylbrenztraubensäure-diäethylacetals bei verschiedenem pH hat ergeben, daß die Hydrolysegeschwindigkeit von der Natur des Acetals nur geringfügig abhängt. Wir nehmen an, daß die Acetalgruppe im Prephensäure-acetal ebenso schnell hydrolysiert wird wie die des α -Keto-glutarsäure-acetals. Wir verwenden daher die Werte $k_H = 0.4 \cdot 10^{-3} \text{ sec}^{-1}$ bei 25° und pH 2.5 und $k_H = 0.97 \cdot 10^{-5} \text{ sec}^{-1}$ bei 0° und pH 1.8. Die Aromatisierungsgeschwindigkeit schätzen wir mit Hilfe der Modellverbindung XIV ab, für die wir bei 25° und pH 2.5 den Wert $k = 1.83 \cdot 10^{-3} \text{ sec}^{-1}$ ermittelt hatten⁹⁾.



Abbild. 1. Nach Gleichung (6) berechneter prozentualer Prephensäuregehalt in Abhängigkeit von der Zeit (bez. auf eingesetztes Acetal X)
bei 25° und pH 2.5; $k_H = 0.4 \cdot 10^{-3} \text{ sec}^{-1}$, $k_A = 1.38 \cdot 10^{-3} \text{ sec}^{-1}$

Die Abbild. 1 zeigt, daß bei 25° und pH 2.5 mit den angenommenen RG-Konstanten die Prephensäure-Konzentration nach 10 Min. ihr Maximum mit etwa 1% erreicht hat. Nach 40 Min. sind nur noch 0.1% Prephensäure vorhanden.

Außer diesem Wert können wir auch die von R. L. METZENBERG und H. K. MITCHELL¹⁰⁾ gemessene Aromatisierungsgeschwindigkeit der natürlichen Prephensäure bei 0° den Berechnungen zugrundelegen. Sie fanden bei pH 1.0 eine Halbwertszeit $\tau = 1 \text{ Stde.}$ und bei pH 2.0 $\tau = 5 \text{ Stdn.}$ Dem entsprechen RG-Konstanten bei pH 1 von $k_A = 1.92 \cdot 10^{-4} \text{ sec}^{-1}$ und bei pH 2.0 von $k_A = 0.39 \cdot 10^{-4} \text{ sec}^{-1}$. Für pH 1, bei dem wir gemessen haben, erhält man durch Interpolation $k_A = 0.5 \cdot 10^{-4} \text{ sec}^{-1}$. Mit diesen Konstanten ist die maximale Konzentration an Prephensäure (6.5%) erst nach 6 Stdn. erreicht.

Wir konnten nun darangehen, die Hydrolyse von VII präparativ zu untersuchen und den Gehalt an Prephensäure ([XI]) nach bestimmten Zeiten zu messen. Er ergibt sich

⁹⁾ H. PLIENINGER, L. ARNOLD und W. HOFFMANN, Chem. Ber. **98**, 1765 [1965], vorstehend.

¹⁰⁾ Arch. Biochem. Biophysics **64**, 51 [1956].

aus der Konzentration an eingesetztem Prephensäure-acetal VII = $[X]_0$ abzüglich der Summe aus noch vorhandenem Prephensäure-acetal $[X]$ + Phenylbrenztraubensäure-acetal $[XII]$ + Phenylbrenztraubensäure $[XIII]$:

$$[XI] = [X]_0 - ([X] + [XII] + [XIII])$$

Die Werte ermittelt man folgendermaßen:

1. Phenylbrenztraubensäure $[XIII]$ wird durch ihre Absorption bei $320 \text{ m}\mu$ ($\epsilon = 15000$) und pH 14 bestimmt. Die Werte sind gut reproduzierbar, wenn man stets die gleichen Reaktionsbedingungen einhält.

2. Die Konzentration an eingesetztem Prephensäure-acetal $[X]_0$ erhält man am genauesten durch Messung der gesamten umlagerungsfähigen Substanz; man aromatisiert durch Ansäuern und Erwärmen und mißt die entstehende Phenylbrenztraubensäure bei pH 14.

3. Die Konzentration der Summe der beiden Acetale X und XII ermittelt man dadurch, daß man das Reaktionsgemisch bei pH 7 mit Natriumborhydrid behandelt (dadurch werden die freien Ketone reduziert), Ansäuern und Erwärmen und erneute Messung bei pH 14 ergibt einen Wert für die Phenylbrenztraubensäure, die aus den vorhandenen Acetalen entstanden ist.

Praktisch geht man nun so vor, daß man eine möglichst frisch bereitete Lösung von X (X aromatisiert sich bei pH 7 und 0° bereits merklich) bei einer bestimmten Temperatur auf ein bestimmtes pH einstellt und zu bestimmten Zeiten Proben entnimmt. Diese werden möglichst schnell neutralisiert und in der oben beschriebenen Weise untersucht.

Wir fanden, daß die Summe der Konzentration an Phenylbrenztraubensäure (Abbildung 2, Kurve A) und Acetal (Kurve B) angenähert die Gesamt-dienol-Konzentration (Kurve C) ergibt. Eine relativ kleine Differenz (Kurve D) gibt den Gehalt an Prephensäure an.

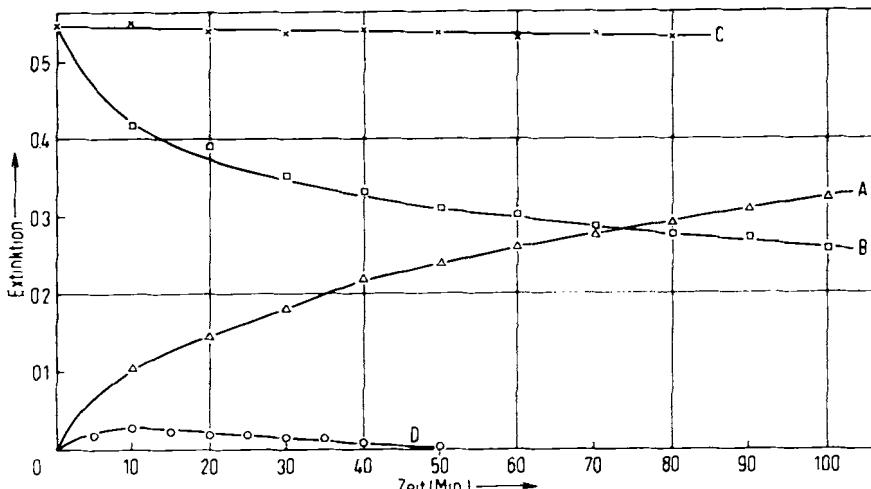


Abbildung 2. Extinktionen für Phenylbrenztraubensäure (A), Gesamtacetale (B) und Prephensäure (D) bei der Hydrolyse des Prephensäure-acetals X bei 20° und pH 1.8

Die Ergebnisse sind reproduzierbar. Um einen systematischen Fehler bei den Konzentrationsbestimmungen kann es sich bei der Differenz, die die Prephensäure-Konzentration angibt, nicht handeln, denn in diesem Fall dürfte keine Zeitabhängigkeit gefunden werden.

Nach unseren Messungen haben wir bei 20° und pH 1.8 nach 10 Min. das Maximum von etwa 4.5% Prephensäure (bez. auf eingesetztes Acetal) erreicht. Nach 50 Min. ist mit den hier angewandten Meßmethoden keine Prephensäure mehr nachzuweisen.

Die Hydrolyse wurde auch bei 0° in 1n HCl durchgeführt und ergab nach etwa einer Stde. einen maximalen Prephensäuregehalt von 10%. Unsere experimentell gefundenen Ergebnisse stimmen recht gut mit den durch kinetische Überlegungen erzielten Berechnungen überein.

Die präparative Darstellung des Bariumsalzes der Prephensäure versuchten wir auf folgende Weise. Das Na-Salz des Prephensäureacetals (VII) wurde bei 20° mit verd. Salzsäure auf pH 1.8 gebracht. Nach 10 Min. wurde mit verdünnter Natronlauge auf pH 7.7 eingestellt. Durch Zugabe von wenig wäßriger Bariumacetatlösung und Fällen mit Äthanol konnte das Bariumsalz erhalten werden. Die UV-spektroskopische Untersuchung zeigte, daß es zum größten Teil (50%) aus Bariumphenylpyruvat (XIII, Ba/2 statt H) und zum geringeren Teil (6%) aus Bariumprephenat bestand¹⁰⁾. Eine Trennung konnte wegen der leicht erfolgenden Aromatisierung des Prephenat-Anteils bisher nicht durchgeführt werden.

Allerdings haben wir hier nur wenige Versuche unternommen, da die sehr schlechte Ausbeute in der letzten Stufe eine ins Auge gefaßte Darstellung markierter Prephensäure wenig lohnend erscheinen ließ. Die Frage, wie weit das erhaltene Prephenat die natürliche Konfiguration besitzt, konnte noch nicht geklärt werden. Unter Verwendung leichter abspaltbarer Schutzgruppen wird die Synthese derzeit variiert.

Herrn Dr. G. EGE, auf dessen Dissertation die Ringsynthese von I zurückgeht, danken wir auch weiterhin für anregende Diskussionen; Herrn Dr. U. WEISS vom National Institute of Health, Bethesda, Maryland, USA, für freundliche Ratschläge. Die DEUTSCHE FORSCHUNGS-GEMEINSCHAFT hat diese Arbeit durch Sach- und Personalmittel großzügig unterstützt, wofür herzlich gedankt sei. Dem VERBAND DER CHEMISCHEN INDUSTRIE danken wir für eine Beihilfe, der BADISCHEN ANILIN- & SODA-FABRIK, Ludwigshafen/Rhein, für die Überlassung von Chemikalien.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Cyclohexadien-(2,5)-on-(4)-carbonsäure-(1)-brenztraubensäure-(1)-diäthylester-diäthylacetal (II): Das Ausgangsmaterial Cyclohexen-(2)-on-(4)-carbonsäure-(1)-brenztraubensäure-(1)-diäthylester-diäthylacetal (I)¹¹⁾ wurde mehrere Male i. Hochvak. destilliert, bis der Siedepunkt konstant bei 155°/0.1 Torr lag. UV-Spektrum: λ_{max} 222 m μ ($\log \epsilon = 4.08$), n_D^{25} 1.4687.

35.6 g (0.10 Mol) I werden in 350 ccm tert.-Butylalkohol mit 5 ccm Eisessig und 11 g (0.10 Mol) Selendioxid 5 Stdn. unter Rühren und Rückfluß zum Sieden erhitzt. Danach werden noch einmal 11 g (0.10 Mol) Selendioxid zugegeben, und es wird weitere 5 Stdn. erhitzt. Man filtriert vom Selen, destilliert das Lösungsmittel ab, löst in 300 ccm Äther, schüttelt 2 mal mit 100 ccm 2-proz. Natronlauge und 3 mal mit 50 ccm Wasser, trocknet die Ätherschicht mit Magnesiumsulfat und schüttelt 6 Stdn. mit 10 g desaktiviertem Raney-Nickel¹¹⁾.

¹⁰⁾ Die Werte wurden mehrfach reproduziert und streuten praktisch nicht.

¹¹⁾ D. A. S. 1096900 (12. Januar 1961).

Es wird filtriert und erneut mit Wasser gewaschen. Die mit Magnesiumsulfat getrocknete Lösung wird mit Aktivkohle geschüttelt, nach Filtrieren eingedampft und das erhaltene Öl i. Hochvak. destilliert. Sdp._{0,1} 150°, n_D^{20} 1.4840. Ausb. 25 g (56%).

$C_{18}H_{26}O_7$ (354.4) Ber. C 61.07 H 7.40 4OC₂H₅ 50.85 Gef. C 61.22 H 7.54 OC₂H₅ 50.57

Umwandlung des Dienons II in p-Hydroxy-phenylbrenztraubensäure: 35.6 mg (0.10 mMol) II werden mit 5.0 ccm Äthanol und 4.0 ccm 1n NaOH (0.40 mMol) 30 Min. auf 50° erhitzt. Nach Zugabe von 5 ccm 1n HCl wird 15 Min. auf 50° erwärmt und nach Abkühlen mit Wasser auf 100 ccm aufgefüllt. 0.5 ccm davon werden mit 1n NaOH auf 10 ccm aufgefüllt, und die Extinktion der 0.5·10⁻⁴m Lösung wird bei 330 mμ gemessen: $\epsilon = 18900$. 18 mg (0.10 mMol) *p-Hydroxy-phenylbrenztraubensäure* werden genauso behandelt: $\epsilon = 19900$ bei 330 mμ. Daraus folgt, daß sich das Dienon II zu 95% umlagern läßt.

Umlagerung des Dienons II in p-Hydroxy-phenylbrenztraubensäure-äthylester-diäthylacetal (V): 1.0 g Dienon wird mit einer Lösung von 100 mg Natrium in 5 ccm Äthanol 3 Stdn. auf 50° erwärmt. Man engt i. Vak. ein, gibt ca. 20 ccm eiskalte 1n NaOH zu und äthert aus. Aus der währ. Phase werden nach Ansäuern und Ausäthern 0.70 g (88%) eines Phenols isoliert, das nach Umkristallisieren aus Hexan/Benzol durch den Schmp. 107° und Vergleich der IR-Spektren als *p-Hydroxy-phenylbrenztraubensäure-äthylester-diäthylacetal* (V) identifiziert wird.

Ein Teil der alkohol. Lösung wird mit Äthanol. Schwefelsäure angesäuert und anschließend das Lösungsmittel abdestilliert. Im Destillat läßt sich *Kohlensäure-diäthylester* gaschromatographisch nachweisen.

Prephensäure-diäthylester-diäthylacetal (VI): Zu einer Lösung von 0.40 g (10 mMol) *Natriumborhydrid* in 40 ccm Äthanol tropft man unter Röhren und Kühlen auf 5° innerhalb von 15 Min. die Lösung von 7.1 g (20 mMol) II in 10 ccm Äthanol. Man läßt 15 Min. bei 20° stehen, schüttet auf 250 g Eis und extrahiert 3 mal mit 100 ccm Äther. Die vereinigten Ätherauszüge werden durch 3 maliges Ausschütteln mit 50 ccm 2n NaOH von phenolischen Reaktionsprodukten befreit. Man schüttelt 2 mal mit etwas Wasser, trocknet und verdampft den Äther, zuletzt i. Vak. Als Rückstand verbleiben 5.3 g (75%) eines farblosen Öls, das im Kühlschrank aufbewahrt wird. n_D^{25} 1.4665.

$C_{18}H_{28}O_7$ (356.4) Ber. C 60.64 H 7.91 4OC₂H₅ 50.57 Gef. C 60.26 H 7.88 OC₂H₅ 50.56

Durch Ansäuern und Ausäthern der währ. alkalischen Lösungen gewinnt man 1.1 g (20%) *p-Hydroxy-phenylbrenztraubensäure-äthylester-diäthylacetal*.

Dinatriumsalz des Prephensäure-diäthylacetals (VII): 3.6 g (10 mMol) VI in 30 ccm Äthanol werden mit 1.6 g (40 mMol) *Natriumhydroxyd* in 20 ccm Wasser 2 Tage bei Raumtemp. verseift. Man dampft i. Vak. im Rotationsverdampfer auf 15 ccm ein und puffert mit 1n HCl auf pH 8 (Verbrauch 2 ccm, 100%). Dann füllt man mit Wasser auf 25 ccm auf und erhält eine 0.4 m Lösung (bez. auf Dienol).

0.1 ccm dieser Lösung werden mit 4 ccm 1n HCl 15 Min. auf 50° erwärmt, und nach Einstellen des pH-Wertes auf 14 mit 1n NaOH wird die Extinktion bei 320 mμ im Verhältnis 1:100 gemessen: $\epsilon = 11000$. Das ergibt einen Gehalt von 73% umlagerungsfähigem Material, die Lösung ist also 0.3 m an *Prephensäure-acetal*.

2,4-Dinitro-phenylhydrazone der Tetrahydroprephensäuren VIII und IX: 6.25 ccm der obigen Lösung werden mit 4.25 g *Bariumacetat* gut durchgerührt. Nach Abzentrifugieren gibt man unter Röhren und Eiskühlung zur klaren Lösung ca. 200 ccm Äthanol und läßt einige Stdn. absitzen. Dann wird abgesaugt und über P₂O₅ getrocknet. Man erhält 1.3 g *Bariumsalz*.

0.5 g dieses Salzes werden in 10 ccm Wasser gelöst (pH 9.5) und mit Palladium auf Bariumsulfat hydriert^{*)}. Es ist möglich, daß durch Spuren Selen die Hydrierung gestört wird. Ist dies der Fall, so saugt man vom Katalysator ab und ersetzt ihn durch frischen. Dies wiederholt man so oft, bis kein Wasserstoff mehr aufgenommen wird. Dann wird abfiltriert, i. Vak. eingedampft, mit 2.4-Dinitro-phenylhydrazin in 2n HCl versetzt und 20 Stdn. stehengelassen. Das ausgefallene Hydrazon wird getrocknet und papierchromatographisch mit den 2.4-Dinitro-phenylhydrazenen der beiden stereoisomeren Tetrahydroprephensäuren⁵⁾ verglichen:

Authent. 2.4-Dinitro-phenylhydrazon der Tetrahydroprephensäure mit *cis*-ständiger Hydroxyl- und Carboxylgruppe: 19.2 cm Laufweg.

Authent. 2.4-Dinitro-phenylhydrazon der *trans*-Verbindung: 17.1 cm Laufweg.

Aus unserem Acetal erhaltenes Gemisch:

1. Fleck 16.9 cm, 2. Fleck 19.4 cm Laufweg

Laufmittel n-Butanol/Äthanol/Wasser (4:1:5), 20°, 60 Stdn. (Durchlaufchromatogramm), Schleicher & Schüll-Papier 2043 b Mgl., das mit 5-proz. Boraxlösung getränkt und an der Luft getrocknet wurde.

Der 2. Fleck ist mindestens doppelt so groß wie der 1. Das Ergebnis ist reproduzierbar.

Kinetische Untersuchung der Hydrolyse: 0.50 ccm der oben dargestellten 0.3 m Prephensäure-acetal-Lösung werden in 20 ccm Pufferlösung von pH 1.8 bei 20° bzw. in 20 ccm 1 n HCl bei 0° hydrolysiert. Zu bestimmten Zeiten werden 0.50 ccm Lösung entnommen und in einen Puffer von pH 7 gebracht. Davon werden 0.50 ccm entnommen, mit 0.50 ccm 2n HCl angesäuert, 15 Min. auf 60° erwärmt, 4.0 ccm 1 n NaOH werden zugegeben und die UV-Extinktion wird gemessen (immer bei 320 m μ): = E_1 . Bei einer anderen Probe läßt man auf 0.50 ccm Acetallösung zuerst 10 mg Natriumborhydrid 15 Min. einwirken, versetzt dann mit 0.50 ccm 2n HCl, erwärmt 15 Min. auf 60°, gibt 4.0 ccm 1 n NaOH zu und mißt wieder die UV-Extinktion: = E_2 . Beim dritten Mal schließlich gibt man zu 0.50 ccm Acetallösung 4 ccm 1 n NaOH, dann 0.5 ccm 2n HCl und bestimmt die Extinktion: = E_3 .

E_1 entspricht $[X]_0$; E_2 entspricht $[X] + [XII]$; E_3 entspricht $[XIII]$.

Isolierung von Bariumprephenat: 10 ccm der 0.3 m Prephensäure-acetal-Lösung (3.0 mMol) werden durch Zugabe von 1 n HCl auf pH 1.8 gebracht. Nach 10 Min. Stehenlassen bei 20° wird mit 1 n NaOH neutralisiert und eine Lösung von 1.0 g Bariumacetat in 5 ccm Wasser zugegeben. Durch Zugabe von 100 ccm Äthanol wird das Bariumsalz gefällt. Es wird abzentrifugiert, in 10 ccm Wasser gelöst, durch Zugabe von 100 ccm Äthanol erneut gefällt und im Exsikkator über Ätzkali getrocknet. Ausb. 0.5 g.

24 mg des getrockneten Salzes werden in 100 ccm Wasser gelöst. Je 0.5 ccm der Lösung werden, wie oben beschrieben, im UV untersucht. Es ergeben sich folgende Extinktionen: $E_1 = 0.57$, $E_2 = 0.01$ und $E_3 = 0.50$. Daraus berechnet sich die der Prephensäure entsprechende Extinktion zu $E_4 = 0.06$. Das Molverhältnis von Prephensäure zu Phenylbrenztraubensäure beträgt also 6 : 50. Der Gehalt an Bariumprephenat des erhaltenen Salzes beträgt 6% (ber. mit der Formel C₁₀H₈O₆Ba · H₂O für das Bariumsalz).

^{*)} Der Versuch gelingt nicht immer, selbst wenn man das bei der Darstellung von II verwendete Selen so gut wie möglich entfernt.