

Die Epimerisation der Zucker im sauren Milieu.

(Über Zuckerendiole.)*

Von

F. Petuely.

Aus dem Medizinisch-chemischen Institut und *Pregl*-Laboratorium
der Universität Graz.

Mit 4 Abbildungen.

(Eingelangt am 27. Jan. 1953. Vorgelegt in der Sitzung am 12. Febr. 1953.)

Es wird gezeigt, daß die Epimerisation der Glukose, der Fruktose und der Zucker überhaupt, nicht nur eine basenkatalysierte, sondern auch eine säurekatalysierte Reaktion darstellt. Unter einem pH-Wert von 2,0 nehmen die Konkurrenzreaktionen überhand.

Es wird der Schluß gezogen, daß das 1,2-Zuckerendiol nicht nur Zwischenprodukt bei der sauren Epimerisation, sondern auch bei der Oxymethylfurfurol-Bildung und bei anderen Umsetzungen der Hexosen ist.

Das unterschiedliche Verhalten der Aldo- und Keto-Hexosen bezüglich der Ausbeute an Epimerisationsprodukten, der Bildung von Oxymethylfurfurol und ihre verschiedene Empfindlichkeit gegenüber Säuren wird zwanglos durch die verschiedene Enolisierungstendenz erklärt.

Die von *Lobry de Bruyn* und *Alberda van Ekenstein* 1895 aufgefunden¹ und später weiter untersuchte² Epimerisation gewisser Monosaccharide (Glukose, Fruktose, Mannose) verläuft unter Einwirkung von Laugen. Man nimmt bekanntlich die intermediäre Bildung eines 1,2-Endiols I an, von dem aus sich entweder eine Aldose oder eine Ketose bilden kann.

In der Natur kennen wir vielfältige Übergänge einzelner Monosaccharide ineinander. Am bekanntesten ist die Bildung von Glukose aus Fruktose

* Teilweise vorgetragen bei der Tagung des Vereines Österr. Chemiker 1951 in Wien [Österr. Chem.-Ztg. **53**, 10 (1952)].

¹ Rec. trav. chim. Pays-Bas **14**, 203 (1895).

² Rec. trav. chim. Pays-Bas **15**, 92 (1896); **16**, 257, 262, 282 (1897); **18**, 147 (1899); **19**, 1 (1900).

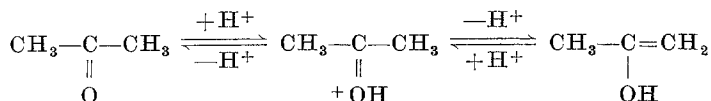
und anderen Hexosen in der Leber. Der Zuckerabbau verläuft ebenfalls über solche Epimerisationen. Aus dem Glukose-6-phosphorsäureester (*Robison-Ester*) entsteht der Fruktose-6-phosphorsäureester (*Neuberg-Ester*) und umgekehrt bzw. das Gemisch der beiden, der *Emlden-Ester*, durch die Wirkung der Phosphorhexo-isomerase.

Ähnlich erfolgt die Umwandlung der Glyzerinaldehydphosphorsäure in Dioxyacetonphosphorsäure bzw. umgekehrt unter der Einwirkung der Isomerase. Beide Enzyme sind bei einem pH unter 7,0 wirksam. Es kann also die in der Zelle unter der Einwirkung von Fermenten stattfindende Umwandlung der epimeren Zucker ineinander nicht eine allein durch Basen katalysierte Reaktion sein.

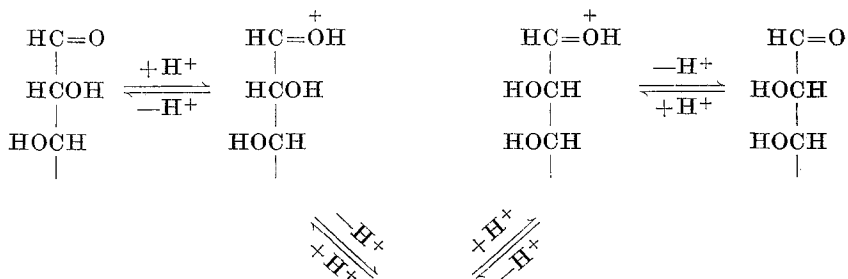
Da der Mechanismus dieser biologischen Epimerisationen nicht bekannt ist, man also nicht weiß, ob er über ein gemeinsames Endiol verläuft, konnte bisher über die Chemie dieser Reaktionen keine nähere Aussage gemacht werden. Sicher war aber, daß es keine basenkatalysierten Reaktionen im speziellen Sinne sein können.

Aus diesem Grund und weil bestimmte Reaktionen der Hexosen von den Ketosen aus wesentlich leichter möglich sind als von den Aldosen aus — wie z. B. die Bildung von Oxymethylfurfurol (OMF) — untersuchten wir die Einwirkung von Säuren auf Hexosen hinsichtlich der Bildung epimerer Zucker.

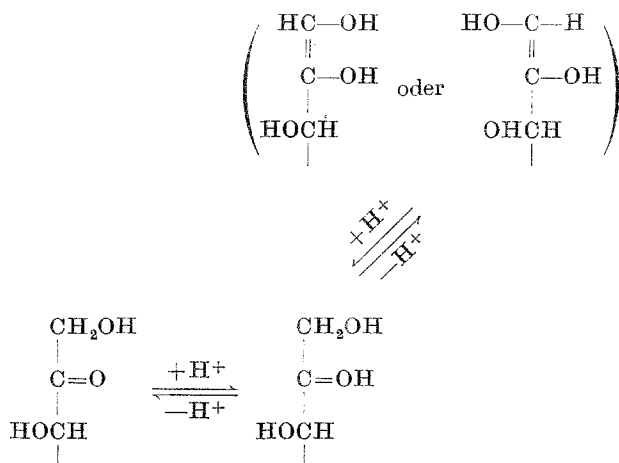
Wir gingen dabei von der theoretischen Erwägung aus, daß Enolisierungen meist nicht nur basenkatalysierte, sondern auch säurekatalysierte Reaktionen sind. Als Beispiel sei hier das Aceton erwähnt³. Die Enolisierung dieser Verbindung läuft unter der Katalyse von H-Ionen folgendermaßen ab:



Eine ähnliche Reaktion könnte man auch bei den Zuckern annehmen:



³ O. Reitz, Z. physik. Chem., Abt. A 179, 119 (1937).



Voraussetzung hierfür ist, daß der Acetalring leicht geöffnet werden kann, was sicher der Fall ist, da die Bildung bzw. Spaltung von Acetalen bekanntlich durch Säuren katalysiert wird. Es waren auch viele Konkurrenzreaktionen zu erwarten, auf die später eingegangen werden soll. Wir mußten daher Versuchsbedingungen schaffen, die einerseits die sehr ungünstige Gleichgewichtslage der sauren Enolisierungen berücksichtigten und anderseits die Konkurrenzreaktionen gegenüber der Epimerisation nicht zu stark förderten. Vorversuche ergaben, daß es am günstigsten ist, bei höheren Temperaturen (etwa 130° C) unter Druck zu arbeiten.

Da russische Autoren^{4, 5}, die in Pufferlösungen bei pH-Werten unter 7,0 Epimerisation beobachtet haben, diese Erscheinung der Basenwirkung der Anionen schwacher Säuren im Sinne *Bronstedts* zuschrieben, stellten wir unsere Beobachtungen besonders bei niedrigeren pH-Werten und bei Gegenwart starker Säuren an. Die Tabelle 1 zeigt eine Auswahl aus unseren Versuchen. Der Einfachheit halber wurden nur die Reaktionen mit Glukose bzw. Fruktose angeführt. Prinzipiell gleiche Ergebnisse erzielten wir auch mit Galaktose und Sorbose.

Die Versuche mit Fruktose zeigen, daß bei einem Ausgangs-pH unter 2,2 keine Glukose mehr nachweisbar ist. Wir bedienten uns zum Nachweis der Papierchromatographie. Bei einem Versuch wurde die Glukose durch präparative Auftrennung des entstandenen Gemisches nach Entfernung der Säuren mittels eines Anionenaustauschers an einer Zellosesäule gewonnen und als Mercaptal identifiziert (siehe exper. Teil). Beim gleichen Versuch gelang es auch, die geringen Mengen ent-

⁴ P. A. Aschmarin und I. S. Belowa, Arch. sci. biol. (USSR) **42**, 53 (1936).

⁵ P. A. Aschmarin und A. D. Braun, Arch. sci. biol. (USSR) **42**, 61 (1936). — A. D. Braun, Biochimica **4**, 276 (1939).

Tabelle 1. Versuche mit Fruktose.

Nr.	Zusatz jeweils 1%	pH vor	pH nach	Glukose-Ausbeute in % bez. auf die Ausgangsmenge, geschätzt		
		dem Erhitzen		1 Std. 130°	1,5 Std. 140°	
1	Weinsäure.....	2,22	2,18	2,5	5,0	
2	Essigsäure.....	2,85	2,60	5,0	7,5	
3	Trichloressigsäure ...	1,17	2,1	—	—	
4	Ameisensäure.....	2,55	2,1	—	—	
5	Oxalsäure.....	1,17	1,0	—	—	6, 7
6	Citronensäure.....	2,21	1,8	0,5	0,5	
7	in 0,1 n HCl.....	1,00	1,1	—	—	6, 7
8	Milchsäure.....	2,76	2,3	—	—	
9	Weinsäure und Calc. lactat.....	2,80	2,75	2,5	7,5	
10	Essigsäure und Calc. lactat.....	3,82	3,65	5,0	10,0	
11	Ameisensäure u. Calc. lactat.....	3,06	3,02	2,5	5,0	
12	Citronensäure u. Calc. lactat.....	2,50	2,48	1,0	2,0	
13	in 0,1 n HCl und Calc. lactat.....	3,69	1,71	1,0	2,0	
14	Aqua dest.....	—	3,45	—	—	
15	Puffer ⁸	2,21	2,21	—	—	1 Std. bei 140°
16	„.....	3,06	2,98	—	—	1 „ „ 140°
17	„.....	4,06	3,59	~ 5	—	1 „ „ 140°
18	„.....	5,05	3,99	10	—	1 „ „ 140°
19	„.....	6,01	3,99	20	—	1 „ „ 140°
20	„.....	6,95	4,19	20	—	1 „ „ 140°

standener Mannose als Hydrazon von der unveränderten Fruktose, die den gleichen R_f -Wert besitzt, abzutrennen. Allerdings genügte das ausgefallene Hydrazon nicht zur Identifizierung. Aus der Stellung im Chromatogramm und aus der Farbe der Flecken, die beim Entwickeln der Papierchromatogramme mit p-Anisidinphosphat⁹ auftreten, darf man aber mit Sicherheit annehmen, daß aus der Fruktose neben größeren Glukosemengen auch geringe Mengen an Mannose entstehen. Daß es sich hierbei um nur sehr geringe Mengen handelt, ist nicht weiter erstaunlich, denn auch bei der Epimerisation im alkalischen Milieu wird

⁶ Nach zweimaligem Erhitzen auch Fruktose nicht mehr nachweisbar.

⁷ Disaccharid.

⁸ Puffer: Citronensäure-Phosphat nach *McIlwaine*.

⁹ *S. Mukherjee* und *H. C. Srivastava*, *Nature* **169**, 330 (1952).

Tabelle 2. Versuche mit Glukose.

Nr.	Zusatz jeweils 1%	pH vor	pH nach	Fructose-Ausbeute in % bez. auf die Ausgangsmenge, geschätzt	
		dem Erhitzen			
21	Weinsäure	2,16	2,0	Fructose überall nachweis- bar, jedoch nur in geringsten Spuren	1 Std. bei 130°
22	Essigsäure	2,82	2,60		1 „ „ 130°
23	Trichloressigsäure	1,17	2,0		1 „ „ 130° ⁷
24	Ameisensäure	2,55	2,1		1 „ „ 130°
25	Oxalsäure	1,17	0,9		1 „ „ 130° ⁷
26	Citronensäure	2,21	1,7		1 „ „ 130° ⁷
27	in 0,1 n HCl	1,00	0,9		1 „ „ 130°
28	Milchsäure	2,76	2,3		1 „ „ 130° ⁷
29	Weinsäure und Calc. lactat	2,80	3,3	2	1 „ „ 130°
30	Essigsäure und Calc. lactat	3,82	4,0	2	1 „ „ 130°
31	Ameisensäure u. Calc. lactat	3,06	3,4	2	1 „ „ 130°
32	in 0,1 n HCl und Calc. lactat	3,69	3,1	0,5	1 „ „ 130°
33	NaH ₂ PO ₄	4,76	3,51	4	1,5 Stdn. bei 140°
34	Puffer ⁸	7,0	4,45	10	1,5 Stdn. <i>R_f</i> 0,13 ¹⁰
35	„	6,0	4,41	10	1,5 „ „ 0,13 ¹⁰
36	„	5,0	4,55	5	1,5 Stdn.
37	„	4,0	3,72	2	1,5 „
38	„	3,0	3,01	—	1,5 „
39	„	2,2	2,25	—	1,5 Stdn. <i>R_f</i> ~ 0,02 ⁷

nur sehr wenig Mannose gebildet. In beiden Fällen könnten sterische Gegebenheiten, wie die bevorzugte Bildung von cis- oder trans-Endiol, eine Rolle spielen¹¹.

Bei einem Epimerisationsversuch mit Glukose wurde die entstandene Fructose isoliert, indem die restliche Glukose mit Jod oxydiert und die Säuren und die Salze, die bei der Neutralisation entstanden waren, mittels Kationen- bzw. Anionenaustauscher entfernt wurden. In der ursprünglichen Lösung wurde die Fructose auch polarographisch nachgewiesen (Abb. 1).

Die in der Tabelle 1 angegebenen Ausbeuten an Glukose stellen grobe Schätzungen dar, die auf Grund von Verdünnungs- und Vergleichsreihen mittels Papierchromatogrammen angestellt wurden. Wir verzichteten auf genaue quantitative Bestimmungen durch Ausschneiden der Flecke usw., da orientierende Versuche ergaben, daß die erhaltenen

¹⁰ Gelber Fleck (Ketose?).

¹¹ Y. I. Topper und D. Stetten, J. Biol. Chem. 189, 191 (1951).

Werte große Schwankungen aufwiesen, weil die Versuchsbedingungen in unserem Autoklaven nicht konstant gehalten werden konnten.

Wie schon erwähnt, konnten wir nur dann Glukose nachweisen, wenn das pH nicht unter 2,2 lag. Bei manchen Säuren war aber auch bei einem höheren pH keine Glukose nachweisbar, da diese Säuren offensichtlich die Konkurrenzreaktionen der Epimerisation besonders begünstigen.

Um auch über das Verhältnis der Oxymethylfurfuroilentstehung zur Epimerisation Aufschluß zu erhalten, verfolgten wir die pH-Abhängigkeit der Entstehung dieser Verbindung aus Fruktose quantitativ. Wie die Abb. 2 zeigt, steigen die Mengen des gebildeten OMF ab pH 3,0 steil an. Bei diesem pH beginnt auch die Ausbeute an Glukose bei der sauren Epimerisation abzufallen, so daß sie bei pH 2,0 kaum mehr nachweisbar ist. Diese Koinzidenz deutet auf bestehende enge Beziehungen zwischen der Ausbeute an epimeren Zuckern und der OMF-Bildung hin. Wir werden später zeigen, daß solche Beziehungen auch offensichtlich existieren.

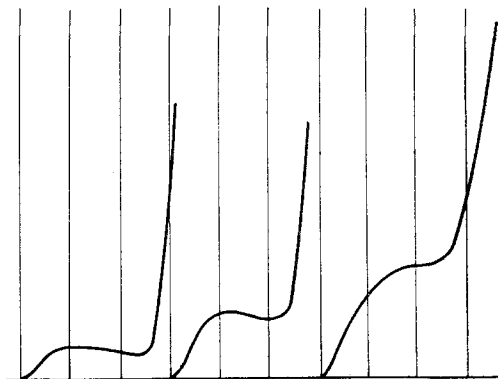


Abb. 1. Polarographische Aufnahme des Reaktionsproduktes aus Glukose, entsprechend Vers. 1 in der Tabelle, aber nach Entsäuern mit Lewatit M.1. Kurve 1: Akku. Spann. 4 V, Empfindlichkeit $\frac{1}{20}$, Elektrolyt 0,01 m, LiCl 10 ml plus 1 ml der Lösung von Vers. 1 vor dem Autoklavieren. Kurve beginnend bei 1,6 V. Kurve 2: Bedingungen wie vorher, jedoch plus 2 ml der Lösung von Vers. 1, vor dem Autoklavieren. Kurve 3: Bedingungen wie bei Kurve 2, jedoch nach dem Autoklavieren. Die Kurve 3 zeigt eine deutliche Erhöhung der Aldosenstufe [S. M. Cantor und Q. P. Peniston, J. Amer. Chem. Soc. **62**, 2113 (1940)] im Reaktionsgemisch, die nur auf eine Ketose (J. Heyrovsky und I. Smoler, Chem. Zbl. **1933 I**, 3474) zurückgeführt werden kann.

Wenn man den Gehalt an unzersetzter Fruktose nach den Reaktionen betrachtet, so sieht man, daß bei den Säuren, die ein Milieu unter pH 2 schufen, auch die Fruktose weitgehend zerstört und manchmal auch gar nicht mehr nachweisbar war. Dies stimmt mit den Beobachtungen von P. A. Haber und B. M. Hendrix¹² und I. A. Mathews und R. F. Jackson¹³ überein, die ebenfalls bei einem unter 2,0 gelegenen pH-Wert eine starke Zersetzung der Fruktose fanden. Diese Autoren geben an, daß im Bereich von pH 3,0 bis 5,0 die geringsten Veränderungen zu beobachten sind. Dies dürfte darauf zurückzuführen sein, daß in diesem

¹² Texas Reports on Biology and Medicine **6**, 108 (1948); Ref. Exc. Med. I/11, 1528 (1948).

¹³ Bur. Stand. J. Res. **11**, 619 (1933).

Bereich die katalytische Wirkung der H-Ionen bereits sehr gering, die Wirkung der OH-Ionen aber noch nicht effektiv ist.

Die in der Tabelle 1 angeführten Versuche mit Glukose ergaben ähnliche Werte wie bei der Fruktose. Wegen der leichteren Nachweisbarkeit der Fruktose war es möglich, auch noch bei einem pH von 1,17 (Trichloressigsäure) oder 1,00 (Salzsäure) geringe Spuren von Fruktose nachzuweisen. Bei der Mehrzahl der Versuche mit Glukose, die bei

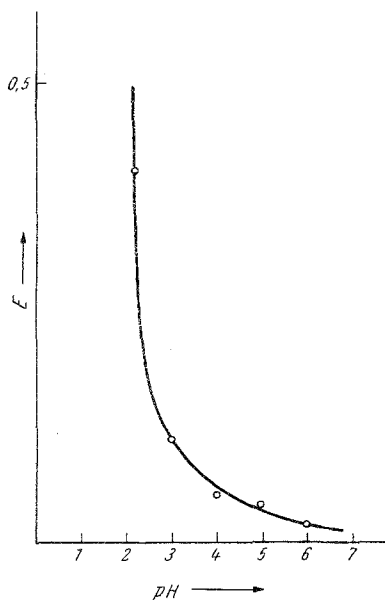


Abb. 2. Abhängigkeit der Oxymethylfurfurolbildung vom pH-Wert nach 2stündigem Erhitzen (Wasserbad). 10%ige Fruktose-lösung in Citronensäure-Phosphatpuffer.

pH-Werten unter 2,5 durchgeführt wurden, konnten wir im Chromatogramm Substanzen nachweisen, die Aldosenreaktion gaben und die ihrem R_f -Wert (0,02 bei Anwendung eines Gemisches von Butanol-Wasser-Ammoniak) entsprechend Oligosaccharide sein dürften. Es war interessant, daß die Bildung dieser Oligosaccharide bei sinkendem pH zunahm, und zwar im gleichen Maße, wie die Epimerisation abnahm. Wir glauben aber, daß es sich hierbei nicht direkt um Konkurrenzreaktionen handelt. Wir werden später noch darauf zurückkommen.

Die Versuche mit Glukose und Fruktose bei Einwirkung von Citronensäure-Phosphatpuffern führten zu bemerkenswerten Ergebnissen. Im Gegensatz zu den Versuchen mit reinen Säuren konnte bei der Fruktose erst bei pH 4,0 ein Epimerisationsprodukt einwandfrei nachgewiesen werden. Bei der Glukose

fanden wir ebenfalls bei pH 4,0 Fruktose. Diese Untersuchungen zeigen, daß die Anwesenheit von Metallionen einen deutlichen Einfluß auf den Verlauf der Epimerisationsreaktion besitzt. Welcher Art dieser Einfluß ist, kann vorerst nicht entschieden werden. Jedenfalls bildet diese Beobachtung ein Argument gegen die Annahme, daß nur Basen im *Brønstedtschen* Sinne die Epimerisation fördern, da gerade in Gegenwart von Alkalisalzen eine solche Wirkung hervortreten müßte.

Zuletzt sei noch erwähnt, daß mit beiden Zuckern und mit 0,1 n, 0,02 n und 0,01 n Schwefelsäure bzw. Salzsäure bzw. Phosphorsäure Versuche angestellt wurden, deren Ergebnisse ähnlich wie bei 0,1 n Salzsäure waren. Die Epimerisationsprodukte konnten nur schwer bzw. kaum nachgewiesen werden.

Nach diesen Versuchen schien es uns gesichert, daß Epimerisation

im sauren Milieu stattfinden kann. Wie schon eingangs erwähnt, lag von vorneherein kein Grund gegen die Annahme vor, daß die Enolisierung der Carbonylzucker nicht auch eine durch H^+ katalysierte Reaktion darstellt. Wir können also die auf S. 299/300 angegebene Beschreibung dieses Vorganges tatsächlich als wahrscheinlich annehmen, zumal wir bei der Behandlung der Fruktose die Bildung der Mannose neben der Glukose wahrscheinlich machen konnten. Das Zuckerenol scheint also ein primäres Umwandlungsprodukt der auch im sauren Milieu epimerisierenden Zucker zu sein.

Da anzunehmen ist, daß die Enolisierung mit steigender H -Ionenkonzentration eine Gleichgewichtsverschiebung zugunsten der Enolform erfährt, muß das Absinken bzw. das Verschwinden des Epimerisationseffektes bei pH 2,0 auf Konkurrenzreaktionen zurückzuführen sein. Hierzu glauben wir die Bildung von OMF und vielleicht auch von Triosen bzw. Spaltstücken der Hexosen zählen zu dürfen. Wie Abb. 2 zeigt, erfolgt der Anstieg der OMF-Ausbeute gleichzeitig mit dem Absinken der Epimerisationsprodukte, wobei das Grenz-pH bei beiden Reaktionen gleich ist. Wir haben ferner die Angaben von *W. N. Haworth* und *W. G. M. Jones*¹⁴ nachgeprüft, die behaupten, daß OMF nur von Fruktose,

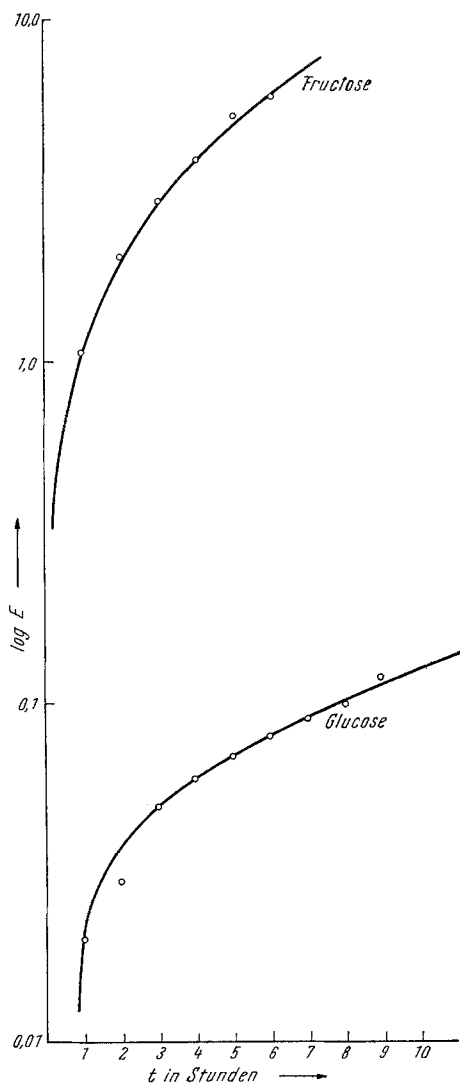


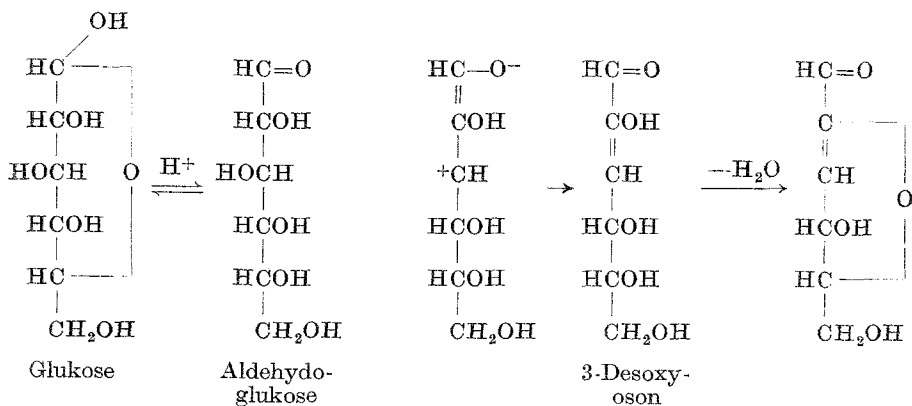
Abb. 3. Abhängigkeit der Oxymethylfurfurolbildung von der Natur des Zuckers in Form einer Zeitkurve. Glukose bzw. Fruktose in $n/10$ HCl auf dem Wasserbad erhitzt. Da der Unterschied zwei Zehnerpotenzen beträgt, wurde für E ein logarithmischer Maßstab verwendet.

¹⁴ J. Chem. Soc. London 1944, 667.

nicht aber von Glukose gebildet werden kann und haben zu diesem Zweck 10%ige Lösungen der beiden Substanzen in $n/10$ Salzsäure erhitzt.

Abb. 3 zeigt die Ergebnisse dieser Reaktion, bezogen auf OMF-Bildung. Man sieht einwandfrei, daß die Fruktose zwar wesentlich mehr und rascher OMF bildet, daß jedoch auch die Glukose nicht zu unterschätzende Mengen dieser Verbindung zu produzieren vermag (zirka 1% der aus Fruktose erhaltenen Menge). Die Angaben von *Haworth* und *Jones* können von uns also nicht bestätigt werden. Betrachtet man die Ausbeute an Epimeren in der Tabelle I, so sieht man, daß auch dort von Fruktose wesentlich mehr umgesetzt wird als von Glukose. Allerdings nehmen hierbei die Konkurrenzreaktionen einen entsprechend breiten Raum ein.

Nach diesen Beobachtungen glauben wir mit Recht die Behauptung aufstellen zu dürfen, daß die Epimerisation im sauren Milieu und die OMF-Bildung über eine primäre Reaktionsstufe verlaufen, nämlich über das Zuckerenol, richtiger Endiol¹⁵. Die bisher bestehenden Anschauungen über die OMF- bzw. Furfuralbildung nehmen nicht das Zuckerendiol als primäres Produkt an, sondern verschiedene andere Dehydratisierungsprodukte^{14, 16, 17, 18, 19}. Die Bildung des OMF aus Fruktose bzw. Glukose wäre dann wie folgt darzustellen:



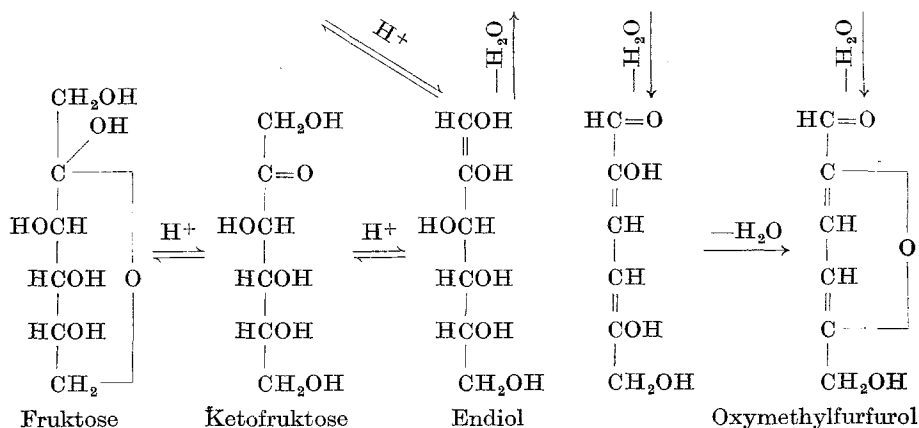
¹⁵ M. L. Wolrom und W. L. Lewis, J. Amer. Chem. Soc. **50**, 837 (1928).

¹⁶ M. L. Wolrom, R. D. Schuetz und L. F. Cavaliere, J. Amer. Chem. Soc. **70**, 514 (1948); siehe dort auch weitere Literatur.

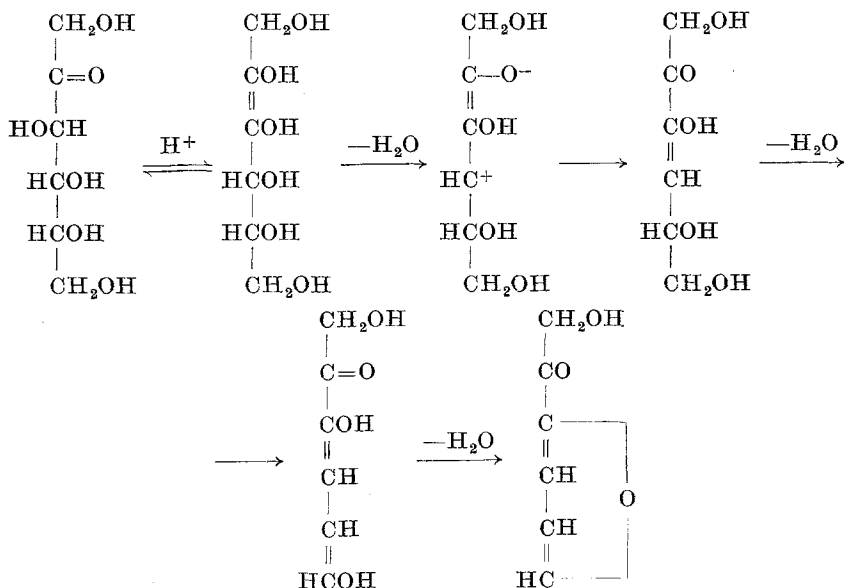
¹⁷ A. v. Wacek, Angew. Chem. **54**, 453 (1941).

¹⁸ C. D. Hurd und L. L. Isenhour, J. Amer. Chem. Soc. **54**, 317 (1932).

¹⁹ M. L. Wolrom, E. G. Wallace und E. A. Metcalf, J. Amer. Chem. Soc. **64**, 265 (1942).



Die in neuester Zeit beobachtete Bildung von Oxyacetyluran neben OMF²⁰ aus Zuckern ist entsprechend über ein 2,3-Endiol zu erklären.

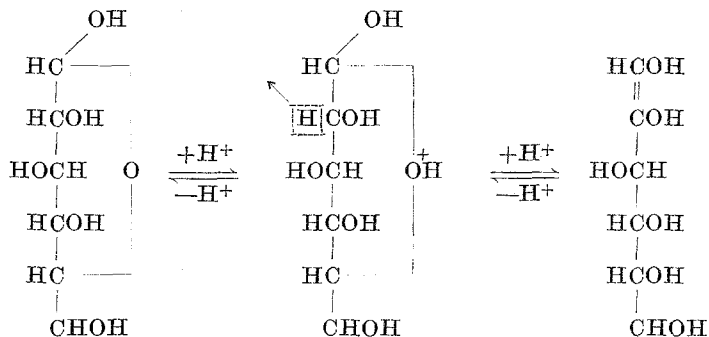


Die Bildung dieser Verbindung aus Glukose, die von den Autoren angegeben wird, ist überhaupt erst nach erfolgter Epimerisation möglich, da aus einer Aldehydgruppe eine primäre Alkoholgruppe werden muß. Diese Beobachtung kann als eine Stütze unserer Theorie angesehen werden.

Man könnte sich auch vorstellen, daß die Endiolisierung ohne die

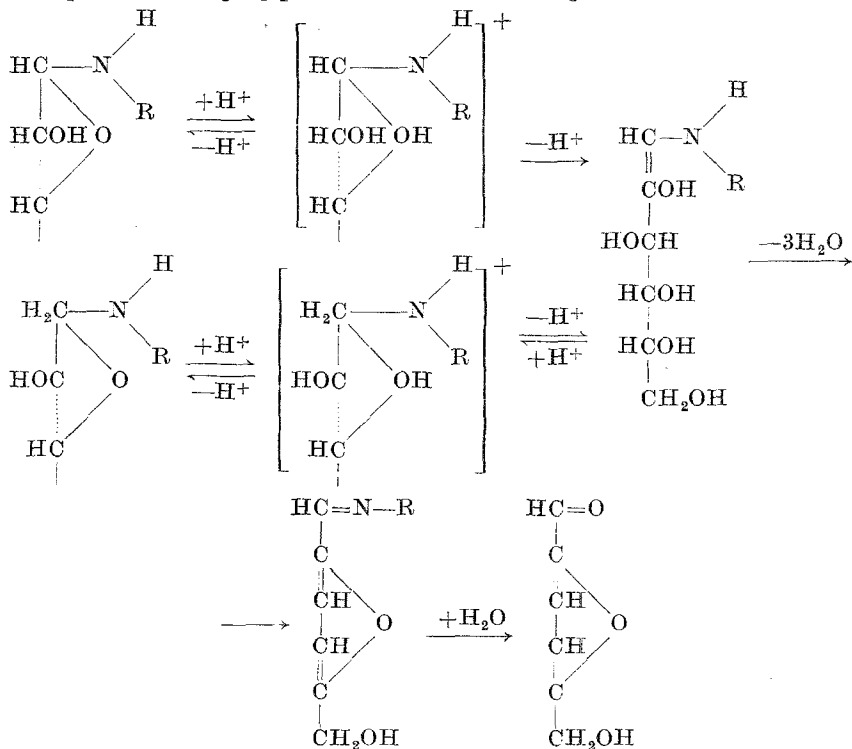
²⁰ R. E. Miler und S. M. Cantor, J. Amer. Chem. Soc. 74, 5236 (1952).

offene Carbonylform als Zwischenprodukt auf folgendem Wege verläuft; allerdings liegen hierfür keine Beweise vor.



Eine Entscheidung über die letztere Vermutung könnten nur nähere Untersuchungen bringen, die allerdings sehr schwierig auszuführen sind²¹.

²¹ Einen ähnlichen Mechanismus nimmt A. Gottschalk [Biochemic. J. 52, 455 (1952)] für die Bildung eines Enols von N-Arylfruktosaminen bzw. N-Arylglukosiden an. Dieser Autor glaubt also auch, die Acetalringöffnung ohne Auftreten einer Carbonylgruppe darstellen zu können und schreibt dem primären Ausgangsprodukt zur OMF-Bildung Enolstruktur zu.



Ein Beweis für die Endiolisierung der Zucker im sauren Milieu liegt schon seit längerer Zeit vor, wurde aber nicht weiter beachtet oder auch nur in den Fachbüchern registriert. *Evans* und Mitarbeiter²² wiesen bereits 1928 nach, daß mit konzentrierten Cu-Acetatlösungen, die sauer reagieren, Glukose und auch Fruktose zu oxydieren sind. Diese Forscher gaben auch schon die Endiolform als die vermutlich reagierende Form an und zeigen als Beweis für die Endiolisierung die Entstehung der Oson auf. Tatsächlich führt die Oxydation des Endiols primär zum Oson. Übrigens wurde diese Methode zur Osondarstellung später für die Ascorbinsäuresynthese bzw. für die Synthese der Ascorbinsäurehomologen bedeutungsvoll und für präparative Zwecke von *Weidenhagen*²³ in einer umfangreichen Arbeit beschrieben. Auch Patentschriften²⁴ existieren, ohne daß aber *Evans* erwähnt würde.

Wir sehen also, daß die Bildung des Zuckerendiols einerseits maßgeblich für die Epimerisation der Zucker im sauren Milieu ist und daß andererseits aus diesem Endiol wahrscheinlich auch das OMF entsteht, das bei der Cu-Oxydation aber nicht gebildet werden kann. Wir können nun verstehen, daß die Fruktose, die gar keine vorgebildete Aldehydgruppe besitzt, leichter und viel rascher OMF bildet als Glukose, die die Aldehydgruppe bereits enthält. Fruktose endiolisiert wesentlich rascher als Glukose, das heißt, daß das Gleichgewicht im Verhältnis zur Glukose auf die Seite des Endiols verschoben ist. Daher ist Fruktose auch empfindlicher gegen Säureeinwirkung als Glukose.

Aus diesen Tatsachen kann man schließen, daß das Endiol das primäre Reaktionsprodukt für die Zersetzung der Zucker im sauren Milieu ist und daß die Tendenz der Endiolisierung maßgebend für die Empfindlichkeit bzw. Reaktionsfähigkeit der Zucker ist. In diesem Zusammenhang ist es erwähnenswert, daß die Oxydation der Aldosen mit Jod oder Brom, die bekanntlich zu der entsprechenden Glykonsäure führt und daher nicht über ein Endiol verlaufen kann, bei den Ketosen keine Parallele hat. Sie erweisen sich gegen Agenzien, die andere als Endiolstrukturen angreifen, als relativ stabil.

Ebenso scheint die Bildung von Furfurol aus Pentosen über das entsprechende Endiol zu führen. Aldopentosen sind mit Cu-Acetat²³ wesentlich leichter oxydierbar als die Aldoheptosen. Bei diesen Verbindungen scheint also die Endiolisierung begünstigter zu sein als bei den Hexosen, und dem würde auch die große Empfindlichkeit der meisten Pentosen entsprechen.

Wir glauben also behaupten zu dürfen, daß die Zuckerendiole bei der Zersetzung der Zucker im sauren Milieu eine Schlüsselstellung ein-

²² J. Amer. Chem. Soc. 50, 2267 (1928).

²³ Z. Wirtschaftsgr. Zuckerind. 87, 711 (1937).

²⁴ I. Stone, U. S. P. 2206374 (1937).

nehmen, die ihnen interessanterweise auch bei der alkalischen Zersetzung zugeschrieben wird. Auch dort kommt es offensichtlich vom Endiol aus zu weiteren Umsetzungen.

Die von uns beobachtete Oligosaccharidbildung, die bei Säureeinwirkung auf Zucker bereits wohlbekannt ist, scheint uns keine Konkurrenzreaktion der Epimerisation zu sein, da für diese Reaktion weder das Zuckerendiol noch die freie Carbonylform des Monosaccharids in Betracht kommt.

Experimenteller Teil.

1. Epimerisation siehe Tabelle 1.

2. Papierchromatographische Untersuchungen der Reaktionsprodukte.

Die bei den Versuchen gemäß Tabelle 1 erhaltenen Lösungen wurden mit Wasser auf das doppelte Volumen gebracht und auf Filterpapier

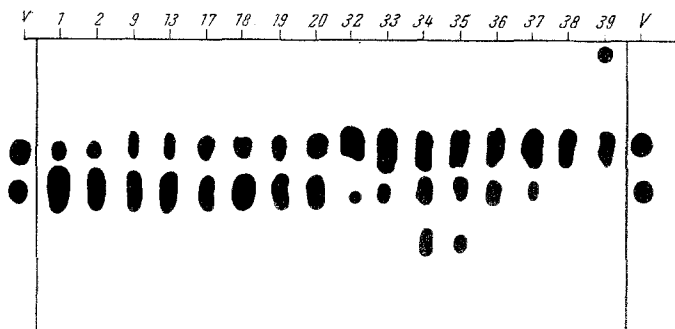


Abb. 4. Papierchromatogramme einiger Ansätze entsprechend der Tabelle. V = je 2%ige Lösung von Glukose und Fruktose. Ausführung siehe exper. Teil 2.

Schleicher & Schüll 2043b absteigend chromatographiert, wobei als Entwicklungsflüssigkeit ein mit 1%iger wäßr. Ammoniaklösung gesättigtes n-Butanol diene. Nach 24 bis 48 Stdn. Laufzeit bei etwa 20° C (Flüssigkeitsfront durchgelaufen) wurde getrocknet und mit Anilinphthalat⁹ (zur Erkennung der Aldosen) bzw. mit p-Anisidinphosphat²⁵ (zur Erkennung der Ketosen) entwickelt. Das von uns verwendete p-Anisidinphosphat-Reagens wurde von uns etwas modifiziert, und zwar wurden 0,5 g p-Anisidin unter Rühren in 2 ml Phosphorsäure ($D = 1,75$) eingetragen und nach Auflösung 50 ml wassergesättigtes Butanol, verdünnt mit Äthanol, 1 : 1 zugesetzt. Vom hierbei entstehenden Niederschlag wurde nach einiger Zeit abfiltriert und die Lösung verwendet. Der Zusatz von Butanol verhindert das Auslaufen der Chromatogramme. Die Entwicklung mit diesem Reagens erfolgte bei 90 bis 95° in etwa 10 Min. Mit diesem Reagens sind die Ergebnisse nach unseren Erfahrungen präziser als mit dem von Mukherjee und Srivatawa angegeben.

3. Erfassung der Ausbeuten.

Die Lösungen wurden mit einer Platinöse, deren Fassungsvermögen 2,7 cmm betrug (Mittel aus 10 Wägungen) auf das Papier aufgebracht.

²⁵ S. M. Partridge, Nature 164, 443 (1949).

Mit Hilfe eines unter genau gleichen Bedingungen hergestellten Vergleichs-chromatogramms, auf welchem eine Verdünnungsreihe von Glukose bzw. Fruktose chromatographiert und entwickelt worden war, wurden jeweils die Mengen der entstandenen Epimerisationsprodukte geschätzt und auf die Ausgangsmenge bezogen. Die Erfassungsgrenze war für Fruktose mit p-Anisidinphosphat bei etwa 0,8 µg und für Glukose mit Anilinphthalat bei etwa 1,5 µg.

4. Untersuchung der Oxymethylfurfurobildung.

a) Aus Glukose und Fruktose (Abb. 2). 10%ige Lösungen von Glukose bzw. reiner krist. Fruktose in 0,1 n Salzsäure wurden unter Rückfluß im Wasserbad erhitzt und einstündig Proben entnommen. Davon wurde nach dem Abkühlen je 1 ml mit 1 ml 2%iger alkohol. Resorcinlösung und 1 ml konz. Salzsäure versetzt und nach 2 Stdn. gegen eine Vergleichsprobe im Pulfrich-Photometer mit Filter 11 kolorimetriert. Für die Vergleichsprobe wurde an Stelle der Resorcinlösung reiner Alkohol verwendet.

Diese Ausführungsform der Fieheschen Reaktion²⁶ besitzt die gleiche Spezifität, das heißt, daß die Zucker selbst nicht reagieren, sondern nur das aus ihnen entstandene OMF.

b) Aus Fruktose in Abhängigkeit vom pH-Wert (Abb. 1). Je 10%ige Lösungen von reiner krist. Fruktose wurden in Citronensäure-Phosphatpuffern am siedenden Wasserbad 2 Stdn. erhitzt und nach dem Abkühlen die relativen Mengen des hierbei gebildeten OMF nach der bei a angegebenen Menge bestimmt.

5. Isolierung der bei der Epimerisation entstandenen Fruktose.

10 g Glukose und 1 g Weinsäure wurden auf 100 ml mit Wasser aufgefüllt und die Lösung im Autoklaven 1,5 Stdn. auf 140° erhitzt. Die Reaktionslösung wurde nach dem Abkühlen auf 1 l verdünnt und 4 l n/10 Jodlösung zugegeben. Darauf wurden unter Rühren 600 ml n/10 NaOH zugetropft und das Gemisch nach 20 Min. mit 1 : 2 verd. Salzsäure schwach sauer gemacht, das ausgeschiedene Jod durch die eben nötige Menge Thiosulfatlösung gebunden und die Lösung mit Hilfe von Ionenaustauschern (Lewatite KSB und M 1) entsalzt. Dabei blieben auch die Huminsubstanzen an den Austauschern zurück, so daß eine nahezu farblose Lösung gewonnen wurde. Im Vak. wurde bis zur Sirupkonsistenz eingeeengt (2 ml) und dieser Sirup weiter untersucht.

a) Dieser Sirup gab auch in sehr großer Verdünnung eine stark positive Seliwanoff-Reaktion.

b) Das Papierchromatogramm des Sirups zeigte neben Fruktose geringfügige Glukosemengen. Ein Mischchromatogramm mit Fruktose zeigte keine Auftrennung. Die Entwicklung der Chromatogramme erfolgte mit p-Anisidinphosphat.

c) Die Lösung zeigte im Mikropolarimeter Linksdrehung.

6. Isolierung der bei der Epimerisation entstandenen Glukose.

10 g Fruktose und 1 g Weinsäure wurden auf 100 ml mit Wasser aufgefüllt und die Lösung im Autoklaven 1,5 Stdn. auf 140° erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde mit Wasser 1 : 1 verdünnt, mit Hilfe eines Ionen-

²⁶ J. Fiehe, Z. Unters. Nahr. Genußm. 19, 353 (1910). — J. Fiehe und W. Kordatzki, ibid. 56, 490 (1928).

austauschers (Lewatite M 1) säurefrei gemacht und dann im Vak. bis zur Sirupkonsistenz eingeengt (10 ml). Von diesem Sirup wurden je 1,5 ml auf drei Zellosepulver säulen (Whatman Zellosepulver ashless) von 16×1000 mm aufgebracht, mit 50 ml trock. n-Butanol nachgewaschen und zuletzt mit wassergesättigtem Butanol ohne Ammoniakzusatz eluiert.

Die Fraktionen (je 20 ml), die mittels eines Fraktionsschneiders gewonnen und papierchromatographisch identifiziert wurden, ergaben eine weitgehende Aufspaltung des Sirups. Die glukosehaltigen Anteile wurden vereinigt und im Vak. bis zur Trockene eingeengt. Es blieb eine farblose kristalline Masse zurück, die in 2 ml Salzsäure ($d = 1,19$) gelöst und unter Eiskühlung mit etwa 0,5 ml Äthylmercaptan unter Schütteln versetzt wurde. Nach einigen Stunden wurde abgesaugt und abgepreßt und der Niederschlag in Wasser umkristallisiert. Nach dem Trocknen Schmp. = 127 bis 128°C unkor., Mischschmp. mit Glukose-diäthylmercaptan keine Depression.

Anmerkung: Seit der Veröffentlichung unserer Arbeit über die Erfassung der Endiol-(α)- α -carbonyl-Gruppierung [diese Zeitschrift **83**, 80 (1952)] wurden wir auf zwei Veröffentlichungen in einer uns nicht zugänglichen Zeitschrift aufmerksam gemacht: *F. Santavý* und *B. Bitter*, Polarographic behaviour of reductic acid, Coll. trav. chim. Tchécoslovaquie **15**, 112 (1950) und *R. Brdička* und *P. Zumann*, Polarographie behaviour of reductone and coumarindiol, ibid. **15**, 766 (1950).