Produktverteilung und Mechanismus der Gesamtreaktion der Formose-Reaktion

Product Analysis and Mechanism of the Formose Reaction

Günther Harsch, Monika Harsch, Hermann Bauer und Wolfgang Voelter*

Abteilung für Physikalische Biochemie des Physiologisch-chemischen Instituts der Universität Tübingen, Hoppe-Seyler-Straße 1, D-7400 Tübingen, FRG

Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. Erich Wünsch, Max-Planck-Institut für Biochemie, D-8033 Martinsried zum 60. Geburtstag gewidmet

Z. Naturforsch. **38b**, 1269–1280 (1983); eingegangen am 26. Mai 1983

Formose Reaction, Autocatalysis, Cannizzaro Reaction, Lobry-de-Bruyn-van-Ekenstein Rearrangement

By means of liquid chromatographic analysis, UV, ^{13}C NMR and GC-MS spectroscopy it is possible to determine quantitatively the most important intermediate and final products of the formose reaction. As stable main products xylose, glucose and dendroketose, as stable side products ribose, lyxose, arabinose, mannose, dendroaldose, fructose and sorbose are identified. Instable intermediates are glycolaldehyde, glycerolaldehyde, dihydroxyacetone, erythrose, threose and pentuloses. Cannizzaro reaction, oligomerization and the primary formose reaction are catalyzed by a calcium hydroxide bismethylene glycolate complex.

Einleitung

„Formose“ [1] ist ein Synonym für die mehr oder weniger komplexen Monosaccharidgemische, die bei der Umsetzung von Formaldehyd in Anwesenheit von geeigneten Katalysatoren [2–9] als Sirup erhalten werden. Es hat seit der Entdeckung [1] der Formose-Reaktion zwar nicht an Versuchen gefehlt, die Produktverteilung und den Mechanismus aufzuklären; die Vielfalt möglicher Produkte und Reaktionswege einerseits und die relativ wenig entwickelte Analytik von Kohlenhydraten andererseits erlaubten bisher jedoch nur unvollständige, überwiegend qualitative Untersuchungen. Die im folgenden skizzierten bisherigen Ergebnisse beziehen sich auf die im Rahmen dieser Arbeit besonders interessierenden Untersuchungen, bei denen Calciumhydroxid als Katalysator verwendet wurde: Hough und Jones [10] konnten säulenchromatographisch Xylose und Arabinose als Hydrazone aus dem Sirup abtrennen. Pfeil und Ruckert [11–12] fanden papierchromatographisch als Hauptprodukte Aldohexosen und Ketohexosen, Mayer und Jaschke [13] fanden Tetrosen, Ribose, Xylose, Ribulose und Fructose. Die in jüngster Zeit versuchte gaschromatographische Auftrennung direkt derivatisierter Formosegemische [2, 14–16] hat sich nur für spezielle Probleme bewährt, da pro Zucker bis zu vier Isomere der Furanose- und Pyranoseformen

[17] und bei niederen Zuckern verschiedene monomere und dimere Formen [18] auftreten. Die Reduktion [16, 19–21] der Formose zu Polyolen vereinfacht zwar die Interpretation der Gaschromatogramme, dafür mußten jedoch Informationsverluste in Kauf genommen werden. Durch gaschromatographische Auftrennung der Acetatderivate fanden Mizuno [2] *et al.* 21,0% Aldohexosen, 21,9% Ketohexosen, 8% Aldopentosen und 9,1% Ketopentosen. Weiss *et al.* [16] fanden durch Auftrennung der Polyol-Tetramethylsilylderivate 10% Tetrosen, 30% Pentosen, 50% Hexosen und 5% höhere Zucker. Diese Ergebnisse machen deutlich, daß quantitative Ausbeuten einzelner Zucker mit den bisherigen Methoden nicht bestimmbar sind und daß sowohl die quantitativen Aussagen über die Anteile der einzelnen Zuckerklassen als auch die qualitativen Aussagen über die Art der Produkte zum Teil erheblich voneinander abweichen. Mit Hilfe eines in unserem Labor entwickelten Zuckeranalysators [22] ist es nun jedoch möglich, die Produktverteilung der Formose-Reaktion auf dem Niveau einzelner Zucker quantitativ zu analysieren und auf diese Weise die Konzentrations-Zeit-Verläufe des Ausgangsstoffes, der Zwischenprodukte und der Endprodukte simultan zu bestimmen.

Alle bisherigen Vorschläge in bezug auf den Mechanismus der Formose-Reaktion basieren auf Einzeluntersuchungen an Modellreaktionen [10, 11–13, 23–27], die durch geeignete Maßnahmen aus dem Gesamtsystem herausgelöst wurden. Aus diesen

* Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. W. Voelter.
0340-5087/83/1000-1269/\$ 01.00/0

Untersuchungen ist bekannt, daß die Gesamtreaktion aus mehreren Gruppen von Reaktionstypen zusammengesetzt ist: In der Primärreaktion werden über einen autokatalytischen Mechanismus zwei Moleküle Formaldehyd zu Glykolaldehyd verknüpft. In Konkurrenz zur Primärreaktion disproportionieren zwei Moleküle Formaldehyd durch Cannizzaro-Reaktion [28] zu Methanol und Ameisensäure. In den Sekundärreaktionen werden aus Glykolaldehyd durch Additions- und Isomerisierungsschritte höhere Zucker aufgebaut. Ein Teil dieser Zucker wird schließlich in den Tertiärreaktionen zu Säuren abgebaut. Die oben erwähnte Methode der Reaktionstrennung hat sich vor allem bei den Sekundärreaktionen und bei der Cannizzaro-Reaktion bewährt und hat zu konkreten Vorschlägen [11–13, 26–28] über die Mechanismen dieser Teilreaktionen geführt. Über den Mechanismus der Primärreaktion wurden aus globalkinetischen Messungen konkrete Vorstellungen entwickelt [29–30]. Über die Tertiärreaktionen ist noch relativ wenig bekannt. Da sie mit der eigentlichen Formose-Reaktion nichts zu tun haben, werden sie zweckmäßigerweise ausgeklammert.

Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit ermittelten detaillierten kinetischen Daten der kompletten Formose-Reaktion ermöglichen erstmalig eine direkte Überprüfung des vernetzten Gesamtmechanismus, der bisher nur indirekt durch mosaikartiges

Zusammenfügen einzelner Modellreaktionen mit einer nicht genau bekannten Irrtumswahrscheinlichkeit erschlossen werden konnte.

Ergebnisse

Zur Verfolgung der detaillierten Reaktionskinetik und zur Ermittlung der Produktverteilung in Abhängigkeit von den Reaktionsbedingungen werden in geeigneten Zeitabständen aus den Reaktionsgemischen Proben entnommen, abgestoppt und flüssigkeitschromatographisch und maßanalytisch untersucht. Aus den Elutionschromatogrammen des Zuckeranalysators lassen sich quantitative Aussagen über die Zusammensetzung des sich bildenden Formosegemisches ableiten. Die Peakzuordnung in den Elutionschromatogrammen (vgl. Abb. 2d, e) und die Umrechnung der Peakflächen in Konzentrationen erfolgt durch Kalibrierungsläufe mit Standard-Zuckergemischen. Die auf diese Weise erhaltenen Konzentrations-Zeit-Diagramme sind in Abb. 1a, 2a, 3a dargestellt. Der zeitliche Verlauf aller unbekannten oder überlagerten Peaks wird in Flächeneinheiten angegeben (Abb. 1b, 2b, 3b). Die globalen Konzentrations-Zeit-Diagramme (Abb. 1c, 2c, 3c) geben Auskunft darüber, wieviel Prozent des eingesetzten Formaldehyds über die Cannizzaro-Reaktion zu Methanol und Ameisensäure umgesetzt werden und wieviel Prozent in die identifizierte Formose eingehen. Der Prozentsatz aller

a) Konzentrations-Zeit-Diagramm der quantitativ auswertbaren Produkte.

Abb. 1. Kinetik der homogenen Formose-Reaktion mit Calciumhydroxid als Katalysator. Reaktionsbedingungen: 1,00 M Formaldehyd, 0,098 M Calciumhydroxid, 50,0 °C. Die Nummern beziehen sich auf die Reihenfolge der Elution.

identifizierten Stoffe errechnet sich aus der Summe der Cannizzaro-Produkte, der identifizierten Formose und des unverbrauchten Formaldehyds. Er liegt für alle Ansätze in der Größenordnung von 70–80%.

Das Ausmaß der Cannizzaro-Reaktion wird acidimetrisch ermittelt. Wie wir bereits an anderer Stelle [30] ausführlich diskutiert haben, liefert diese

Methode nur für die Induktionsperiode exakte Ergebnisse, da nach dem Anspringen der Formose-Reaktion die Titrationswerte durch partielle Zersetzung der Formose zu Säuren verfälscht werden. Durch lineare Extrapolation der Titrationswerte über die Induktionsperiode hinaus bis zum Zeitpunkt des vollständigen Formaldehydumsatzes, läßt sich jedoch auch für die autokatalytische Reak-

tionsphase das Ausmaß der Cannizzaro-Reaktion mit einer Fehlertoleranz von maximal 5% angeben. Danach bleibt das Ausmaß der Cannizzaro-Reaktion konstant, weil kein Formaldehyd mehr zur Verfügung steht (Abb. 1 c, 2 c, 3 c). Die Säurebildung durch Zersetzung der Formose nimmt jedoch weiterhin zu. Da über die Art der sich bildenden Säuren zur Zeit wenig bekannt ist, wird die Untersuchung der Formose-Reaktion jeweils bald nach dem voll-

ständigen Formaldehydumsatz abgebrochen (Abb. 1 a, 2 a, 3 a), d. h. auf eine Analyse der Tertiärreaktionen wird verzichtet.

Die Formaldehydkonzentration wird durch merkurimetrische Titration nach Pfeil [31] ermittelt. Die Konzentration der gelösten Calciumionen, die bei heterogenen Ansätzen infolge der sich bildenden Calciumhydroxid-Bismethylenglykolat-Komplexe und Calciumhydroxid-Monosaccharid-Kom-

a) Konzentrations-Zeit-Diagramm der quantitativ auswertbaren Produkte.

b) Flächen-Zeit-Diagramm der unvollständig getrennten oder nicht identifizierten Produkte.

c) Globales Konzentrations-Zeit-Diagramm der Gesamtreaktion.

d) Elutionschromatogramm des Reaktionsgemisches nach 103 min Reaktionszeit, entsprechend 88% Formaldehydumsatz.

e) Elutionschromatogramm des Reaktionsgemisches nach 265-min. Reaktionszeit, entsprechend 100% Umsatz nach dem Zeitpunkt des vollständigen Formaldehydumsatzes.

Abb. 2. Kinetik der heterogenen Formose-Reaktion mit Calciumhydroxid als Katalysator. Reaktionsbedingungen: 1,00 M Formaldehyd, 1% Calciumhydroxid (Bodenkörper), 50,0 °C. Die Nummern beziehen sich auf die Reihenfolge der Elution (vgl. Abb. 2d, e).

plexe einen charakteristischen zeitlichen Verlauf aufweist [30], wird komplexometrisch [32] bestimmt.

Homogene Katalyse mit Calciumhydroxid (Abb. 1a–c)

Als primäre Reaktionsprodukte lassen sich eindeutig Glycerinaldehyd, Dihydroxiaceton, Erythrose, Threose, Ribose + Lyxose + Ketopentosen,

Arabinose, Xylose, Glucose, Mannose und Dendroketo identifizieren. Peak Nr. 14 wird von uns als Dihydroxiaceton-Folgeprodukt bezeichnet, weil wir diesen Peak auch bei Kalibrierungsläufen mit reinem Dihydroxiaceton finden. Aufgrund des hohen R_f -Wertes nehmen wir an, daß es sich hierbei nicht um monomeres Dihydroxiaceton handelt, sondern um ein unbekanntes Folgeprodukt, dessen Konzentration mit der des Dihydroxiacetons korreliert

a) Konzentrations-Zeit-Diagramm der quantitativ auswertbaren Produkte.

b) Flächen-Zeit-Diagramm der unvollständig getrennten oder nicht identifizierten Produkte.

c) Globales Konzentrations-Zeit-Diagramm der Gesamtreaktion.

Abb. 3. Kinetik der homogenen Formose-Reaktion mit Calciumhydroxid als Katalysator und Glykolaldehyd als Cokatalysator. Reaktionsbedingungen: 0,71 M Formaldehyd, 0,036 M Calciumhydroxid, 0,007 M Glykolaldehyd, 50,0 °C. Die Nummern beziehen sich auf die Reihenfolge der Elution.

werden kann. Peak Nr. 7c ordnen wir vorbehaltlich der verzweigten Dendroaldose zu, da wir diesen Peak auch bei der separaten Umsetzung von Glyceraldehyd als viertes, bisher unbekanntes Produkt neben Fructose, Sorbose und Dendroketose finden [27].

Der Vorgänger der Triosen, Glykolaldehyd, läßt sich nicht nachweisen. Dieser Befund dokumentiert deutlich die große Reaktivität des Glykolaldehyds, der sich teilweise durch Selbstaddition zu Erythrose und Threose, vor allem aber durch Mischaddition mit Formaldehyd zu Glyceraldehyd umsetzt [26]. Glyceraldehyd reichert sich im Vergleich zum Dihydroxiaceton-Folgeprodukt weniger stark an, da es sich leicht zu Dihydroxiaceton isomerisiert [33]. Dihydroxiaceton seinerseits setzt sich überraschend glatt durch Selbstaddition [27] zu Dendroketose um [34–35]. Die Aldotetrosen reagieren mit dem aus der autokatalytischen Primärreaktion ständig nachgelieferten Glykolaldehyd weiter zu Aldoheptosen, vor allem zu Glucose und Mannose. Sowohl Glucose als auch Mannose sind in den Elutionschromatogrammen teilweise von unbekannten Zwischenprodukten überlagert.

Zu den Hauptprodukten sind vor allem auch die Aldopentosen zu zählen, wobei die starke Bevorzugung der Xylose gegenüber Ribose und Lyxose und Arabinose auffällt. Ähnliche Selektivitäten haben wir auch bei separaten Umsetzungen niederer Zucker mit Formaldehyd beobachtet [26] und durch

die Annahme eines sukzessiven Formaldehyd-Additionsmechanismus, der über die Tetrolöse und Pentulosen als instabile Zwischenprodukte abläuft. Wir können diese Zwischenprodukte zur Zeit noch nicht nachweisen, weil keine reinen Vergleichssubstanzen zur Verfügung stehen. Aus Abb. 1b geht jedoch klar hervor, daß mehrere reaktive Zwischenprodukte im Reaktionssystem vorhanden sind. Wir vermuten, daß vor allem die Peaks Nr. 12, 13 und 15 mit den gesuchten Gliedern der sukzessiven Aufbaukette in Zusammenhang gebracht werden können.

Heterogene Katalyse mit Calciumhydroxid (Abb. 2a–e)

Bei heterogener Reaktionsführung werden sehr ähnliche Produktverteilungen und analoge kinetische Kurvenverläufe erhalten, wie bei der homogenen Reaktion. Zusätzlich zu den in homogener Phase nachgewiesenen Produkten wird noch Glykolaldehyd in Spuren gefunden. Konzentrationsmäßige Unterschiede sind vor allem bei den Tetrosen feststellbar. Erythrose und Threose reichern sich gegenüber dem homogenen Ansatz um den Faktor 5 an. Dies erklärt sich aus der Beobachtung, daß in Anwesenheit eines Bodenkörpers die Konzentration des an der Primärreaktion beteiligten aktiven [30] Calciumhydroxids höher ist, als im homogenen Fall, so daß Glykolaldehyd mit erhöhter Bildungsgeschwindigkeit produziert wird. Davon

profitieren vor allem die Aldotetrosen (Dimerisierung von Glykolaldehyd), in geringerem Ausmaß auch der Glycerinaldehyd (Addition von Formaldehyd an Glykolaldehyd) und indirekt schließlich die Dendroaldose (Dimerisierung von Glycerinaldehyd). Charakteristisch ist auch bei heterogener Reaktionsführung wieder die starke Bevorzugung der Xylose gegenüber den übrigen Aldopentosen. Diese Bevorzugung der Xylose wird bei längerer Einwirkung von Alkali sogar noch wesentlich ausgeprägter, weil offensichtlich die Isomerisierungen der alkaliempfindlichen Pentulosen vor allem der alkalistabilen Xylose zugutekommen. Wie drastisch sich die Zusammensetzung des Reaktionsgemisches gerade in dieser Formaldehyd-armen Schlußphase ändert, geht besonders deutlich aus dem direkten Vergleich der Abb. 2d und 2e hervor. Erst in dieser Phase kommt auch die Mischaddition zwischen Glycerinaldehyd und Dihydroxiaceton unter Bildung von Fructose und Sorbose (unvollständig von Xylose getrennt!) erstmalig zum Zug. Der von der separaten Umsetzung der Triosen her bekannte vollständige Ausfall der diastereoisomeren Ketohexosen Tagatose und Psicose [11, 12, 24, 27, 33] wird somit auch bei der Formose-Reaktion beobachtet. Ein Teil der späten Anreicherung von Fructose ist sicherlich auch auf die Isomerisierung von Glucose und Mannose zurückzuführen.

Das Ausmaß der Cannizzaro-Reaktion ist bei heterogener Reaktionsführung höher als bei homogener (Abb. 1c, 2c).

Homogene Katalyse mit Calciumhydroxid in Anwesenheit von Glykolaldehyd als Cokatalysator (Abb. 3a-c)

Ähnlich wie beim heterogenen Ansatz reichern sich die Aldotetrosen um den Faktor 5 gegenüber dem homogenen Ansatz ohne Cokatalysator an. Diese erhöhte Anreicherung ist nur zu einem geringen Teil durch den direkt eingesetzten Glykolaldehyd bedingt. Der größere Effekt ist wiederum auf die erhöhte Bildungsrate des Glykolaldehyds durch Konzentrationserhöhung der an der Primärreaktion beteiligten aktiven Komplexe zurückzuführen. Im Gegensatz zum heterogenen Ansatz wird die Konzentrationserhöhung der aktiven Komplexe nicht durch die Erhöhung der Calciumhydroxidkonzentration, sondern durch die Erhöhung der Ligandenkonzentration erzielt. Die Beschleunigung der Primärreaktion kommt besonders deutlich im völligen

Fehlen einer Induktionsperiode zum Ausdruck. Indirekte Auswirkung dieser Beschleunigung ist auch die erhöhte Anreicherung der Dendroaldose um den Faktor 5. Besonders charakteristisch ist wiederum die deutliche Bevorzugung der Xylose gegenüber den übrigen Aldopentosen und die starke Anreicherung der Dendroketoase.

Infolge der Abkürzung der Induktionsperiode durch den Cokatalysator setzen sich nur 14% des eingesetzten Formaldehyds auf dem Wege der Cannizzaro-Reaktion um.

Diskussion

Produktverteilung

Insgesamt kann festgestellt werden, daß die Anwesenheit von überschüssigem Calciumhydroxid als Bodenkörper oder von Glykolaldehyd als Cokatalysator nur einen verhältnismäßig geringen Einfluß auf die Kurvenverläufe und auf die Produktverteilung hat (Tab. I, Spalten 1-3). Einige quantitative Verschiebungen gegenüber der homogenen Reaktion ohne Cokatalysator lassen sich durch die erhöhte Konzentration an aktiven Komplexen, die eine Beschleunigung der Primärreaktion bewirken, erklären. Bei der heterogenen Katalyse kommt diese Konzentrationserhöhung durch die Nachlieferung von Calciumhydroxid aus dem Bodenkörper zustande, bei der homogenen Katalyse in Anwesenheit eines Cokatalysators durch Erhöhung der Ligandenkonzentration. Die erhöhte Konzentration der aktiven Komplexe führt zu einer erhöhten Bildungsrate für Glykolaldehyd und damit zu einer Erhöhung der Tetrosenausbeute. Durch Formaldehydaddition an Glykolaldehyd profitiert indirekt auch Glycerinaldehyd von dieser Beschleunigung der Primärreaktion. Die unterschiedlichen Ausbeuten an Cannizzaro-Produkten erklären sich aus den unterschiedlichen Längen der Induktionsperioden; je länger die Induktionsperiode, desto länger kommt die Cannizzaro-Reaktion zum Zug. Ansonsten sind die Produktverteilungen in den drei Ansätzen recht ähnlich.

Dagegen hat die Art des anorganischen Katalysators einen beträchtlichen Einfluß auf die Zusammensetzung der Formose. Calciumcarbonat begünstigt sehr stark die Bildung von Ketosen, vor allem Dendroketoase, Fructose und Sorbose (Tab. I, Spalte 4). Sicherlich spielt dabei der günstige pH-Wert eine große Rolle. Die in der Literatur [13, 36] angegebene selektive Bildung von Ribulose kann je-

Tab. I. Zusammensetzung der Formosegemische unter verschiedenen Reaktionsbedingungen, jeweils nach genau 100% Formaldehydumsatz.

Reaktions- bedingungen	1,00 M CH ₂ O 0,098 M Ca(OH) ₂ 48 min bei 50 °C, homogen	1,00 M CH ₂ O Ca(OH) ₂ im Überschuß 115 min bei 50 °C, heterogen	0,71 M CH ₂ O 0,036 M Ca(OH) ₂ 0,007 M Glykolaldehyd 40 min bei 50 °C, homogen	0,55 M CH ₂ O CaCO ₃ im Überschuß 1080 min bei 100 °C, heterogen
Glykolaldehyd	—	Spuren	0,3	0,3
Glycerinaldehyd	2,5	3,3	3,9	1,0
Dihydroxiaceton-				
Folgeprodukt	5,3	5,6	4,8	1,3
Erythrose	0,7	3,4	3,7	0,4
Threose	0,7	3,6	3,7	1,0
Ribose und Lyxose,				
Ketopentosen	3,9	4,4	2,3	2,6
Arabinose	3,0	3,1	2,5	0,3
Xylose	7,3	8,0	5,3	
Glucose	10,0	9,0	10,0	7,5
Mannose	2,0	1,3	2,6	5,3
Dendroketo-	9,9	8,7	13,6	19,0
aldose	0,2	0,4	1,1	1,1
Fructose	—	Spuren	—	10,1
Sorbose	—	—	—	10,2
Cannizzaro-Produkte	20,0	28,0	14,0	10,0
identifiziert	65,5%	78,8%	67,8%	70,1%

doch nicht bestätigt werden. Mit Bleiacetat entstehen bevorzugt niedere Zucker, vor allem Dihydroxiaceton und Tetrosen, mit Aluminiumoxid bildet sich intermediär fast ausschließlich Dendroketo- (dünn-schichtchromatographische Analysen).

Mechanismus

Die im Prinzip ähnlichen Produktverteilungen aller untersuchten Ansätze mit Calciumhydroxid (Tab. I, Spalten 1–3) und die zueinander analogen Konzentrations-Zeit-Verläufe (Abb. 1–3) berechtigen zu einer einheitlichen Diskussion der zugrundeliegenden Reaktionsmechanismen. Die Ergebnisse sind in guter Übereinstimmung mit den Reaktionsschemata, die auf der Basis separat untersuchter Teilreaktionen für die Formose-Sekundärreaktionen vorgeschlagen wurden [11, 12, 26, 27]. Danach muß zwischen der durch überschüssigen Formaldehyd gekennzeichneten Anfangsphase und der Formaldehyd-armen Schlußphase der Sekundärreaktionen mechanistisch differenziert werden. In Abb. 4 sind beide Phasen der Sekundärreaktionen zusammen mit der Primärreaktion und deren autokatalytischer Verstärkung zu einem Gesamtmechanismus der Formose-Reaktion zusammengefaßt. Die Sekundärreaktionen beginnen mit dem Glykolaldehyd.

In der Formaldehyd-reichen Anfangsphase werden – vom Glykolaldehyd ausgehend – über einen sukzessiven Formaldehyd-Additionsmechanismus Aldopentosen mit starker Bevorzugung der Xylose aufgebaut. Dabei wird die Sequenz Glykolaldehyd → Glycerinaldehyd → Dihydroxiaceton → Tetrollose → Pentulosen → Aldopentosen durchlaufen mit den Abzweigungen Tetrollose → Aldotetrosen und 2 Dihydroxiaceton → Dendroketo-. Mit diesen Schritten kann in der Anfangsphase nur noch die Dimerisierung des sehr reaktiven Glykolaldehyds zu Aldotetrosen konkurrieren. Die überraschend glatt verlaufende Dimerisierung von Dihydroxiaceton zu Dendroketo- erklärt sich aus der Tatsache, daß die Carbonylgruppe des Dihydroxiacetons auch in wäßriger Lösung kaum hydratisiert ist [18].

In der Formaldehyd-armen Schlußphase spielen Formaldehyd-Additionsschritte naturgemäß keine große Rolle mehr. Statt dessen kommen Selbst- und Mischadditionen der angereicherten niederen Zucker zum Zug, die vorher infolge der hohen Carbonylaktivität des Formaldehyds und wegen der partiellen Blockierung des Calciumhydroxids durch Komplexbildung mit dem überschüssigen Formaldehyd weitgehend unterdrückt wurden. Glycerin-

aldehyd und Dihydroxyaceton setzen sich miteinander zu Fructose und Sorbose um. Die formale *cis*-Addition, die zu den Diastereoisomeren Tagatose und Psicose führen würde, wird offenbar aus sterischen Gründen nicht beschritten. Dihydroxyaceton dimerisiert weiter zu Dendroketo- und Glycerinaldehyd dimerisiert in geringem Umfang zu Dendroaldose. Die Aldotetrosen addieren weiteren Glykolaldehyd unter Bildung der Aldohexosen mit starker Bevorzugung von Glucose. Aufgrund von Beobachtungen mit separat untersuchten Teilreaktionen [27] schließen wir, daß in dieser

Schlußphase auch die Mischaddition zwischen Glykolaldehyd (Carbonylkomponente) und Dihydroxyaceton (Methylenkomponente) mit anschließender Isomerisierung zu Aldopentosen in größerem Umfang abläuft, während die direkte Bildung von Aldopentosen aus Glycerinaldehyd (Carbonylkomponente) kaum eine Rolle spielt. Alle Beobachtungen sind in guter Übereinstimmung mit der Vorstellung, daß im Rahmen der Sekundärreaktionen ausschließlich Aldolmechanismen und Isomerisierungen vom Typ der Lobry-de-Bruyn-van-Ekenstein-Umlagerung von Bedeutung sind.

Abb. 4. Gesamtmechanismus der Formose-Reaktion in Anwesenheit von Calciumhydroxid als Katalysator. Die in Konkurrenz zur spontanen Primärreaktion mögliche Oligomerisierung und die Cannizzaro-Reaktion sind mit eingezeichnet. Folgende Punkte sind vereinfacht dargestellt oder ganz weggelassen:

- Die Oligomerisierung führt zu einem Oligomergemisch.
- Die Koordinationszahl der Calciumkomplexe ist unbekannt.
- Die Sekundärreaktionen sind ohne stereochemische Details, Metallionenkatalyse, Hydratisierung und Endiolatisierung dargestellt.
- Der Aufbau höherer Zucker (Heptosen, Oktosen) und der Zuckerabbau durch Tertiärreaktionen sind nicht eingezeichnet.

Der als Ausgangsstoff für die Sekundärreaktionen dienende Glykolaldehyd wird ständig über die Primärreaktion und deren autokatalytischen Verstärkungsmechanismus nachgeliefert (Abb. 4). Aufgrund von Vergleichsuntersuchungen [30] über die kokatalytische Aktivität, das Komplexbildungsvermögen und die Enolisierungsgeschwindigkeit der wichtigsten Zwischen- und Endprodukte der Formose-Reaktion sind wir zu dem Ergebnis gekommen, daß Calciumhydroxid-Endiolat-Komplexe die autokatalytisch aktiven Komplexe der Formose-Reaktion darstellen. Die Aktivierung von Methylenglykol am Endiolat-Komplex stellen wir uns im Sinne eines Carbanions vor, das durch Aldoladdition mit freiem Methylenglykol hydratisierten Glykolaldehyd bildet, wodurch der Endiolat-Komplex regeneriert wird. Der freigesetzte Glykolaldehyd bildet entweder mit freiem Calciumhydroxid einen zusätzlichen Endiolat-Komplex (direkte Autokatalyse!) oder wird in das bereits diskutierte Schema der Sekundärreaktionen zum Aufbau höherer Zucker eingeschleust. Die Zwischen- und Endprodukte der Sekundärreaktionen sind ihrerseits nach Maßgabe ihres Enolisierungsvermögens in der Lage, die Rolle des Glykolaldehyds als Endiolatliganden zu übernehmen und so die Konzentration an katalytisch aktiven Komplexen ständig zu erhöhen (indirekte Autokatalyse!).

Die spontane Primärreaktion ist ein ziemlich seltener Prozeß, der die Induktionsperiode der Formose-Reaktion bedingt. Die Umsetzung der Calciumhydroxid-Bismethylenglykolat-Komplexe auf dem Wege der Cannizzaro-Reaktion oder – vor allem bei hohen Formaldehydkonzentrationen – auf dem Wege der Oligomerisation ist offensichtlich zunächst viel wahrscheinlicher, denn der größte Teil der Cannizzaro-Produkte wird bereits in der Induktionsperiode gebildet (Abb. 1c, 2c). Haben sich aber erst einmal einige wenige Endiolat-Komplexe spontan gebildet, oder wurden dem System von vornherein Endiolatbildner (wie z. B. Glykolaldehyd) zugefügt, dann gerät der Prozeß sehr schnell unter die Kontrolle der autokatalytischen, sich selbst verstärkenden Maschinerie und der vorhandene Formaldehyd wird in kurzer Zeit über den Autokatalysezyklus der Primärreaktion und die Formaldehyd-Additionsschritte der Sekundärreaktionen umgesetzt. Die Cannizzaro-Reaktion spielt in dieser Phase prozentual nur noch eine unterge-

ordnete Rolle und die spontane Primärreaktion kann völlig vernachlässigt werden.

Experimentelles

Die homogenen Formose-Ansätze werden durch Auflösen der jeweils gewünschten Menge Calciumhydroxid in einer geeignet konzentrierten wäßrigen Formalinlösung bei Zimmertemperatur hergestellt. Ungelöstes Calciumhydroxid wird mit einer Glasfritte (Porenweite 9–16 μ) im Wasserstrahlvakuum abgetrennt. Das klare Filtrat wird bei 50,0 °C thermostatisiert. Im Falle des kokatalysierten Ansatzes wird noch Glykolaldehyd als Festsubstanz im Molverhältnis 1:100 relativ zur Formaldehydkonzentration zugegeben. Im Falle des heterogenen Ansatzes wird noch 1% überschüssiges Calciumhydroxid als Festsubstanz eingetragen.

Für die Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie werden in bestimmten Zeitintervallen Proben entnommen und mit 2 N Schwefelsäure abgestoppt. Dabei setzen sich geringe Mengen Calciumsulfat ab. Die überstehende klare Lösung wird direkt in den Zuckeranalysator eingespritzt.

Zur Ermittlung der Formaldehydkonzentration werden in bestimmten Zeitintervallen Proben entnommen und mit 0,10 N Salpetersäure abgestoppt. Das Ausmaß der Cannizzaro-Reaktion wird in der Induktionsperiode durch Rücktitration der überschüssigen Säure mit 0,05 N Natronlauge gegen Bromthymolblau unter Berücksichtigung des Calciumhydroxid-Äquivalents ermittelt. Durch lineare Extrapolation der Titrationswerte kann das Ausmaß der Cannizzaro-Reaktion auch in der autokatalytischen Reaktionsphase mit einer Fehlertoleranz von maximal 5% näherungsweise erfaßt werden. Dann wird in derselben Probe durch merkurimetrische Titration nach Pfeil [31] gegen Diphenylcarbazol die Formaldehydkonzentration bestimmt.

Die Konzentration des gelösten Calciumhydroxids wird in separaten Proben komplexometrisch [32] gegen Eriochromschwarz T ermittelt. Bei heterogenen Ansätzen werden die Proben mit einer Glasfritte (9–16 μ) vom Ungelösten befreit.

Für die quantitative Analyse der Formosegemische wird ein Flüssigkeitschromatograph [22] auf Ionenaustauschbasis (ZA 5100) der Fa. Biotronik, Frankfurt, verwendet. Als Trennharz dient ein stark basischer, zu 4% quervernetzter Ionenaustauscher auf Polystyrol-Divinylbenzol-Basis in der Boratform. Eluiert wird mit Boratpuffern. Das Eluat wird mit Orcin/Schwefelsäure in einem Reaktionsbad bei 100 °C angefärbt und in einem Filterphotometer bei 420 nm kontinuierlich vermessen. Die Zuordnung und Auswertung der Peaks erfolgt über Kalibrierungsläufe mit Standard-Zuckergemischen. Für Erythrose und Threose sowie für die ungetrennt eluierten Zucker Ribose + Lyxose + Ketopentosen wird jeweils ein gemeinsamer Extinktionskoeffizient verwendet. Die Extinktionskoeffizienten von Den-

droketose, Dendroaldose und des Dihydroxiaceton-Folgeprodukts werden über die Massenbilanz der separat untersuchten Umsetzungen des Glycerinaldehyds und des Dihydroxiacetons ermittelt. Unbekannte oder überlagerte Peaks werden in Flächeneinheiten ausgewertet.

Die quantitativen Analysen werden durch qualitative Dünnschichtchromatogramme ergänzt. Gute Auftrennungen niederer Zucker werden an Kieselgel (60 F 254, Merck) mit *n*-Butanol/Eisessig/Diethylether/Wasser (45:30:15:5) als Fließmittel erzielt [37]. Angefärbt wird mit Diphenylamin/Anilin [38].

-
- [1] A. Butlerow, Liebigs Ann. **120**, 295 (1861).
 - [2] T. Mizuno und A. H. Weiss, Adv. Carbohydr. Chem. Biochem. **29**, 173 (1974).
 - [3] G. Guillot, J. Sadet und P. Rumpf, Bull. Soc. Chim. Fr. **6**, 2393 (1972).
 - [4] K. Runge und R. Mayer, Liebigs Ann. Chem. **707**, 161 (1967).
 - [5] N. W. Gabel und C. Ponnamperna, Nature **216**, 453 (1967).
 - [6] S. Malinowski und J. Kehl, C. A. **55**, 374h (1961) und C. A. **59**, 3347f (1963).
 - [7] J. Binko und J. Kohlar, C. A. **54**, 15251 (1960).
 - [8] H. Schmalfuß und M. Congehl, Biochem. Z. **185**, 70 (1927).
 - [9] O. Loew, Chem. Ber. **22**, 470 (1889).
 - [10] L. Hough und J. K. N. Jones, J. Chem. Soc. **1951**, 1122.
 - [11] E. Pfeil und H. Ruckert, Liebigs Ann. **641**, 121 (1961).
 - [12] H. Ruckert, E. Pfeil und G. Scharf, Chem. Ber. **98**, 2558 (1965).
 - [13] R. Mayer und L. Jäschke, Liebigs Ann. **635**, 145 (1960).
 - [14] R. D. Partridge, A. H. Weiss und D. Todd, Carbohydr. Res. **24**, 29 (1972).
 - [15] R. D. Partridge, A. H. Weiss und D. Todd, Abstr. Papers Am. Chem. Soc. Meeting **163**, Carb-2 (1972).
 - [16] A. H. Weiss, R. B. Lapierre und J. Shapira, J. Catal. **16**, 332 (1970).
 - [17] W. A. König, H. Bauer, W. Voelter und E. Bayer, Chem. Ber. **106**, 1905 (1973).
 - [18] G. Harsch, M. Harsch, H. Bauer und W. Voelter, J. Chem. Soc. Pak. **1**, 95 (1979).
 - [19] A. H. Weiss, H. Tambawala und R. D. Partridge, Dechema Monograph. **68**, 239 (1971).
 - [20] H. Tambawala und A. H. Weiss, J. Catal. **26**, 388 (1972).
 - [21] T. J. Kohmenko, O. A. Golovina, M. M. Sakharov, O. V. Krylov, R. D. Partridge und A. H. Weiss, J. Catal. **45**, 356 (1976).
 - [22] H. Bauer und W. Voelter, Chromatographia **9**, 433 (1976).
 - [23] L. Hough und J. K. N. Jones, J. Chem. Soc. **1951**, 3191.
 - [24] H. O. L. Fischer und E. Baer, Helv. Chim. Act. **19**, 519 (1936).
 - [25] W. G. Berl und Ch. E. Feazel, J. Am. Chem. Soc. **73**, 2054 (1951).
 - [26] G. Harsch, W. Voelter und H. Bauer, Z. Naturforsch. **32**, 826 (1977).
 - [27] G. Harsch, H. Bauer und W. Voelter, Liebigs Ann., im Druck.
 - [28] E. Pfeil, Chem. Ber. **84**, 229 (1951).
 - [29] E. Pfeil und G. Schroth, Chem. Ber. **85**, 243 (1952).
 - [30] G. Harsch, M. Harsch und W. Voelter, Z. Naturforsch., im Druck.
 - [31] E. Pfeil und G. Schroth, Z. Anal. Chem. **134**, 333 (1952).
 - [32] Broschüre der Fa. E. Merck, Darmstadt, Komplexometrische Bestimmungsmethoden mit Titriplex.
 - [33] E. Schmitz, Chem. Ber. **46**, 2327 (1913).
 - [34] L. M. Utkin, Dokl. Akad. Nauk SSSR **67**, 301 (1949); siehe auch C. A. **44**, 3910 (1950).
 - [35] L. M. Utkin, Chem. USSR **25**, 499 (1955); siehe auch C. A. **50**, 3228 (1956).
 - [36] H. Euler und A. Euler, Chem. Ber. **39**, 45 (1906).
 - [37] E. Baucher, H. Scherz und K. Kaindl, Mikrochim. Acta **6**, 1043 (1964).
 - [38] J. L. Buchan und R. J. Savage, Analyst (London) **77**, 401 (1952).