

Über die Umkehrbarkeit der Reaktion zwischen Oxoverbindungen und Formaldehyd. Auf- und Abbau der β -Oxoalkohole. Trans-Oxymethylierungs- und Krypto- Formaldehyd-Reaktionen

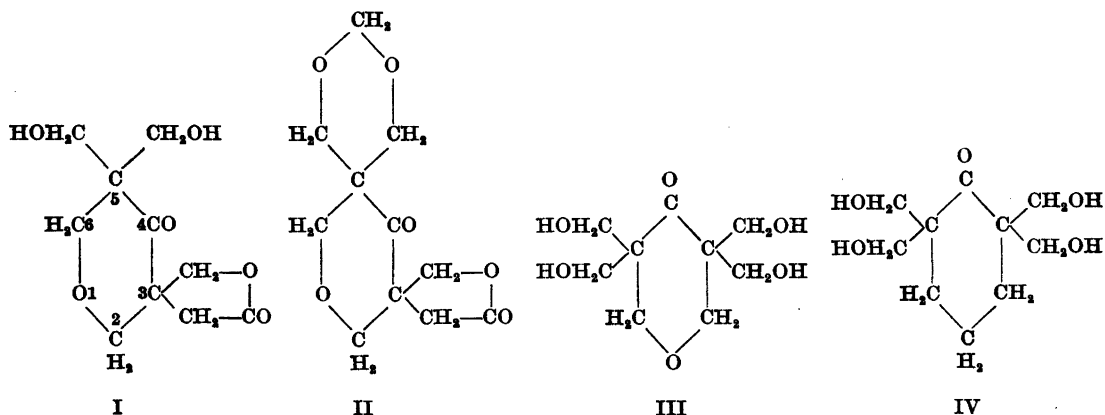
SIGURD OLSEN

Universitetets Kjemiske Institutt, Blindern-Oslo, Norwegen

It is shown that β -oxoalcohol systems in acid, alkaline and neutral solution are able not only to split off hydroxymethyl groups in the form of formaldehyde, but moreover to transfer them to other suitable compounds. If the hydroxymethyl group is transferred unchanged from the donor to the acceptor system, this type of reaction is called "trans-hydroxymethylation" in analogy to other phenomena of biological group transfers, such as trans-amination, trans-phosphorylation etc. — In contrast to the amino or phosphate groups, the hydroxymethyl group will after having been transferred to the acceptor system often suffer a change by secondary processes, and therefore, appear in the acceptor system in a modified form, e. g. as a methyl, methylene, aldehyde or carboxyl group. The totality of the appearances caused by the action of formaldehyde, released from a real carbon-carbon bond or other bonds, and such reacting in a hidden manner, is collected under the designation of "crypto-formaldehyde-reactions", the consequences of which for chemical and biochemical investigations are discussed on an experimental basis.

Wie aus dem historischen Versuch Butlerows¹ und späteren Arbeiten anderer namhafter Forscher bekannt ist, vermag sich Formaldehyd in schwach alkalischem Medium über die Zwischenstufe des Glykolaldehyds² mit sich selbst zu Zuckern zu kondensieren. Tollens³ beobachtete, dass unter gleichen Milieu-Bedingungen auch andere Aldehyde und Ketone sich mit überschüssigem Formaldehyd unter intermediärer Bildung von β -Oxoalkoholen zu mehrwertigen Alkoholen kondensieren lassen. Aus früher dargelegten Gründen⁴ kommt jedoch der alkalische Methylolaufbau zur Darstellung mehrwertiger β -Oxoalkohole praktisch nicht in Betracht. Erst die Erkenntnis, dass sich Carbonylverbindungen ganz allgemein in Eisessig-Schwefelsäure erschöpfend oxymethylieren lassen, und dass bei dieser Reaktion — auch bei Anwendung

eines grossen Überschusses von Formaldehyd — bei *Ketonen* die Carbonylgruppe nicht reduziert wird ⁴⁻⁷, ermöglichte die mühelose Darstellung und ein näheres Studium dieser interessanten Verbindungsklasse. — Versetzt man eine wässrige Lösung des durch erschöpfende Oxymethylierung nach dem neuen Verfahren dargestellten *3,5,5-Trimethylol-dihydro-desoxy-patulinsäurelactons*(I) bei Zimmertemperatur mit einer kalt gesättigten *Barytlösung*, erhält man in einer nach wenigen Minuten entnommenen, mit Salzsäure angesäuerten Probe mit salzsaurem *2,4-Dinitrophenylhydrazin* einen kräftigen gelben Niederschlag, mit *fuchsinschwefliger Säure* eine stark positive Reaktion auf *Formaldehyd*. Bei sofortiger Destillation der Mischung lassen sich im Destillat reichliche Mengen Formaldehyd nachweisen. Überlässt man dagegen die Mischung sich selbst, erhält man mit den genannten beiden Reagenzien am nächsten Tage eine schwächere, nach mehrtägigem Stehen überhaupt keine Reaktion. — Tilitschenko ⁸ konnte für die alkalische Kondensation des *Methyl-äthyl-ketons* mit Formaldehyd zeigen, dass die Cannizzaro-Reaktion durch das bei der Reaktion entstehende *3,3-Bis-oxymethyl-butanon-(2)* beschleunigt wird, und er hat diese beschleunigende Wirkung auf "naszierenden" Formaldehyd zurückgeführt, der bei der rückläufigen Spaltung des *3,3-Bis-oxymethyl-butanon-(2)* entsteht. Auf die Umkehrbarkeit der Reaktion zwischen *Ketoparaconsäure-ester* und Formaldehyd haben in neuerer Zeit Gault und Fischhof ⁹ hingewiesen. Die Abspaltung von Formaldehyd aus triterpenoiden Naturstoffen mit einer β -Ketonalkohol-Gruppierung in alkalischem und saurem Milieu haben Barton und de Mayo ¹⁰ beobachtet. — Aus unserem Versuch folgt nicht allein die prinzipielle Umkehrbarkeit der alkalischen Oxymethylierungs-Reaktion, sondern er gibt darüber hinaus einen gewissen Aufschluss über das Schicksal der bei der Spaltung primär entstehenden Fragmente, nämlich des *Formaldehyds* und des nach dessen Abspaltung hinterbleibenden "*Carbonylrumpfes*". Da man — wie beim Methylolabbau — auch beim alkalischen *Methylolabbau* mit einer Cannizzaro-Reaktion rechnen muss, haben wir bezüglich unseres Versuches aus dem Verschwinden der Formaldehyd- und der Ketocarbonyl-Reaktion geschlossen, dass das Carbonyl-Fragment durch eine gekreuzte Cannizzaro-Reaktion mit dem Formaldehyd zum *Alkohol* reduziert wird, und dass der dann noch verbleibende überschüssige Formaldehyd sich zum grössten Teil

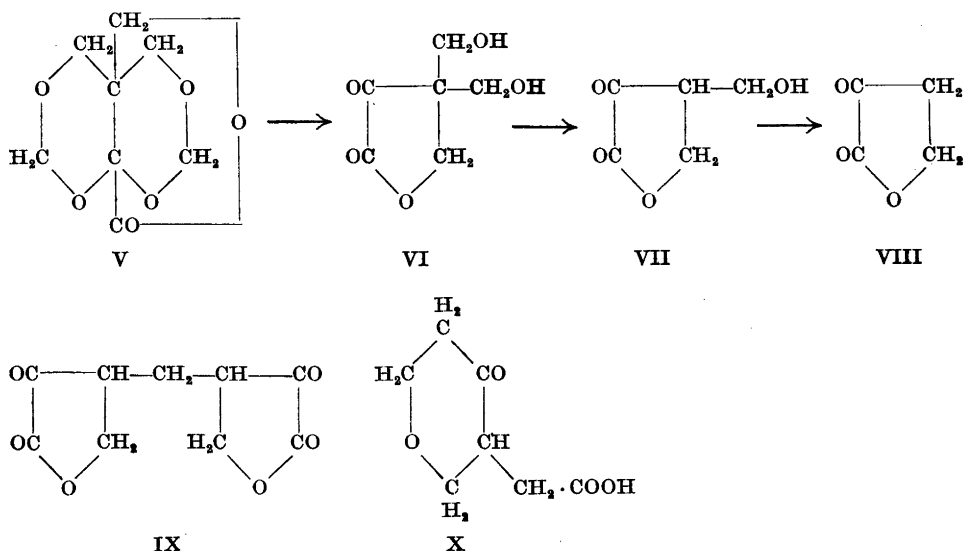


ohne weiteres disproportioniert. Hierbei muss man bedenken, dass der stufenweise Methylol**aufbau** wie der Methylol**abbau** durch die gekoppelte Cannizzaro-Reaktion nur bedingt reversible Vorgänge darstellen, da Auf- und Abbau in dem Augenblick beendet sind, wo die Oxoverbindung zum Alkohol reduziert wird und dadurch aus dem Gleichgewicht ausscheidet.

Wir haben uns bemüht, die aus unserem alkalischen Abbau-Versuch hervorgehenden logischen Konsequenzen experimentell zu erfassen, indem wir zunächst andere Verbindungen mit einer β -Ketonalkohol-Gruppierung mit Barytlösung prüften. Dabei zeigten die *Anhydro-ennea-heptose* (III)⁴ und das *2,2,6,6-Tetramethylol-cyclohexanon* (IV)^{5,11} ein völlig gleichartiges Verhalten. Sie stimmen mit dem *3,5,5-Trimethylol-dihydro-desoxy-patulinsäure-lacton* (I) auch in der Eigenschaft überein, *Fehlingsche* und *Tollenssche Lösung* zu reduzieren. Der nächste Schritt zur Aufklärung des alkalischen Abbaues besteht in Versuchen, die aus der Spaltung der Per-oxymethylierungsprodukte (I, III und IV) hervorgehenden Fragmente zu identifizieren. Da wir die von uns bisher dargestellten β -Ketonalkohol-Derivate dem Methylol**aufbau** in saurem Milieu verdanken, wobei wir auf die Bedeutung der Essigsäure bereits hingewiesen haben⁴, hat es für uns besonders nahe gelegen, den sauren Methylol**abbau** zu untersuchen. Im folgenden werden unsere Ergebnisse beim sauren, alkalischen und neutralen Methylol**abbau** behandelt.

I. DER SAURE METHYLOLABBAU

Das α -Oxo- β , β -dimethylol-butylolacton (VI), das *3,5,5-Trimethylol-dihydro-desoxy-patulinsäure-lacton* (I), die *Anhydro-ennea-heptose* (III) und das *2,2,6,6-Tetramethylolcyclohexanon* (IV) verhalten sich gegenüber Mineralsäuren grundsätzlich gleichartig, jedoch scheinen graduelle Unterschiede vorzuliegen. Beim Abbau des *Bismethylenäthers* des α , α -Dioxy- β , β -dimethylol-butylolactons (V)



durch Salzsäure erhielten wir das *Dilacton*(IX)⁶, das nur über die Zwischenstufen VI→VII→VIII durch intermolekulare Kondensation der Fragmente VII und VIII entstanden sein kann. Diese Empfindlichkeit gegen heisse Salzsäure besitzt z. B. das *3,5,5-Trimethylol-dihydro-desoxy-patulinsäure-lacton*(I) nicht. Andererseits spalteten die bisher untersuchten Verbindungen (I, III, IV und V) bei der Destillation mit starker Schwefelsäure bzw. Essigsäure-Schwefelsäure-Mischungen bereitwillig Formaldehyd ab, so dass wir erwogen haben, ob sich wertvolle *Zwischenstufen*, die durch *Methylolabbau* nicht oder nur schwer zugänglich sind, sicherer durch *Methylolabbau* erhalten liessen, nachdem ja die Carbonylfunktion — im Gegensatz zum alkalischen Abbau — in saurem Medium unberührt bleiben sollte.

Wir haben mit dem Lacton I eine ganze Reihe von Abbaustudien durchgeführt und dabei Abbauprodukte von Ketoncharakter erhalten, deren Reinigung und sichere Identifizierung wir zurückstellen mussten, um vorerst nach den Fragmenten des alkalischen Abbaues, der unter milderer Bedingungen verläuft, zu suchen. Beim β -*Acetyl-äthylalkohol* scheint dagegen die Abspaltung von Formaldehyd bevorzugt in saurer bzw. neutraler Lösung zu erfolgen. — Hier kam es uns nur darauf an, zu zeigen, dass die Abspaltung von Methylolgruppen durch Säuren in allen geprüften Fällen möglich war.

II. DER ALKALISCHE METHYLOLABBAU

Durch alkalischen Methylolabbau des *3,5,5-Trimethylol-dihydro-desoxy-patulinsäure-lactons*(I), wobei der Lactonring geöffnet und die daran beteiligte Methylolgruppe zur Abspaltung freigelegt wird, hofften wir zu der uns bekannten¹² *Dihydro-desoxy-patulinsäure* (X) zu gelangen. Um jedoch gleichzeitig Aufschluss über die Möglichkeit eines partiellen Abbaues zu erhalten, haben wir zunächst die kurzdauernde Einwirkung einer Barytlösung in der Kälte untersucht, indem wir den Abbau schon nach wenigen Minuten durch Ansäuern abstoppten und die Spaltstücke von Aldehyd- bzw. Ketoncharakter mit *2,4-Dinitro-phenylhydrazin* abfingen. Wie erwartet, erhielten wir zunächst das *2,4-Dinitro-phenylhydrazon des Formaldehyds*, dann aber aus dem Filtrat eine Verbindung $C_{15}H_{16}O_8N_4$ vom Schmp. 263°, die das *2,4-Dinitro-phenylhydrazon einer Säure* $C_9H_{12}O_5$ von bisher nicht gesicherter Konstitution ist, die sich von dem *Ausgangslacton*(I) $C_{14}H_{14}O_6$ durch Minderbesitz eines Moleküles Formaldehyd unterscheidet, das zweifellos bei der Reaktion daraus abgespalten worden ist! Bei einwöchiger Einwirkung einer Barytlösung auf das *Lacton* (I) bei Zimmertemperatur erhielten wir auch nicht die *Dihydro-desoxy-patulinsäure* (X), sondern nach Umsetzung des Reaktionsgemisches mit Benzoylchlorid nach Schotten-Baumann eine carbonylfreie Verbindung vom Schmp. 187°, deren Summenformel $C_{28}H_{26}O_8$ auf das *Tribenzoat* einer von uns noch nicht in freier Form isolierten *Säure* $C_7H_{14}O_5$ stimmt, das aus dem *Lacton* (I) durch Abspaltung von drei Molekülen Formaldehyd unter gleichzeitiger Reduktion der Carbonylgruppe und vermutlich anschliessender Ringöffnung und Veresterung durch Benzoylchlorid hervorgegangen ist*. Um die aus diesem Versuch ersichtliche Reduktion durch Formaldehyd zu vermeiden, haben wir

* Über experimentelle Einzelheiten dieser und anderer Abspaltungs-Reaktionen, die noch bearbeitet werden, wird gesondert berichtet.

versucht, diesen bei der Entstehung gleich aus dem Reaktionsgemisch zu eliminieren. Bei kurzdauernder Einwirkung von überschüssigem Tollens-Reagenz, wobei der abgespaltene Formaldehyd zu Formiat oxydiert wird, erhielten wir nach entsprechender Aufarbeitung mit salzsaurem *2,4-Dinitro-phenylhydrazin* ohne weiteres das erwähnte *2,4-Dinitro-phenylhydrason* vom Schmp. 263°. Zu dem gleichen Resultat führte ein Abbaubersuch mit Baryt und Raney-Nickel, das nach Delépine und Horeau¹³ die Disproportionierung des Formaldehyds beschleunigen soll. Wir haben uns ausserdem davon überzeugt, dass eine Reihe anderer schwach basisch wirkender Reagenzien, wie Calcium- und Bariumcarbonat in der Kälte oder Natriumacetat in der Siedehitze, aus dem *Lacton(I)* bzw. der *Anhydro-ennea-heptose(III)* Formaldehyd abzuspalten vermögen. Bei der Anwendung von Natron- bzw. Kalilauge wurde in verschiedenen Versuchen neben der Abbau-Reaktion eine gleichzeitige Reduktion der Carboxylgruppe erzielt. Der *Methylenäther* des *3,5,5-Trimethylol-dihydro-desoxy-patulinsäure-lactons(II)* wird, wie gezeigt⁷, durch Alkalilaugen z. T. in dieser Weise reduziert.

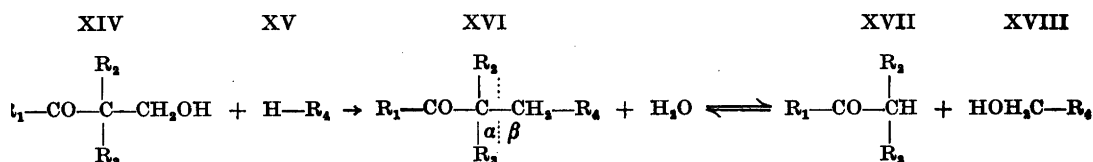
III. DER NEUTRALE METHYLOLABBAU

β -Ketonalkohole bzw. deren nicht funktionelle Derivate scheinen allgemein auch in reinem Zustand zur Abspaltung der Methylolgruppen als Formaldehyd bzw. zu seiner intermolekularen Verschiebung befähigt zu sein. So berichten z. B. Bolle und Jullig¹⁴, dass reines *2-Methylol-cyclohexanon* beim Aufbewahren in beträchtlicher Menge in *Cyclohexanon* und *2,2,6,6-Tetramethylol-cyclohexanon (IV)* übergeht. Die Erklärung dieser Autoren, wonach die Abspaltung über das *1-Oxy-methoxy-cyclohexen* erfolgen soll, scheint jedoch durch das Verhalten *per-oxymethylierter Ketone* widerlegt, die trotz mangelnder Enolisierungsmöglichkeit Formaldehyd leicht abspalten. Eine Abspaltung von Formaldehyd erfolgt schon bei der Destillation einer wässrigen Lösung der *Anhydro-ennea-heptose(III)* oder beim Erhitzen dieser Verbindung sowie auch der Verbindungen I und IV über den Schmelzpunkt. Der Abbau des *3,5,5-Trimethylol-dihydro-desoxy-patulinsäure-lactons(I)* lässt sich sehr gut mit *Dinatriumsulfit* veranschaulichen, das nach Lemme¹⁵ und späteren Autoren mit Formaldehyd quantitativ unter Bildung von *formaldehyd-schwefligsaurem Natrium* und *Natriumhydroxyd* reagiert. Beim Vermischen einer wässrigen Lösung des *Lactons(I)* mit einer genau neutralen Lösung von *Dinatriumsulfit* unter Zusatz von *Thymolphthalein* tritt nach schwachem Erwärmen durch Bildung von Natronlauge zuerst vorübergehend eine schwache Blaufärbung auf, die dann wieder verschwindet, indem das Alkali zur Öffnung des Lactonringes verbraucht wird. Erst wenn die Carboxylgruppe des *Lactons* neutralisiert ist, kehrt die Blaufärbung durch die Umsetzung des nun abgespaltenen Formaldehyds mit dem Reagenz unter Bildung freier Natronlauge zurück. Zur quantitativen Bestimmung des aus β -Oxoalkoholsystemen abspaltbaren Formaldehyds scheint diese Methode wegen eintretender Nebenreaktionen und des dadurch bedingten unscharfen Umschlagspunktes nicht recht geeignet zu sein. — Auch der β -*Acetyl-äthylalkohol* spaltet beim kurzen Erhitzen seiner wässrigen Lösung Formaldehyd ab, der sich mit fuchsinschwefliger Säure nachweisen liess.

IV. TRANS-OXYMETHYLIERUNGS- UND KRYPTO-FORMALDEHYD-REAKTIONEN

Auf Grund der leichten Abspaltbarkeit des Formaldehyds unter verschiedenen Milieubedingungen haben wir uns — ursprünglich aus rein präparativen Erwägungen — gefragt, ob es nicht zweckmässig wäre, beim Methylolabbau den abgespaltenen Formaldehyd "in statu nascendi" fest an ein Molekül anderer Art zu binden und so an der Auslösung unerwünschter Nebenreaktionen zu verhindern. Andererseits unterliegt es ja von vornherein keinem Zweifel und bedarf daher keines experimentellen Beweises, dass Formaldehyd, der mit Leichtigkeit aus dem Verbands des β -Oxoalkohol-Systems (*Methylolgruppen-Donator!*) ausscheidet, in den fester gefügten Verband einer geeigneten anderen Verbindung (*Methylolgruppen-Akzeptor!*) eintreten wird, wenn nur die Milieu- und sonstigen Bedingungen für den Abspaltungs- und Additionsvorgang in gleicher Weise günstig sind. Als Akzeptormolekül kann grundsätzlich jede Verbindung dienen, mit der Formaldehyd zu reagieren vermag. Diese Verhältnisse berühren nicht allein den Synthetiker, sondern können für den Analytiker bei der Untersuchung biologischen Materials weitgehende Konsequenzen haben. Nehmen wir an, dass β -Oxoalkohol-Verbindungen integrierende Bestandteile der Zelle wären, besteht — wenn es sich nicht gerade um in Wasser relativ schwerlösliche Verbindungen, wie z. B. die von Barton und de Mayo¹⁰ isolierten, handelt — die Gefahr, dass sie bei dem üblichen Untersuchungsgang (Trennung unter Anwendung von Mineralsäuren, Alkalien, Wasserdampf, Destillation u.s.w.) nicht allein ihrer Erkennung als *genuine* Verbindungen entgehen, sondern darüber hinaus während der Aufarbeitung Methylolgruppen auf andere im Untersuchungsmaterial vorliegende Akzeptormoleküle übertragen und so eine Genuität für Verbindungen vortäuschen, die die Zelle nicht beherbergte und die ihre Entstehung nur einer "Trans-Oxymethylierung" verdanken. Im Gegensatz zu anderen bekannten Gruppenübertragungen des Stoffwechsels, wie z. B. der *Transaminierung* oder der *Transphosphorylierung*, bei denen die übertragene Gruppe noch im Akzeptormolekül als solche erkennbar ist, kann bei einer Trans-Oxymethylierung die übertragene Methylolgruppe im Akzeptormolekül in mannigfacher Weise sekundären Umsetzungen ausgesetzt und daher mehr oder minder verändert sein. Wir bezeichnen daher den gesamten Komplex dieser primär durch *Methylolgruppen-Verschiebungen* ausgelösten Erscheinungen als "Krypto-Formaldehyd-Reaktionen", womit das verborgene Wirken des Formaldehyds aus einer echten Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindung oder aus einer anderen Bindung heraus sinnfällig zum Ausdruck gebracht werden soll. Die Bezeichnung besagt nicht etwa, dass der Formaldehyd während des Hinüberwechslens vom Donator- zum Akzeptormolekül analytisch nicht nachweisbar sein soll. Wieweit der Formaldehyd während einer Trans-Oxymethylierungs-Reaktion überhaupt Gelegenheit zu selbständigen Reaktionen hat, hängt ganz von den Gruppenpotentialen des betr. Donator- bzw. Akzeptor-Systems ab im Sinne der von Lipmann¹⁶ für andere Gruppenübertragungen entwickelten Vorstellungen. Andererseits können wir gerade die Trans-Oxymethylierungs-Reaktion mit gutem Grund auch als einen völlig diskreten Vorgang, also ohne Auftreten freien Formaldehyds, formulieren. Wie man die Transaminierung über die Zwischenstufe

einer Schiffischen Base deutet, brauchen wir bei der Trans-Oxymethylierung als erste Phase nur eine Kondensation zwischen dem β -Oxoalkohol-System (XIV) und dem Akzeptormolekül (XV) unter Wasserabspaltung zur Methyl-Verbindung (XVI) und als zweite Phase deren Hydrolyse an der zur Carbonylgruppe α, β -ständigen Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindung unter Bildung des Ketons (XVII) und des Alkohols (XVIII) anzunehmen. An einen solchen völlig diskreten Mechanismus wird man im Zellgeschehen zu denken haben, doch



sollen die möglichen Korrelationen zwischen diesem und der Krypto-Formaldehyd-Reaktion in einer späteren Veröffentlichung behandelt werden. Hier diskutieren wir ausschliesslich Vorgänge, die sich bei der Aufarbeitung biologischen Materials ausserhalb der Zelle abspielen können und dadurch unsere Schlüsse bezüglich der Genuität der isolierten Individuen unsicher machen. — Um eine Krypto-Formaldehyd-Reaktion handelt es sich bereits, wenn das 3,5,5-Trimethylol-dihydro-desoxy-patulinsäure-lacton (I) in schwach basischem Milieu Formaldehyd abspaltet und dieser sich einfach disproportioniert oder mit dem nach der Abspaltung verbleibenden "Donatorrumpf" eine gekreuzte Cannizzaro-Reaktion eingeht. Es wäre natürlich durchaus denkbar, den Versuch so zu leiten, dass an Stelle der Disproportionierung eine Butlerow-Kondensation zu Zuckern eintritt. In diesem Falle übernimmt der Formaldehyd selbst die Funktion des Akzeptors. Wir dürfen nicht übersehen, dass eine Krypto-Formaldehyd-Reaktion in gleicher Weise das Donator- und das Akzeptormolekül mehr oder weniger tiefgreifend verändert. In unseren Versuchen mit Barytlösung fanden wir das als ursprünglicher Donator fungierende Lacton (I) — je nach der Dauer der Einwirkung — in abgebauter und darüber hinaus reduzierter Form wieder. — Beispiele für eine Krypto-Formaldehyd-Reaktion bzw. Trans-Oxymethylierungs-Reaktion mit anorganischem Akzeptor stellen die Umsetzungen des Lactons (I), der Anhydro-ennea-heptose (III) und des Tetrols (IV) mit neutraler Dinatriumsulfit-Lösung dar, bei denen der Formaldehyd primär als Bisulfitverbindung gebunden und eine äquivalente Menge Alkali freigemacht wird, die ihrerseits sekundär wieder einen anderen Reaktionsmechanismus des Formaldehyds auslösen könnte. Hierher gehören auch die Reaktionen mit Alkalilaugen und Tollensschem Reagenz, bei denen der abgespaltene Formaldehyd reduktive Effekte entfaltet. Beispiele für Krypto-Formaldehyd-Reaktionen zwischen organischen Molekülen stellen die Übertragungen von Formaldehyd aus dem Lacton (I) und der Anhydro-ennea-heptose (III) in schwach alkalischer und aus dem β -Acetyl-äthylalkohol in saurer und neutraler Lösung auf das Dimedon $\text{C}_8\text{H}_{12}\text{O}_2$ unter Bildung von Methyl- bis-dimethyl-dihydroresorcin $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_4$ dar. Diese Versuche verdeutlichen ausserdem den Unterschied zwischen einer einfachen Trans-Oxymethylierung und einer Krypto-Formaldehyd-Reaktion, indem hier der abgespaltene Formaldehyd im Akzeptor-System nicht mehr als Methylolgruppe erkennbar ist,

sondern als *Methylenbrücke* zwischen zwei Akzeptormolekülen in Erscheinung tritt. Darüber hinaus zeigen die Versuche, mit welcher Leichtigkeit der Formaldehyd aus einem β -Ketonalkohol-System unter geeigneten Milieubedingungen auf andere Systeme übertragbar ist. Sobald während der Aufarbeitung aus einem Donator-System Formaldehyd frei wird, muss man daher damit rechnen, dass er von begleitenden Systemen aufgenommen wird, was auch deutlich aus den Versuchen Finckes¹⁷ hervorgeht, in denen er zeigte, dass Formaldehyd — einem Pflanzenbrei zugesetzt — "zerstört" oder "gebunden" wird. Zur Veranschaulichung dieser Verhältnisse wollen wir auf der Grundlage vorliegender experimenteller Daten und der der lebenden Zelle zu Gebote stehenden Möglichkeiten aus dem weiten Spektrum anderer Kombinationen mehr oder weniger willkürlich nur eine herausgreifen. Wir wählen das Beispiel der *Acetessigsäure*, die uns durch den aus der Tierphysiologie bekannten Vorgang der β -Oxydation geläufig ist und deren hier zu diskutierende spezielle Reaktionen auch durch die Arbeiten anderer Forscher experimentell hinreichend unterbaut sind. Wir dürfen davon ausgehen, dass dem Organismus die Reduktion der *Acetessigsäure* zum β -Acetyl-äthylalkohol möglich ist, und nehmen an, dass in einem gegebenen biologischen Material *Acetessigsäure*, sagen wir in Form ihres *Äthylesters*, und β -Acetyl-äthylalkohol zusammen mit anderen Substanzen vorlägen. Durch das Experiment wissen wir, dass dieser als Methylolgruppen-Donator fungieren kann. Andererseits wissen wir, dass Formaldehyd unter verschiedenen Milieubedingungen^{18,19} mit Acetessigester zu reagieren vermag. Nach Rabe und Rahm¹⁸ treten Formaldehyd und Acetessigester bereits bei Zimmertemperatur zum *Methylen-bis-acetessigester* zusammen, der durch geringe Mengen Piperidin in den *Methyl-cyclohexanol-on-dicarbonssäure-ester*, bei Einwirkung von Chlorwasserstoff oder bei der Wasserdampfdestillation in den *Ester* der *Methyl-cyclohexen-on-dicarbonssäure*¹⁹ übergeht. — An Stelle der als genuin angenommenen Verbindungen β -Acetyl-äthylalkohol und Acetessigester würden wir also bei Eintritt einer *Krypto-Formaldehyd-Reaktion* während der Aufarbeitung als Donatorrumpf das *Aceton* und als Akzeptorsystem ziemlich komplizierte *hydroaromatische Verbindungen* erhalten.

LITERATUR

1. Butlerow, A. *Ann.* **120** (1861) 297.
2. Euler, H. und Euler, A. *Ber.* **39** (1906) 45.
3. Tollens, B. und Wigand, P. *Ann.* **265** (1891) 316.
4. Olsen, S. *Chem. Ber.* **88** (1955) 205.
5. Olsen, S. *Acta Chem. Scand.* **7** (1953) 1364.
6. Olsen, S. und Havre, G. *Acta Chem. Scand.* **8** (1954) 47.
7. Olsen, S. *Acta Chem. Scand.* **9** (1955) 101.
8. Tilitschenko, M. N. *Zhur. Obschchei Khim.* **10** (1940) 718.
9. Gault, H. und Fischhof, G. *Ann. chim. et phys.* (12) **6** (1951) 235.
10. Barton, D. H. R. und de Mayo, P. *J. Chem. Soc.* **1954** 887.
11. Mannich, C. und Brose, W. *Ber.* **56** (1923) 833.
12. Olsen, S. *Acta Chem. Scand.* **5** (1951) 1326; Olsen, S. und Brandal, J. *Ibid.* **8** (1954) 420.
13. Delépine, M. und Horeau, A. *Bull. soc. chim. France* (5) **4** (1937) 1524.
14. Bolle, J. und Jullig, Th. *Mém. services chim. état (Paris)* **34** (1948) 321.
15. Lemme, G. *Chem. Ztg.* **27** (1903) 896.
16. Lipmann, F. *Advances in Enzymol.* **1** (1941) 99; **6** (1946) 231.
17. Fincke, H. *Biochem. Z.* **52** (1913) 214.
18. Rabe, P. und Rahm, F. *Ann.* **332** (1904) 10.
19. Knoevenagel, E. und Klages, A. *Ann.* **281** (1894) 94.

Eingegangen am 12. Februar 1955.